

基于定量核磁共振氢谱的神曲加工炮制过程中葡萄糖量变规律研究

石亚玲¹, 单鲁豫¹, 杨晶晶¹, 姜苗苗^{1,2}, 于卉娟^{1,2}, 王跃飞^{1,2}, 柴欣^{1,2*}

(1. 天津中医药大学 中医药研究院, 现代中药创制全国重点实验室, 天津市中药化学与分析重点实验室, 天津 301617; 2. 现代中医药海河实验室, 天津 301617)

[摘要] 建立基于定量核磁共振氢谱(quantitative proton nuclear magnetic resonance, qHNMR)的神曲中葡萄糖含量的测定方法,对市售神曲中葡萄糖的含量进行分析,并探究神曲加工炮制过程中葡萄糖含量的变化规律。以重水为溶剂,2,2,2,3-*d*₄-3-(三甲基硅基)丙酸钠盐为内标,以化学位移 δ 4.65、5.24 处葡萄糖端基质子双峰信号作为定量峰,对神曲中葡萄糖含量进行定量。经方法学评价,葡萄糖在 0.10~6.44 mg·mL⁻¹ 呈现良好的线性关系,精密度、稳定性、重复性和加样回收率试验的 RSD 均小于 2.3%。市售神曲中葡萄糖含量波动明显,推测与神曲的发酵天数、麸面比及炮制方式等有关。神曲中葡萄糖含量随发酵天数增加呈先增加后降低的趋势;全麦麸或全面粉发酵的神曲中葡萄糖含量明显低于麦麸和面粉混合发酵的神曲;麸炒神曲较生神曲葡萄糖含量略有降低,而焦神曲中葡萄糖含量显著降低。该实验建立的 qHNMR 方法简单快捷,准确度高,为神曲中葡萄糖含量测定提供了新的方法。此外,该研究阐明了神曲加工炮制过程中葡萄糖的量变规律,对判断神曲发酵程度具有指示意义,为揭示神曲的发酵机制,完善神曲的质量控制方法提供了科学依据。

[关键词] 定量核磁共振氢谱法;神曲;葡萄糖;发酵天数;麸面比;炮制

Variations of glucose content in *Massa Medicata Fermentata* during processing based on quantitative proton nuclear magnetic resonance

SHI Ya-ling¹, SHAN Lu-yu¹, YANG Jing-jing¹, JIANG Miao-miao^{1,2}, YU Hui-juan^{1,2}, WANG Yue-fei^{1,2}, CHAI Xin^{1,2*}

(1. National Key Laboratory of Chinese Medicine Modernization, Tianjin Key Laboratory of TCM Chemistry and Analysis, Institute of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China;
2. Haihe Laboratory of Modern Chinese Medicine, Tianjin 301617, China)

[Abstract] A quantitative proton nuclear magnetic resonance (qHNMR) method was established to determine the glucose content in commercially available *Massa Medicata Fermentata* (MMF) products and explore the variations of glucose content in MMF products during processing. The qHNMR spectrum of MMF in deuterium oxide was obtained with 2,2,3,3-*d*₄-3-(trimethylsilyl) propionate sodium salt as the internal standard substance. With the doublet peaks of terminal hydrogen of glucose with chemical shift at δ 4.65 and δ 5.24 as quantitative peaks, the content of glucose in MMF samples was determined. The glucose content showed a good linear relationship within the range of 0.10-6.44 mg·mL⁻¹. The relative standard deviations (RSDs) of precision, stability, repeatability, and recovery for determination were all less than 2.3%. The glucose content varied in different commercially available MMF samples, which were associated with the different fermentation days, wheat bran-to-flour ratios, and processing methods. The glucose content in MMF first increased and then decreased over the fermentation time. Compared with the MMF products fermented with wheat bran or flour alone, the products fermented with both wheat bran and flour had increased glucose. The glucose content of bran-fried MMF was

[收稿日期] 2023-08-17

[基金项目] 国家重点研发计划项目(2021YFC1712905);现代中医药海河实验室科技项目(22HHZYSS00007);山东省自然科学基金创新发展联合基金项目(ZR2021LZY035)

