

# 桂皮活性成分的微波萃取工艺与抗氧化作用

刘琳琪, 赵晨曦, 李菁凤, 彭愉焦, 罗金花, 唐伟卓, 郑群怡

(长沙学院生物与环境工程学院, 湖南长沙 410022)

**摘要:** 本文研究了桂皮活性成分的微波萃取工艺及抗氧化能力与活性成分的相关性。以 DPPH 自由基清除率和总还原能力 (FRAP) 为评价指标, 以化学抗氧化剂二丁基羟基甲苯(BHT)、乙氧喹(EMQ)为阳性对照, 在单因素试验的基础上通过正交试验优化桂皮的微波萃取工艺; 建立提取物 UPLC 分离方法并建立 UPLC-DPPH 谱效关系阐述提取物抗氧化能力与活性成分的相关性。结果表明, 以 70%乙醇按 10:1 mL/g 液料比于 65 °C 下微波萃取 10 min, 桂皮提取物的 DPPH 清除率高达 92.18%、FRAP 值 32.90  $\mu\text{mol/L}$ , 其抗 DPPH 自由基能力 ( $\text{IC}_{50}$  55.0 mg/L) 是 BHT ( $\text{IC}_{50}$  390 mg/L) 的 7 倍与 EMQ 相当 ( $\text{IC}_{50}$  55.0 mg/L)。对 10 批桂皮提取物的 UPLC-DPPH 谱效关系分析结果显示其抗 DPPH 自由基能力是桂皮醛、香豆素等多种活性成分共同作用的结果, 而并非与桂皮醛的含量线性相关, 说明仅仅以桂皮醛评价桂皮药材的质量是不全面的。

**关键词:** 桂皮; 抗氧化; 微波萃取; 超高效液相色谱法 (UPLC)

文章编号: 1673-9078(2017)11-127-133

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.11.019

## Microwave Extraction Process and Anti-oxidization of Active Components from *Cinnamomi Cortex*

LIU Lin-qi, ZHAO Chen-xi, LI Jing-feng, PENG Yu-jiao, LUO Jin-hua, TANG Wei-zhuo, ZHENG Qun-yi

(School of Biological and Environmental Engineering, Changsha University, Changsha 410022, China)

**Abstract:** The microwave extraction process, the correlation of antioxidant abilities and active components from *Cinnamomi cortex* were investigated in this study. The 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging rate and ferric reducing antioxidant power (FRAP) were used as the evaluation indexes. The chemical antioxidants butylated hydroxytoluene (BHT) and ethoxyquin (EMQ) were used as positive control. Based on the single-factor tests, the microwave extraction process of active components from *Cinnamon cortex* was optimized by orthogonal experimental design. The ultra performance liquid chromatography (UPLC) separation method was established for active components extracted from *Cinnamomi cortex* and the correlation of antioxidant capacity of the extract and active components was elucidated by UPLC-DPPH coupled method. The results showed that the optimized extraction process of *Cinnamomi cortex* was as follows: ethanol 70%, ratio of liquid-solid was 10:1 (mL/g), extracting temperature 65 °C and extraction time 10 min. And the extracts obtained from *Cinnamomi cortex* showed much higher DPPH radical scavenging rate of 92.18% and FRAP value of 32.90  $\mu\text{mol/L}$ . The  $\text{IC}_{50}$  of *Cinnamomi cortex* extract on DPPH radical scavenging rate was 55.0 mg/L, which was almost equal to seven times of that of BHT ( $\text{IC}_{50}$ =390 mg/L) and equivalent to that of EMQ ( $\text{IC}_{50}$ =55.0 mg/L). Analysis of DPPH radical scavenging rates and UPLC chromatograms of 10 batches of *Cinnamomi cortex* extracts showed that the anti-DPPH free radicals were due to the interaction of various active components such as cinnamaldehyde and coumarin, but not linearly related to the content of cinnamaldehyde. It was not comprehensive to evaluate the quality of *Cinnamomi cortex* only with cinnaldehydum.

**Key words:** *Cinnamomi cortex*; antioxidant; microwave extraction; ultra performance liquid chromatography

收稿日期: 2017-05-16

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81173533); 湖南省教育厅科学研究项目 (15C0118); 湖南省自然科学基金项目 (2017JJ3342); 长沙市科技计划项目 (k1509005-31)

作者简介: 刘琳琪 (1982-), 女, 硕士, 实验师, 研究方向: 植物的研究与开发

通讯作者: 赵晨曦 (1963-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 天然产物的研究与开发

桂皮又称为肉桂(*Cinnamomi cortex*), 为樟树科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥树皮, 属药食两用植物, 是传统的香辛料, 具有强烈的肉桂香气, 以桂皮醛为特征成分<sup>[1]</sup>。桂皮提取物具有抗氧化、抗糖尿病、抗肿瘤、神经保护、抗炎免疫、平喘和抗菌等多种功效<sup>[2-5]</sup>。