[通信作者] *柴欣,副研究员,主要从事中药药效物质及质量控制研究,Tel:(022)59596366,E-mail:chaix0622@tjutcm.edu.cn

[作者简介] 石亚玲,硕士研究生,主要从事中药药效物质及质量控制研究,E-mail:18703336986@163.com

slightly lower than that of raw MMF, while the glucose content in charred MMF was extremely low. In conclusion, the qHNMR method established in this study is simple, fast, and accurate, serving as a new method for determining the glucose content in MMF. Furthermore, this study clarifies the variations of glucose content in MMF during processing, which can not only indicate the processing degree but also provide a scientific basis for revealing the fermentation mechanism and improving the quality control of MMF.

[Key words] quantitative proton nuclear magnetic resonance; Massa Medicata Fermentata; glucose; fermentation days; wheat bran-to-flour ratio; processing

DOI:10.19540/j.cnki.cjcm.20230919.301

神曲,又名六曲,首次记载于《药性论》,是以面粉和麦麸为发酵基质,加入青蒿、苍耳草、辣蓼、赤小豆、苦杏仁5味中药后混合发酵而成的曲剂^[1]。神曲炮制品分为生品、炒品和焦品:生品健脾开胃,并有发散作用;炒品醒脾和胃,治疗小儿单纯性消化不良;焦品消食化积,治食积泄泻^[2]。神曲的化学成分研究主要集中于黄酮、酚酸、糖类、氨基酸和挥发性成分等^[3-8];目前,越来越多的学者聚焦于各类成分在发酵和炮制过程中的动态变化规律研究,以期揭示神曲发酵及炮制机制^[2,9-11]。麦麸和面粉作为神曲发酵主要辅料基质,其主要成分为淀粉和纤维素,在微生物与酶的作用下,糖类成分在神曲加工炮制过程中发生转化^[12],研究其变化规律对于神曲加工炮制工艺优选和品质提升具有重要意义,然而目前关于糖类成分量变规律的研究鲜有报道。《中华人民共和国卫生部药品标准·中药成方制剂》第十九册^[1]作为现代神曲发酵标准,详细介绍了神曲的发酵方法。但分析各省中药材标准和中药炮制规范发现,全国各地的神曲在发酵天数、原料配比及制备工艺均存在一定差异,且无统一的质量标准^[13]。不同发酵天数及麸面比神曲中微生物丰度及酶活力不同,必然会造成糖类成分波动;在炒制加热过程中,糖类物质可能降解或与其他成分发生反应。

柱前衍生化-高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)和高效液相色谱-蒸发光散射检测器法(high performance liquid chromatography with evaporative light scattering detection, HPLC-ELSD)常用于测定糖类成分含量^[14-16],但需复杂的操作步骤以及较长的分析时间。随着高磁场、超低温探头技术的问世,定量核磁共振氢谱(quantitative proton nuclear magnetic resonance, qHNMR)技术相关领域得到飞速发展,具有绝对定量的优势。目前核磁定量分析常用的方法是内标法,具有无需使用对照品、不需要引入校正因子、操作简单、测定速度快、准确度高等优点,《中国药典》自

2010年版起新增了该方法^[17-19]。

本实验建立了基于qHNMR技术的神曲中葡萄糖含量的测定方法,应用建立的方法分析不同批次市售神曲中葡萄糖的含量,并进一步探究神曲发酵及炮制过程中葡萄糖含量变化的影响因素,为规范神曲加工炮制工艺及提升发酵炮制品质量奠定基础,为完善神曲的质量控制标准提供参考。

1 材料

1.1 药材与试剂

青蒿(200701252)、辣蓼(20201108)、苍耳草(20200706)、苦杏仁(201102257)、赤小豆(201001569)、麦麸(201101521)均购于河北春开制药有限公司;面粉购于山东美乐嘉食品有限公司;市售神曲购自各地药店,具体购买信息见表1;不同麸面比神曲和不同炮制品均由实验室自制;重水(deuterium oxide, D₂O, 纯度99.9%)、2,2,2,3-d₄-3-(三甲基硅基)丙酸钠盐[2,2,3,3-d₄-3-(trimethylsilyl)propionate sodium salt, TSP-d₄, 纯度98%]均购于美国Cambridge Isotope Laboratories公司;D(+)-无水葡萄糖(批号S22J12H137237, 纯度99.9%)购于上海源叶生物科技有限公司。

表1 市售神曲样品购买信息

Table 1 Information of commercially available of Massa Medicata Fermentata

编号	规格	产地	编号	规格	产地
CQR-1	生神曲	重庆	AHR	生神曲	安徽
CQR-2	生神曲	重庆	JXR	生神曲	江西
HBR-1	生神曲	河北	HUR	生神曲	湖北
HBR-2	生神曲	河北	AHB	炒神曲	安徽
HBR-3	生神曲	河北	HBB	炒神曲	河北
SCR-1	生神曲	四川	JXB	炒神曲	江西
SCR-2	生神曲	四川	HBC-1	焦神曲	河北
SCR-3	生神曲	四川	HBC-2	焦神曲	河北
SCR-4	生神曲	四川	JXC	焦神曲	江西

注:编号图2同。

1.2 仪器

AVANCE III 600 M 超导核磁共振波谱仪(德国 Bruker 公司);ME204 型万分之一天平(瑞士 Mettler Toledo 公司);SHH-150SD 药品稳定性试验箱(重庆市永生实验仪器厂);DL-720B 型超声波清洗机(上海之信仪器有限公司);Centrifuge 5430 R 型台式离心机(德国 Eppendorf 公司);101-2AB 型鼓风干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司)。

2 方法

2.1 神曲样品的制备

2.1.1 不同发酵天数神曲样品的制备 参照文献[1]中收录的神曲制法。取青蒿、辣蓼、苍耳草各 135 g,置于圆底烧瓶中,加入 12 倍量水加热回流提取 1 h,煎煮液经 4 层纱布过滤,减压浓缩至 600 mL,备用。苦杏仁、赤小豆、麦麸分别粉碎过 2 号筛,称取苦杏仁、赤小豆各 27 g,麦麸 1 350 g,面粉 675 g,按等量递增法逐渐混匀,缓慢加入提取液制成“手捏成团、掷之即散”的曲料。每 100 g 曲料放入一个 500 mL 的发酵模具中,置于温度 33 ℃、湿度 80% 的环境下发酵 8 d,每 48 h 取样后置于 -80 ℃ 冰箱保存备用,平行制备 3 批神曲样品。

2.1.2 不同麸面比神曲样品的制备 取不同量麦麸和面粉,按 2.1.1 项下方法发酵,即得不同麸面比神曲(麦麸-面粉=3:0、1.5:1.5、1:2、0:3)。

2.1.3 不同神曲炮制品的制备^[20] 生神曲:取发酵 8 d 的神曲样品切块,置于温度 40 ℃ 的鼓风干燥箱中烘干 12 h,即得。麸炒神曲:取麸皮撒入热锅内,待起烟时,随即倒入生神曲,拌炒至深黄色,取出,筛去麸皮放凉,即得。焦神曲:取生神曲置于锅内,用文火加热炒至表面焦黄色,有焦香气外逸,取出放凉,即得。

2.2 内标溶液的制备

取 TSP-*d*₄ 4 mg 置于 100 mL 量瓶中,加入重水溶解并定容至刻度,即得质量浓度为 0.04 mg · mL⁻¹ 的内标溶液。

2.3 对照品溶液的制备

取葡萄糖对照品适量,精密称定,置于 2 mL 量瓶中,加入内标溶液溶解并定容至刻度,配制成质量浓度为 6.442 mg · mL⁻¹ 的葡萄糖对照品溶液,并逐级稀释成一系列不同浓度的对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备

神曲样品粉碎过 3 号筛,精密称取 0.1 g 置于

10 mL 离心管中,加入 4 mL 重水后混匀,60 ℃ 条件下超声处理(功率 480 W,频率 35 kHz)40 min,提取液经 12 700 r · min⁻¹ 离心 10 min,取 0.6 mL 上清液移至 5 mm 核磁管,待测。