大量研究证明, 很多对心脑血管疾病、糖尿病、癌症和炎症等疾病有疗效的中草药都含有抗氧化活性

成分<sup>[6]</sup>。因此,近年来对具有抗氧化作用的药食同源植物及其抗氧化活性的研究被日趋重视<sup>[7]</sup>。石雪萍<sup>[8]</sup>等分别采用铝盐显色法和福林-酚法测定桂皮等 20 种香辛料中总黄酮和多酚含量及其体外抗氧化活性;张慧芸等<sup>[9]</sup>采用福林-酚法测定桂皮等 6 种香辛料的总多酚含量及其抗氧化活性,其研究结果均表明桂皮是一种具有强抗氧化活性的药食同源植物。然而,关于桂皮提取物抗氧化活性与其主要活性成分的提取技术和从分子层面的相关性研究却鲜有报道。

植物活性成分的提取,常采用溶剂提取法、压榨法和蒸馏法等方法,这些传统方法普遍存在着提取时间长、处理效率低和能耗大等缺点。因此,超临界 CO<sub>2</sub> 法、超声波提取法和微波萃取法等新型提取技术应运而生,因其具有提取效率高、操作简单方便、无污染及节约能源等优点,已在植物活性成分提取方面得到广泛应用<sup>[10-14]</sup>。胡曙晨<sup>[15]</sup>等采用超声法提取肉桂子中桂皮醛,王正宽等<sup>[16]</sup>采用微波辅助萃取肉桂中肉桂醛及肉桂酸。

为此,我们以乙醇-水为溶剂提取桂皮的活性成分,通过正交试验设计优化微波萃取工艺,采用 DPPH 自由基清除率(DPPH 法)和总还原能力(FRAP 法)两种方法评价桂皮活性成分的抗氧化性,并以化学抗氧化剂 BHT、EMQ 为阳性对照。联合使用超高效液相色谱(UPLC)与 DPPH 法,研究桂皮抗氧化作用的物质基础及其与特征成分桂皮醛含量的相关性。为桂皮的进一步开发应用奠定科学基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 药材、试剂与仪器

#### 1.1.1 药材与试剂

药材样品:10 批桂皮药材购于长沙市各大药房,经湖南中医药大学中医药研究院李若存教授鉴定为樟树科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥树皮。编号 1~10#,依次为 1#(湖南,2015090807)、2#(广西,140501)、3#(广西,150608)、4#(广西,2015021109)、5#(广西,150206)、6#(广西,2015040705)、7#(广西,1501115)、8#(湖南,140709)、9#(广西,150208)、10#(广西,150106)。粉碎后,过 60 目筛,置于干燥器中保存备用。

化学试剂:DPPH(含量>97%,Solavbio 专业分子试剂生产商);TPTZ(含量>99%,Solavbio 专业分子试剂生产商);2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(BHT,含量 97%,上海阿拉丁试剂公司);乙氧喹(EMQ,90%,上海阿拉丁试剂公司),乙腈(色谱纯,美国 ASTOON

公司);其余试剂均为国产分析纯。

标准对照品:肉桂醛、香豆素标准对照品(含量>98%,上海源叶生物有限公司)。

#### 1.1.2 主要仪器设备

ETHOS A 微波萃取系统(意大利 Milestone 公司);UPLC-CLASS 超高效液相色谱仪(美国 WATERS 公司);AUY120 电子分析天平(日本岛津公司);721-100s 可见光分光光度计(上海浦东物理光学仪器厂)。

## 1.2 桂皮活性成分的提取

### 1.2.1 提取液的制备

取适量桂皮粉末,采用微波萃取法以乙醇-水混合溶剂进行提取。所得提取液经抽滤后,定量转移至 50 mL 容量瓶中,以相应提取浓度的乙醇溶剂定容。取该桂皮提取液 1.00 mL 于 25 mL 容量瓶中,50%乙醇溶液定容,即为待测液(1 L 待测液含药材 0.8 g)。

### 1.2.2 单因素试验设计

以 1#桂皮为原料,按 1.2.1 所述方法制备桂皮提取液,分别以乙醇浓度、提取温度、液料比、提取时间为影响因素,设置因素的不同水平,研究不同的提取条件对桂皮活性成分提取效果的影响。

### 1.2.3 正交试验设计方案

以 1#桂皮为原料,按 1.2.1 所述方法制备桂皮提取液,采用正交试验对乙醇浓度(30%、50%和 70%)、液料比(10:1,20:1,30:1 mL/g)、提取温度(50、65 和 80 °C)、提取时间(5、10 和 15 min)4 个因素进行考察。按正交表 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)进行提取。

## 1.3 抗氧化活性的测定

### 1.3.1 DPPH 法

参照文献方法<sup>[17]</sup>,取 0.5 mL 样品待测液及 1 mL 0.4 mmol/L DPPH 溶液,用 75%乙醇溶液定容至 10 mL,室温下静置 60 min 后,于 517 nm 处测定吸光度。按照式(1)计算清除率:

$$\text{清除率 } S/\% = [1 - (A_s - A_r)/A_0] \times 100\% \quad (1)$$

式中:A<sub>0</sub>为未加试样的 DPPH 乙醇溶液吸光度;A<sub>s</sub>为样品与 DPPH 反应的吸光度;A<sub>r</sub>为空白样品的吸光度。每个样品平行测定三次。