2.5 核磁共振氢谱(proton nuclear magnetic resonance, ¹H-NMR)测试条件

采用 noesygppr1d 溶剂峰压制脉冲序列测定样品溶液的¹H-NMR 图谱。测定温度为 298.7 K,观测频率 600.23 MHz,谱宽 12 335.5 Hz,90° 脉冲宽度 13~14 μs,采样数据点 65 536,扫描 16 次,弛豫延迟时间 15 s,接收器增益 32。

2.6 数据处理

将¹H-NMR 谱图在 Topspin 2.1 工作站中完成傅里叶变换,进行相位校正和基线校正;谱图标峰、积分等操作在 MestReNova 14.0 软件中完成。按公式(1)计算葡萄糖含量。

$$\text{葡萄糖含量} = \frac{N_{\text{TSP-d}_4}}{N_{\text{Glc}}} \cdot \frac{A_{\text{Glc}}}{A_{\text{TSP-d}_4}} \cdot \frac{M_{\text{Glc}}}{M_{\text{TSP-d}_4}} \cdot \frac{C_{\text{TSP-d}_4} V}{m_{\text{MMF}}} = \frac{N_{\text{TSP-d}_4}}{N_{\text{Glc}}} \cdot \frac{A_{\alpha\text{-Glc}} + A_{\beta\text{-Glc}}}{A_{\text{TSP-d}_4}} \cdot \frac{M_{\text{Glc}}}{M_{\text{TSP-d}_4}} \cdot \frac{C_{\text{TSP-d}_4} V}{m_{\text{MMF}}} \quad (1)$$

其中, N_{Glc} 和 $N_{\text{TSP-d}_4}$ 分别代表葡萄糖和内标物 TSP-*d*₄ 的定量质子个数, A_{Glc} 和 $A_{\text{TSP-d}_4}$ 分别代表葡萄糖和 TSP-*d*₄ 的定量峰积分面积($A_{\text{TSP-d}_4}$ 为 1), M_{Glc} 和 $M_{\text{TSP-d}_4}$ 分别代表葡萄糖和 TSP-*d*₄ 的相对分子质量, $C_{\text{TSP-d}_4}$ 代表内标物 TSP-*d*₄ 的质量浓度(mg · mL⁻¹), V 代表供试品溶液的体积(mL), m_{MMF} 代表神曲的质量(g)。

2.7 方法学考察

2.7.1 线性关系考察 取 2.3 项下配制的一系列不同浓度的对照品溶液,按 2.5 项下条件进行检测。以对照品质量浓度 X (mg · mL⁻¹) 为横坐标,峰面积 Y 为纵坐标,绘制标准曲线。

2.7.2 精密度试验 取神曲样品粉末,按 2.4 项下方法制备供试品溶液,按 2.5 项下条件重复测定 6 次,以定量峰峰面积计算日内精密度;取上述供试品溶液,重复测定 6 次,连续测定 3 d,以定量峰峰面积计算日间精密度。

2.7.3 稳定性试验 取神曲样品粉末,按 2.4 项下方法制备供试品溶液,按 2.5 项下条件分别于 0、2、4、6、8、10、12 h 进样测定,计算葡萄糖峰面积 RSD。

2.7.4 重复性试验 取神曲样品粉末,按 2.4 项下方法制备 6 份供试品溶液,按 2.5 项下条件进样测定,记录定量峰积分面积,计算葡萄糖含量及 RSD。

2.7.5 加样回收率试验 取神曲样品粉末 6 份,每份 0.05 g,精密称定,分别精密加入与样品中葡萄糖量相当的对照品溶液,按照 2.4 项下方法制备供试品溶液,按 2.5 项下条件进样测定,计算加样回收率及 RSD。

2.8 统计学分析

采用 SPSS 26.0 软件进行统计学分析,数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用单因素 ANOVA 检验进行组间比较, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 神曲样品中葡萄糖的鉴定

采用¹H-NMR 测定神曲样品核磁共振氢谱,以单糖和寡糖对照品的¹H-NMR 谱作为标准图谱,将供试品谱图与对照品图谱峰型及化学位移值进行对比,分析发现神曲中仅含有葡萄糖。另外,使用 HPLC-ELSD 检测神曲中糖类成分,仅检测到葡萄糖。因此,本实验仅对神曲中葡萄糖进行定量研究。

3.2 定量峰及内标峰的选择

化合物定量时要求选择与其他质子信号峰完全没有重叠的特征质子信号峰作为该成分的定量峰。葡萄糖在水溶液中主要以吡喃式构型含氧环存在,为 α 和 β 2种构型的混合物,其端基质子分别在化学位移 δ 5.24、4.65处呈现双峰信号^[21]。因此本实验以两者作为定量峰,峰形良好且与其他信号峰互不干扰。

内标化合物是进行准确定量的重要因素,内标应在测试溶剂中溶解度、稳定性好,且与样品组分和溶剂不发生化学反应;TSP- d_4 在化学位移 δ 0处为一尖锐的单峰,为水溶性的常用内标,其质子数为9,在神曲供试品溶液中溶解度好,不与其他信号峰重叠,不干扰定量化合物的测定^[22],可作为神曲 qHNMR 定量的内标物。神曲样品及内标 TSP- d_4 的¹H-NMR 见图 1。

3.3 神曲中葡萄糖提取条件的优选

本研究从不同料液比(1:20、1:40、1:80)、提取时间(5、10、20、30、40、50 min)和提取温度(40、50、60、70 $^{\circ}$ C)3个方面系统考察了不同条件对神曲中葡萄糖提取效率的影响。当料液比为 1:40 和 1:80 时,葡萄糖定量峰信号最强且无明显差异;当

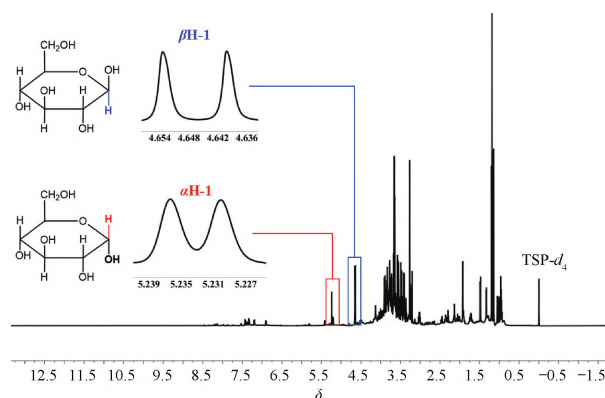


图 1 神曲样品及 TSP- d_4 (内标)的¹H-NMR 图

Fig. 1 ¹H-NMR spectrum of Massa Medicata Fermentata and TSP- d_4 (internal standard substance)

提取时间为 40、50 min 时,葡萄糖定量峰信号最强且无明显差异;当提取温度为 60 $^{\circ}$ C 时,葡萄糖定量峰面积最大,而温度过高可能会导致成分的降解。综合考虑,选取料液比 1:40、超声时间 40 min、超声温度 60 $^{\circ}$ C 的条件作为神曲中葡萄糖的最优提取条件。

3.4 方法学验证

经过系统的方法学研究,证明基于 qHNMR 的神曲中葡萄糖定量方法切实可行。葡萄糖线性回归方程是 $Y=2.4324X+0.003$ ($r=0.9999$),线性范围为 0.10~6.44 mg $\cdot$ mL⁻¹,结果表明该方法线性关系良好;日内精密度 RSD 为 0.41%,日间精密度 RSD 为 2.3%,表明仪器精密度良好;稳定性试验 RSD 为 0.84%,表明供试品溶液室温放置 12 h 稳定性良好;重复性试验 RSD 为 2.0%,表明方法重复性良好;葡萄糖的平均加样回收率为 98.17%,RSD 为 2.0%,表明葡萄糖的加样回收率良好。