### 1.3.2 FRAP 法

参照文献方法<sup>[9]</sup>,TPTZ 工作液的制备:300 mmol/L 乙酸盐缓冲液(pH 3.6),10 mmol/L TPTZ,20 mmol/L FeCl<sub>3</sub>溶液,3 种溶液以 10:1:1 的体积比混合。TPTZ 溶液现用现配。10 mL 容量瓶中加入待测液 0.5 mL、TPTZ 工作液 2 mL,水浴 37 °C 反应 10 min,于

593 nm 处读取吸光度。以  $\text{FeSO}_4$  为标准物质绘制标准曲线, 求得回归方程为  $y=0.02262x-0.0003$ ,  $r=0.9951$ , 线性范围 0~40  $\mu\text{mol/L}$ 。样品的抗氧化能力以 FRAP 值表示: 1 FRAP 单位=1  $\mu\text{mol/L}$   $\text{FeSO}_4$ , 即样品的抗氧化能力相当于  $\text{FeSO}_4$  的  $\mu\text{mol/L}$  数。每个样品平行测定三次。

## 1.4 桂皮提取物 UPLC 分析

### 1.4.1 UPLC 色谱条件

WATERS UPLC-CLASS 超高效液相色谱仪; 色谱柱: BEH C18 柱 (2.1×100 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ ); 柱温: 40  $^{\circ}\text{C}$ ; 检测波长: 200~400 nm; 进样量: 1  $\mu\text{L}$ ; 流速: 0.3 mL/min; 流动相: 乙腈(A)-水(B)。梯度洗脱程序: 0~8 min, 5%~100%(A); 8~9 min, 100%~5%(A); 9~10 min, 5%(A)。

### 1.4.2 提取物的 UPLC 分析

如 1.2 所述, 按正交试验优化后的条件制备 10 批桂皮的提取液, 经 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜过滤后, 按 1.4.1 所述色谱条件对提取物进行 UPLC 分离, 并采用外标标准曲线法测定桂皮醛的含量。外标标准曲线法: 以标准系列溶液桂皮醛的含量  $X$  为横坐标, 相应色谱峰面积  $Y$  为纵坐标进行线性回归计算, 所得回归方程:  $Y=38405X-25250$ , 复相关系数  $R^2=0.9989$ , 桂皮醛浓度范围 2.80~70.0  $\mu\text{g/mL}$ 。

## 1.5 桂皮提取物 UPLC-DPPH 谱效关系分析

UPLC-DPPH 法的原理是基于样品中潜在的抗氧化物质与 DPPH 自由基发生反应之后, 色图谱上相应的峰面积会减少甚至消失, 这样就可以筛选出样品中的抗氧化活性成分<sup>[18]</sup>。

## 1.6 数据统计分析

所有测量数据均重复测定三次, 结果以平均值±标准偏差表示。采用正交设计助手 II v3.1 设计并处理实验数据, 以  $p<0.05$  表示具有统计学差异。采用 Minitab16 软件分析桂皮醛含量和 DPPH 清除率的相关性。

## 2 结果与讨论

### 2.1 桂皮活性成分提取的单因素试验结果

#### 2.1.1 乙醇浓度对桂皮活性成分的影响

如 1.2.2 所述, 按照液料比 10:1 mL/g, 提取温度 50  $^{\circ}\text{C}$ , 提取 5 min 的条件提取桂皮活性成分。由图 1 可知, 随着乙醇浓度的增加, 桂皮活性成分的抗氧化

能力先增加后减小, 当乙醇浓度为 50%~70% 时达到最大。而继续增加乙醇浓度使得一些醇溶性杂质和色素大量溶出, 反而降低了活性成分的溶解度。50% 乙醇提取的桂皮活性成分的 DPPH 清除率略高于 70% 乙醇提取的。而 70% 乙醇提取的桂皮活性成分的 FRAP 值略高于 50% 乙醇提取的。两种评价方法所得结果有所不同。最后, 选择适宜的乙醇浓度 70%。

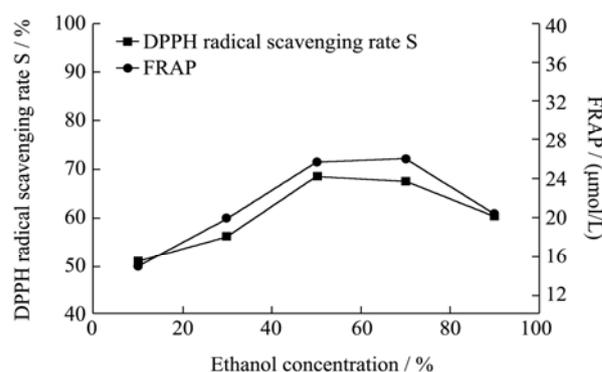


图 1 乙醇浓度对桂皮提取物 DPPH 清除率和 FRAP 值的影响

Fig.1 Effects of ethanol concentration on the DPPH free radical scavenging rate and FRAP value of cinnamon extract