3.5 市售神曲中葡萄糖含量波动规律研究

取市售神曲样品粉末,按 2.4 项下方法制备样品溶液,按 2.5 项下条件测定葡萄糖定量峰面积,计算其含量,见图 2。不同产地或相同产地不同批次的生神曲葡萄糖含量差异较大。其中,湖北省生神曲中葡萄糖质量分数低至 16.96 mg $\cdot$ g⁻¹,四川省生神曲中葡萄糖质量分数最高可达 120.57 mg $\cdot$ g⁻¹,且不同批次间质量分数在 20.10~120.57 mg $\cdot$ g⁻¹ 波动明显,其他地区质量分数在 17.70~52.46 mg $\cdot$ g⁻¹ 波动较小;同一产地炒神曲中葡萄糖含量低于生神曲中葡萄糖含量;焦神曲中未检测出葡萄糖。

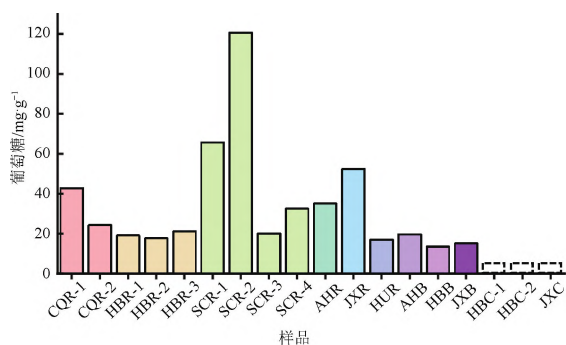
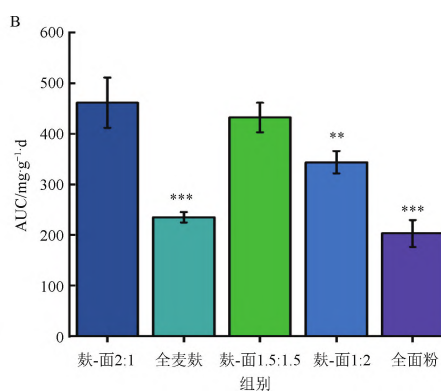
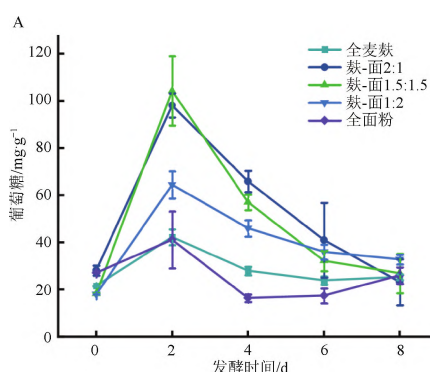


图 2 市售神曲中葡萄糖含量波动情况

Fig. 2 Variations of glucose content in commercially available of Massa Medicata Fermentata



麸: 麦麸; 面: 面粉; 与麸-面 2 : 1 发酵的神曲相比 ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图 3 不同发酵天数及麸面比神曲中葡萄糖含量(A)及 AUC(B)变化情况 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Fig. 3 Variations of glucose content (A) and AUC (B) in the Massa Medicata Fermentata products with different fermentation days and wheat bran-to-flour ratios ($\bar{x} \pm s, n=3$)

全麦麸及全面粉发酵的神曲中葡萄糖含量较低;麦麸-面粉 1.5 : 1.5 以及 2 : 1 的神曲样品中葡萄糖含量在发酵第 2 天增加最为显著;麦麸-面粉 1 : 2 中神曲葡萄糖含量介于全麦麸及全面粉和麦麸-面粉 1.5 : 1.5 及 2 : 1 发酵的神曲之间。与部颁标准中采用的麸面比发酵的神曲相比,全麦麸和全面粉发酵神曲的 AUC 与之存在极显著差异 ($P < 0.001$),麦麸-面粉 1 : 2 神曲的 AUC 与之存在显著差异 ($P < 0.01$)。

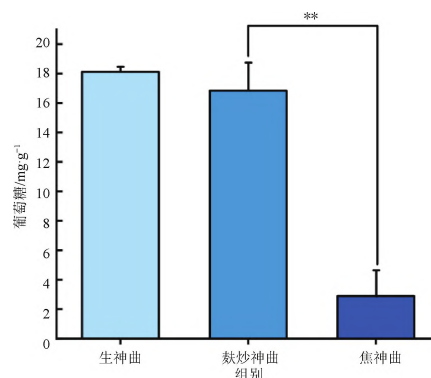
3.7 炮制方式对神曲中葡萄糖含量的影响

取不同神曲炮制品粉末,按 2.4 项下方法制备样品溶液,按 2.5 项下条件测定葡萄糖定量峰面积,计算其含量,结果见图 4。生神曲到麸炒神曲过程中,葡萄糖质量分数从 18.13 下降至 16.84 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,无显著性差异;若继续炒焦,葡萄糖质量分数低至 2.89 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,呈显著差异 ($P < 0.01$)。

6400

3.6 不同麸面比神曲发酵过程中葡萄糖生成规律研究

取不同麸面比和不同发酵天数神曲样品粉末,按 2.4 项下方法制备样品溶液,按 2.5 项下条件测定葡萄糖峰面积,计算葡萄糖的含量。在此基础上,计算葡萄糖含量-发酵时间曲线下面积,即 AUC (area under the content-time of fermentation curve),结果见图 3。不同发酵天数神曲中葡萄糖含量均呈现先升高再逐渐降低的趋势,其中按部颁标准制备的神曲中葡萄糖质量分数在 23.23 ~ 98.13 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,第 2 天葡萄糖含量最高。



2 组相比 ** $P < 0.01$ 。

图 4 不同神曲炮制品中葡萄糖含量变化情况 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Fig. 4 Glucose content in Massa Medicata Fermentata products processed with different methods ($\bar{x} \pm s, n=3$)

4 讨论

市售神曲中葡萄糖含量波动明显,推测与各地神曲加工过程中发酵天数、麸面比、发酵方式和炮制

方法等相关,导致质量参差不齐。如重庆市发酵时间为7~8 d,安徽省发酵时间为4~6 d,江西省发酵时间为7 d左右;四川省中药饮片炮制规范中面粉和麦麸的比例为2:1,江西省则为全麦麸发酵;安徽省中药饮片炮制规范中用苘麻叶覆盖曲块发酵,江西省用稻草覆盖曲块发酵;历代有多种炮制方法,常用的有生品、炒品及焦品^[13]。

神曲通过发酵这一极具中药特色的炮制形式产生了健脾和胃的功效,因此神曲的发酵程度直接影响神曲的质量。从微生物学角度分析,不同发酵天数神曲中微生物种类和数量及分泌的酶类不同,研究表明神曲发酵过程中霉菌、酵母菌和细菌呈动态变化,产生各种酶如淀粉酶、麦芽低聚糖酶、葡萄糖苷酶等,这种丰富的微生物及酶系影响神曲发酵过程中糖类成分转化^[12]。推测在神曲发酵过程中,微生物和酶使多糖分解产生大量的中间产物如单糖和寡糖,再进一步酵解生成乳酸和短链脂肪酸等^[23-24]。在发酵前期葡萄糖生成量大于消耗量,后期则恰恰相反,因此神曲中葡萄糖的含量对神曲的发酵程度具有指示作用。

从麦麸和面粉本身特点分析,麦麸和面粉作为主要碳源但营养成分不同,麦麸由膳食纤维组成,面粉由淀粉和蛋白质组成,物质差异影响神曲的发酵^[25]。麦麸疏松、透气性好,面粉加水后黏稠、透气性差,导致发酵环境差异,影响发酵过程;两者混合的发酵基质环境有助于葡萄糖生成。通过探究不同麸面比神曲发酵过程中葡萄糖的量变规律,有利于更好地指导工业生产,提高神曲质量。

研究发现,糖类尤其是单糖在加热过程中发生脱水与降解,即焦糖化反应;若存在氨基,易发生美拉德反应^[26-27]。推测神曲炒制过程中,焦糖化与美拉德反应的发生导致葡萄糖含量下降,且降低程度与炒制温度相关。同时,自制焦神曲与市售焦神曲相比葡萄糖含量较高,推测与发酵天数、原料配比以及炒制程度等相关。本研究揭示了神曲炮制过程中葡萄糖含量变化规律,为完善神曲加工炮制工艺和品质提升提供了理论参考。