#### 2.1.2 提取温度对桂皮活性成分的影响

如 1.2.2 所述, 按照液料比 10:1 mL/g, 乙醇浓度 70%, 提取 5 min 的条件提取桂皮活性成分。由图 2 可知, 随着提取温度的提高, 桂皮活性成分的抗氧化能力先增加后减小, 当温度为 65  $^{\circ}\text{C}$  时达到最大。温度的提高可加速分子运动, 有效成分溶出加快, 从而提取率提高。而继续提高温度, 溶剂挥发增加, 相当于溶剂用量较少。并且温度高, 能耗也将增加。因此适宜的提取温度为 65  $^{\circ}\text{C}$ 。

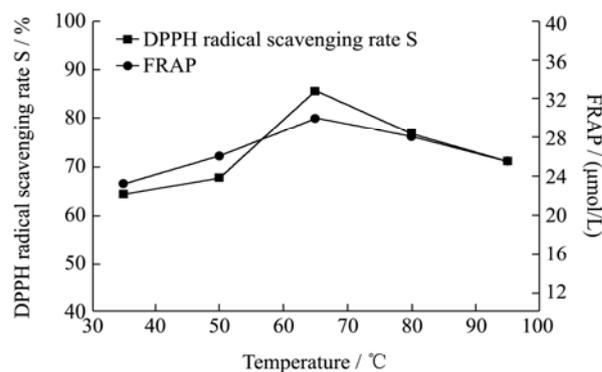


图 2 提取温度对桂皮提取物 DPPH 清除率和 FRAP 值的影响

Fig.2 Effects of extraction temperature on the DPPH free radical scavenging rate and FRAP value of cinnamon extract

#### 2.1.3 液料比对桂皮活性成分的影响

如 1.2.2 所述, 按照乙醇浓度 70%, 提取温度 65  $^{\circ}\text{C}$ , 提取 5 min 的条件提取桂皮活性成分。由图 3 可知, 随着液料比的提高, 桂皮活性成分的抗氧化能力先增加后减小, 在液料比 20:1 mL/g 时达到最大。

这是因为液料比增加, 提取液中活性成分的质量浓度越低, 活性成分越易溶出。而液料比继续增加, 可能一些杂质也大量溶出, 从而影响了活性成分的溶出率。另外, 过高的液料比造成了试剂的浪费, 给后处理步骤也增加了困难。所以适宜的液料比为 20:1 mL/g。

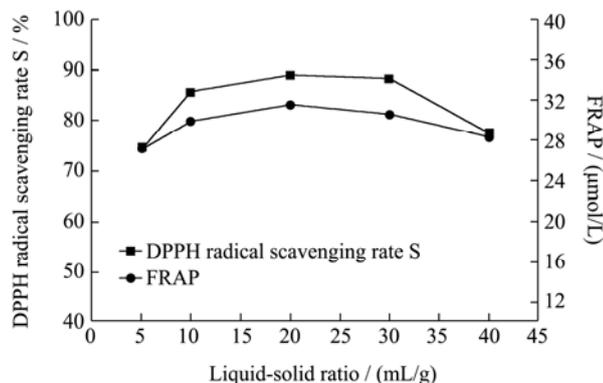


图3 液料比对桂皮提取物DPPH清除率和FRAP值的影响

Fig.3 Effects of liquid-solid ratio on the DPPH free radical scavenging rate and FRAP value of cinnamon extract

### 2.1.4 提取时间对桂皮活性成分的影响

如 1.2.2 所述, 按照乙醇浓度 70%, 液料比 20:1 mL/g, 提取温度 65 °C 的条件提取桂皮活性成分。由图 4 可知, 随着提取时间的增加, 桂皮活性成分的抗氧化能力先增加后减小, 在提取时间为 10 min 时达到最大。提取时间短, 活性成分提取不完全; 提取时间过长可能会使活性成分分解, 故而使抗氧化能力降低。因此, 适宜的提取时间为 10 min。

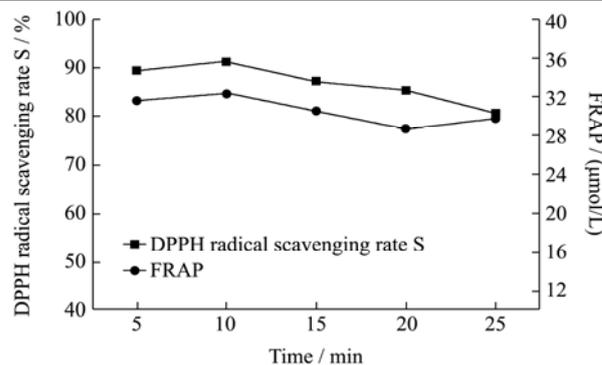


图4 提取时间对桂皮提取物DPPH清除率和FRAP值的影响

Fig.4 Effects of extraction time on the DPPH free radical scavenging rate and FRAP value of cinnamon extract

## 2.2 桂皮活性成分提取正交优化实验

### 2.2.1 正交试验设计

在前述单因素试验结果的基础上, 按照 1.2.3 所述, 进行正交试验设计方案, 进一步优化提取工艺。以 1#桂皮为实验对象, 各试验结果见表 1。方差分析见表 2。由极差 R 值可知, 各因素主次顺序为 A>C>D>B。即乙醇浓度影响最大, 其次是温度, 再次是时间, 影响最小的是液料比。由 K 值比较可见, 无论是 DPPH 清除率还是 FRAP 值, 均表明最优工艺组合为 A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>。方差分析表明, 因素 B (液料比) 影响不显著。因此从节约成本的角度, B 取 B<sub>1</sub>。综合直观分析和方差分析的结果, 优化工艺为 A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>, 即: 乙醇 70%, 液料比 10, 温度 65 °C, 提取 10 min。

表 1 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交试验设计与结果

Table 1 Design and results of L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) orthogonal test

试验号	A 乙醇浓度/%	B 液料比/(mL/g)	C 温度/°C	D 时间/min	DPPH 清除率/%	总还原能力/(μmol/L)
1	30	10	50	5	55.23±0.20	19.89±0.02
2	30	20	65	10	72.31±0.14	26.45±0.10
3	30	30	80	15	65.09±0.17	24.58±0.12
4	50	10	65	15	73.58±0.36	27.31±0.35
5	50	20	80	5	76.12±0.08	28.03±0.19
6	50	30	50	10	69.51±0.70	26.18±0.08
7	70	10	80	10	84.87±0.25	29.78±0.42
8	70	20	50	15	70.95±0.64	25.52±0.51
9	70	30	65	5	88.23±0.18	30.60±0.62
k1	64.21 <sup>a</sup> ,23.64 <sup>b</sup>	71.23 <sup>a</sup> ,25.66 <sup>b</sup>	65.23 <sup>a</sup> ,23.86 <sup>b</sup>	73.19 <sup>a</sup> ,26.17 <sup>b</sup>		
k2	73.07 <sup>a</sup> ,27.17 <sup>b</sup>	73.13 <sup>a</sup> ,26.67 <sup>b</sup>	78.04 <sup>a</sup> ,28.12 <sup>b</sup>	75.56 <sup>a</sup> ,27.47 <sup>b</sup>		
k3	81.35 <sup>a</sup> ,28.63 <sup>b</sup>	74.27 <sup>a</sup> ,27.12 <sup>b</sup>	75.36 <sup>a</sup> ,27.46 <sup>b</sup>	69.87 <sup>a</sup> ,25.80 <sup>b</sup>		
R	17.14 <sup>a</sup> ,4.99 <sup>b</sup>	3.05 <sup>a</sup> ,1.46 <sup>b</sup>	12.81 <sup>a</sup> ,4.26 <sup>b</sup>	5.69 <sup>a</sup> ,1.67 <sup>b</sup>		

注: a 表示 DPPH 清除率; b 表示 FRAP 值。下同。

表2 方差分析

Table 2 Analysis of variance

因素	偏差平方和	自由度	F 值	显著性
A	440.84 <sup>a</sup> , 39.55 <sup>b</sup>	2	30.97 <sup>a</sup> , 11.81 <sup>b</sup>	* <sup>a</sup>
B	14.24 <sup>a</sup> , 3.35 <sup>b</sup>	2	1.00 <sup>a</sup> , 1.00 <sup>b</sup>	
C	273.90 <sup>a</sup> , 31.51 <sup>b</sup>	2	19.24 <sup>a</sup> , 9.41 <sup>b</sup>	* <sup>a</sup>
D	49.02 <sup>a</sup> , 4.60 <sup>b</sup>	2	3.44 <sup>a</sup> , 1.37 <sup>b</sup>	
误差	14.23 <sup>a</sup> , 3.35 <sup>b</sup>			

注:  $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

### 2.2.2 优化工艺验证试验

为进一步考察试验结果的可靠性及稳定性, 仍以 1#桂皮为研究对象, 按 2.2.1 所得微波萃取优化条件进行 3 次平行试验。所得提取物的 DPPH 清除率分别为 92.66%、92.20%和 91.68%, 平均值为 92.18%; FRAP 值分别 33.47、32.02 和 33.21, 平均值为 32.90  $\mu\text{mol/L}$ 。说明上述优化后的工艺条件稳定可靠, 适合桂皮抗氧化活性成分的高效提取。

### 2.3 桂皮提取物与化学抗氧化剂的活性比较

按正交试验优化后的提取工艺条件制备 1#桂皮提取液, 依次稀释成浓度为 4、8、16、24、32、64、80、160、320、480、640 和 800 mg/L 的待测溶液, 并配制同浓度的 BHT、EMQ 溶液, 按 1.3.1 所述方法测定各溶液的 DPPH 清除率 S。以 DPPH 自由基清除率对抗氧化剂浓度作图, 结果如图 5 所示。由图 5 可以得到桂皮提取液、EMQ 和 BHT 抗 DPPH 自由基清除率的  $IC_{50}$  值分别为 55.0、55.0 和 390 mg/L, 说明桂皮提取物抗 DPPH 自由基能力与 EMQ 相近、是 BHT 的 7 倍。然而有文献报道采用乙醇浸泡法提取桂皮活性成分其抗氧化性不及 BHT<sup>[19]</sup>。可见, 本文通过正交试验设计方法建立的微波萃取法提取工艺能更有效地提取桂皮中的活性成分, 抗氧化活性显著优于文献结果。植物提取物的强抗氧化性往往归功于其强供氢电

子能力<sup>[20]</sup>, 本研究结果表明桂皮为优良的天然抗氧化剂植物原料, 采用桂皮提取物取代 BHT、EMQ 等化学抗氧化剂成为可能, 这也将是我们进一步研究的内容。

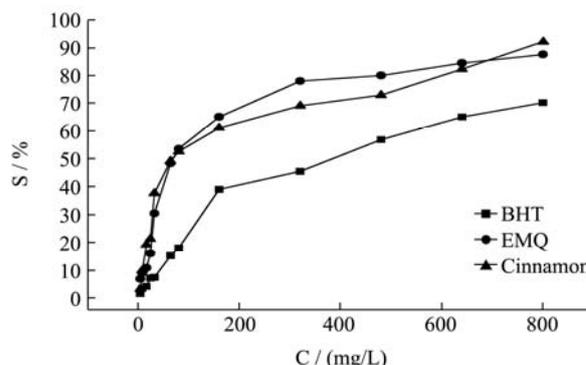


图5 桂皮提取物 (cinnamon)、EMQ 和 BHT 浓度与 DPPH 清除率的关系

Fig.5 The relationship among concentration of cinnamon extract, EMQ, BHT and DPPH free radical scavenging rate

### 2.4 桂皮提取物抗 DPPH 自由基能力与桂皮醛含量的关系

采用优化的微波萃取工艺, 得到 10 批桂皮药材提取液, 按 1.4.1 所述色谱条件进行 UPLC 分析, 并采用外标标准曲线法计算桂皮醛含量; 同时按照 1.3.1 所述方法测定提取液对 DPPH 自由基清除率, 结果列于表 3 中。由表中数据可见, 10 批桂皮提取物中桂皮醛为 3.02%~6.28%, DPPH 清除率为 62.02%~94.89%。通过 Minitab 软件分析表明, 桂皮醛含量和 DPPH 清除率的 Pearson 相关系数为 0.688, P 值为 0.028, 这表明两者并不直接相关。说明桂皮特征成分桂皮醛不是 DPPH 清除率的唯一贡献者, 还有其它的成分在起作用。故采用 UPLC-DPPH 联合技术深入研究桂皮提取液的抗氧化成分群。

表3 10 批次桂皮中桂皮醛的含量及 DPPH 清除率 S

Table 3 Cinnaldehydum contents and DPPH free radical scavenging rate of 10 batches of Cinnamomi cortex (n=3,  $\bar{x} \pm s$ )

编号	批号	产地	肉桂醛含量/%	DPPH 清除率%
1	2015090807	湖南	6.24±0.02	92.18±0.50
2	140501	广西	5.16±0.25	82.40±0.22
3	150608	广西	4.92±0.30	80.51±0.90
4	2015021109	广西	4.12±0.09	81.62±0.42
5	150206	广西	6.28±0.08	94.89±0.63
6	2015040705	广西	5.64±0.11	86.50±0.54
7	1501115	广西	3.90±0.06	78.38±0.84
8	140709	湖南	4.10±0.20	62.02±0.81

转下页

接上页

9	150208	广西	3.02±0.28	77.41±1.02
10	150106	广西	3.25±0.02	80.55±0.23

## 2.5 桂皮提取物 UPLC-DPPH 谱效关系分析

按正交试验优化后的微波萃取条件制备 1#桂皮提取液,按 1.2.1 所述方法稀释后,分别取 0.5 mL 桂皮提取液、0.5 mL 桂皮提取液加 1 mL、0.4 mmol/L DPPH 溶液和 1 mL、0.4 mmol/L DPPH 溶液于 3 个 10 mL 容量瓶中,以 75%的乙醇溶液定容,室温下放置 60 min,即得桂皮提取液(即与 DPPH 反应前的溶液)、桂皮与 DPPH 反应 60 min 后的溶液、空白对照溶液(DPPH 溶液),经 0.22 μm 滤膜过滤后进样 UPLC 分析。图 6 为 280 nm 波长下的色谱图。

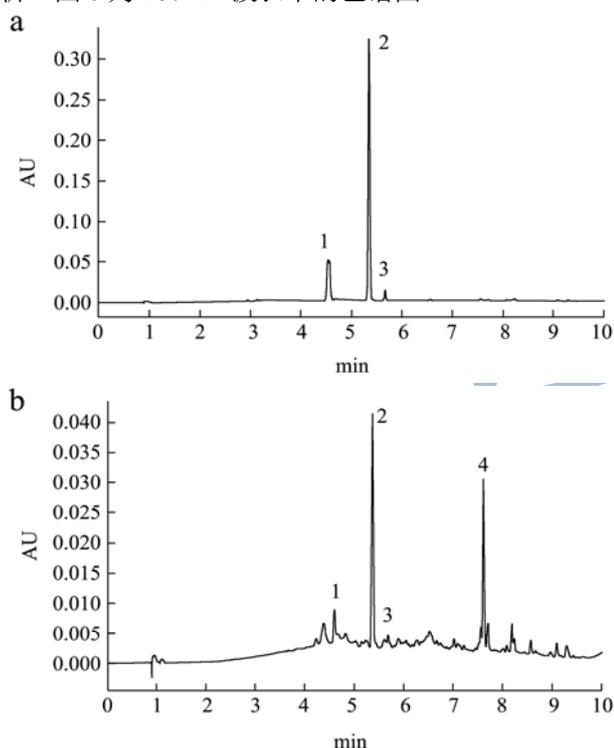


图 6 桂皮提取液与 DPPH 反应前 (a) /后 (b) 的 UPLC 图  
Fig.6 UPLC of Cinnamon extract before (a) and after reaction (b) with DPPH

注: 色谱峰 2, 桂皮醛; 色谱峰 3, 香豆素; 色谱峰 4, DPPH。

由图 6 可见,样品中各组分得到了较好的分离。经桂皮醛和香豆素混合标准溶液、DPPH 溶液对照实验表明,保留时间为 5.35 min、5.67 min 的色谱峰 2、3 分别为桂皮醛和香豆素,保留时间为 7.62 min 的色谱峰 4 为 DPPH。对比桂皮提取液(即与 DPPH 反应前的溶液)、桂皮提取液与 DPPH 反应后的色谱图,发现没有明显生成新物质。而桂皮醛、香豆素以及保留时间为 4.54 min 的色谱峰 1 的峰面积依次减少

86.9%、49.9%和 87.1%。这表明桂皮提取物中多个物质均与 DPPH 发生了反应,这些物质均具有抗氧化性。由此也证明了植物的抗氧化性往往是多个成分协同作用的结果<sup>[21]</sup>。目前能鉴别出的香豆素和桂皮醛具有抗氧化性,与文献<sup>[22,23]</sup>报道一致,其它组分有待于进一步鉴定。

## 3 结论

采用微波萃取法以 70%乙醇按 10:1 液料比在提取温度 65 °C 下提取 10 min,桂皮提取物的 DPPH 清除率最高达 92.18%,FRAP 值为 32.90 μmol/L,其 DPPH 自由基清除能力为 IC<sub>50</sub>=55.0 mg/L,相当于 BHT (IC<sub>50</sub>=390 mg/L) 的 7 倍与 EMQ 相当 (IC<sub>50</sub>=55.0 mg/L),优于文献结果。这表明桂皮是优良的天然抗氧化剂的来源。UPLC-DPPH 法研究结果表明虽然桂皮醛是桂皮提取物的特征成分,具有强抗氧化性,但并非贡献桂皮抗氧化性的唯一成分。桂皮提取物的抗氧化活性是桂皮醛和香豆素等多种成分互相协同作用的结果。目前,桂皮质量控制标准仅对桂皮醛进行测定<sup>[1]</sup>,这显然是不全面的,亟待建立同时测定多组分的质量评价系统。

## 参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.2015 版第一部[M].北京:中国医药科技出版社,2015  
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China 2015. Vol I [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015
- [2] Khuwijitjaru P, Sayputikasikom N, Samuhasaneetoo S, et al. Subcritical water extraction of flavoring and phenolic compounds from cinnamon bark (*Cinnamomum zeylanicum*) [J]. Journal of Oleo Science, 2012, 61(6): 349-355
- [3] Assadollahi V, Parivar K, Roudbari N H, et al. The effect of aqueous Cinnamon extract on the apoptotic process in acute myeloid leukemia HL-60 cells [J]. Advanced Biomedical Research, 2013, 2: 25
- [4] Qin B, Panickar K S, Anderson R A. Cinnamon polyphenols regulate S100β, sirtuins, and neuroactive proteins in rat C6 glioma cells [J]. Nutrition, 2014, 30(2): 210-217
- [5] Noriko T, Makiko T, Haruka F, et al. Determination of reactive oxygen generated from natural medicines and their antibacterial activity [J]. Journal of Pharmaceutical Analysis, 2016, 6(4): 214-218

- [6] M A Soobratteem, V S Neerghen, A Luximonramma, et al. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions [J]. Mutation Research, 2005, 579: 200-213
- [7] Hui L, Linda K B, David N L. Antioxidant activity of 45 Chinese herbs and the relationship with their TCM characteristics [J]. ECAM, 2008, 5(4): 429-434
- [8] 石雪萍,吴亮亮,高鹏,等.20种食用辛香料抗氧化性及其与黄酮和多酚的相关性研究[J].食品科学,2011,32(5):83-86  
SHI Xue-ping, WU Liang-liang, GAO Peng, et al. Ethnol extracts from twenty edible spices: antioxidant activity and its correlations with total flavonoids and total phenols contents [J]. Food Science, 2011, 32(5): 83-86
- [9] 张慧芸,孔保华,孙旭.香辛料提取物抗氧化活性及其作用模式的研究[J].食品科学,2010,31(5):111-115  
ZHANG Hui-yun, KONG Bao-hua, SUN Xu. Antioxidant activities and mechanism of extracts from spice materials [J]. Food Science, 2010, 31(5): 111-115
- [10] 彭川丛,孔静,游丽君,等.超声波辅助热水浸提香菇多糖响应面优化工艺及其抗氧化活性的研究.现代食品科技,2011,27(4):452-456  
PENG Chuan-cong, KONG Jing, YOU Li-Jun, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction technology of lentinan polysaccharides by response surface methodology and its antioxidant activity [J]. Modern Food Science and Technology, 2011, 27(4): 452-456
- [11] Zhou X, Choi P S, Yang J M, et al. Chemical and pharmacological evaluations on the extract of *Scutellaria baicalensis* Georgi (Huang-Qin) prepared by various extraction methods [J]. Springerplus, 2016, 5(1): 1438
- [12] 郑瑞生.植物中活性抗氧化成分及其提取技术的研究[J].食品工业科技,2011,32(11):459-467  
ZHENG Rui-Sheng. Research on active antioxidant components in plant and extraction technology [J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 32(11): 459-467
- [13] Chen FL, Du XQ, Zu YG, et al. Microwave-assisted method for distillation and dual extraction in obtaining essential oil, proanthocyanidins and polysaccharides by one-pot process from *Cinnamomi cortex* [J]. Separation & Purification Technology, 2016, 4(164): 1-11
- [14] 何慧蓉,黄艺,邓选利,等.双水相-微波提取苕麻皮中总黄酮及抗氧化性研究[J].天然产物研究与开发,2014, 26:1299-1302,1320  
HE Hui-rong, HUANG Yi, DENG Xuan-li, et al. Extraction and antioxidant activity investigation of total flavonoids from ramie skin [J]. Natural Product Research and Development, 2014, 26: 1299-1302, 1320
- [15] 胡曙晨,李莉,李新霞,等.正交试验优化肉桂子中超声提取桂皮醛的工艺[J].新疆医科大学学报,2013,36(9):1278-1281  
HU Shu-chen, LI Li, LI Xin-xia, et al. Optimized technology of extracting Cinnamic aldehyde from Fructus *Cinnamomi cassiae* immaturi in ultrasonic method by orthogonal test [J]. Journal of Xinjiang Medical University, 2013, 36(9): 1278-1281
- [16] 王正宽,刘圆,周茆,等.微波提取技术提取桂枝有效成分的研究[J].世界科学技术-中医药现代化,2015,17(1):238-242  
WANG Zheng-kuan, LIU Yuan, ZHOU Miao, et al. Study on microwave extraction of effective ingredients in *Ramulus Cinnamomi* [J]. World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, 2015, 17(1): 238-242
- [17] 曾丹,孔慧,刘滔,等.微胶囊化柿单宁的制备及性质分析[J].现代食品科技,2017,33(4):168-175  
ZENG Dan, KONG Hui, LIU Tao, et al. Preparation and property analysis of microencapsulated persimmon [J]. Modern Food Science and Technology, 2017, 33(4): 168-175
- [18] 何海荣,魏鉴腾,孙小明,等.油橄榄叶提取物中4种抗氧化活性成分的筛选和含量测定[J].营养学报,2016,38(1):81-86  
HE Hai-rong, WEI Jian-teng, SUN Xiao-ming, et al. Screening and quantitative analysis of four antioxidant components from olive leaf extracts [J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2016, 38(1): 81-86
- [19] 马世宏.桂皮黄酮的提取工艺及抗氧化性研究[J].食品工业科技,2010,12(31):224-230  
MA Shi-hong. Study on extraction technology and antioxidant property of total flavonoids from cassia [J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 12(31): 224-230
- [20] Brewer M S. Natural antioxidants: Sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications [J]. Comprehensive Reviews in Food Science & Food Safety, 2011, 10(4): 221-247
- [21] 盛雪飞,彭燕,陈健初.天然抗氧化剂之间的协同作用研究进展[J].食品工业科技,2010,7(31):414-421  
SHENG Xue-fei, PENG Yan, CHEN Jian-chu. Research progress in synergistic effect between natural antioxidant [J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 7(31): 414-421
- [22] 韦献果,曾明,邓烈,等.柑橘及其近缘属植物中天然香豆素化合物及药效作用综述[J].食品科学,2012,33(13):343-347

- WEI Xian-guo, ZENG Ming, DENG Lie, et al. Natural coumarins and their pharmacodynamics from citrus and its relatives: a review [J]. Food Science, 2012, 33(13): 343-347
- [23] 王新伟,崔言开,田双起,等.牛至油、香芹酚、柠檬醛和肉桂醛的抗氧化性能研究[J]. 食品工业科技,2013,34(14): 311-317
- WANG Xin-wei, CUI Yan-kai, TIAN Shuang-qi, et al. Antioxidant activities of oregano oil, carvacrol, citral and cinnamaldehyde [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(14): 311-317

现代食品科技