本研究建立了基于¹H NMR的神曲中葡萄糖含量测定的方法,对市售神曲中葡萄糖的含量进行分析,并揭示了不同发酵天数、麸面比以及炮制方法对神曲中葡萄糖生成的影响规律。有助于说清楚、讲明白神曲的发酵机制;更有助于指导、优化神曲的加

工炮制工艺,指导工业生产,提高神曲质量。

[参考文献]

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 卫生部药品标准中药成方制剂. 第十九册[M]. 北京:中华人民共和国卫生部药典委员会, 1998: 36.
- [2] 时海燕, 徐男, 赵霞, 等. 基于 HS-GC-IMS 技术分析六神曲炮制前后(炒、焦)挥发性物质的变化[J]. 中草药, 2023, 54(10): 3120.
- [3] 李虹霞, 朱月健, 尹磊, 等. 六神曲化学成分及抗氧化活性研究[J]. 中成药, 2023, 45(3): 788.
- [4] 马开, 田萍, 张迪文, 等. 波长切换 HPLC 法同时测定六神曲中9个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2019, 39(3): 526.
- [5] 王长福, 徐嘉智, 王思宇, 等. 六神曲抗菌有效部位化学成分研究[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(10): 2350.
- [6] 曹美娇, 张婷婷, 许树, 等. NMR 法分析鉴定神曲的发酵产物[J]. 中国现代中药, 2017, 19(2): 183.
- [7] 高胜美, 张欢, 王跃飞, 等. 基于 UHPLC-Q-Orbitrap 技术的神曲发酵前后化学成分差异研究[J]. 中成药, 2022, 44(12): 3890.
- [8] 吴丹, 刘双, 谢洪珍, 等. 炒神曲中短链脂肪酸的 HS-GC/MS 分析研究[J]. 天津中医药, 2017, 34(2): 136.
- [9] FU F Q, XU M, WEI Z, et al. Biostudy on traditional Chinese medicine Massa Medicata Fermentata [J]. ACS Omega, 2020, 5(19): 10987.
- [10] ZHANG H, GAO S M, ZHANG X Y, et al. Fermentation characteristics and the dynamic trend of chemical components during fermentation of Massa Medicata Fermentata [J]. Arabian J Chem, 2022, 15(1): 103472.
- [11] GAO S M, SHAN L Y, SHI Y L, et al. Exploration of the variations of amino acids in Massa Medicata Fermentata and their effects on gastrointestinal diseases [J]. LWT-Food Sci Technol, 2023, 173(1): 114309.
- [12] 陈彦琳, 王云庭, 关凯乐, 等. 六神曲发酵过程中微生物群落结构研究[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(21): 5219.
- [13] 任巧玲, 宋潇. 六神曲的质量情况分析[J]. 中国现代药物应用, 2010, 4(10): 113.
- [14] 曾荣香, 张清华, 管咏梅, 等. 柱前衍生化高效液相色谱法测定地稔多糖中单糖组成[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(10): 73.
- [15] 王郡瑶, 程显隆, 李明华, 等. 基于衍生化-HPLC 测定酶解葡萄糖的方法评价六神曲中糖化酶活力[J]. 药物分析杂志, 2022, 42(1): 121.
- [16] 王莹, 刘芫汐, 岳洪水, 等. 电喷雾式检测器与蒸发光散射检测器用于注射用益气复脉中糖成分测定比较及方法准确性探讨[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(22): 5511.
- [17] 黄挺, 王静羽, 张伟, 等. 近十年定量核磁共振法应用研究进展[J]. 化学试剂, 2023, 45(6): 123.
- [18] 潘坚扬, 赵芳, 李文竹, 等. 基于定量核磁共振技术的人参皂苷对照品质评价方法研究[J]. 中国中药杂志, 2022,



- 47(3): 575.
- [19] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.
- [20] 赵亚丽. 神曲的炮制工艺[J]. 中国现代药物应用, 2014, 8(2): 224.
- [21] 阎政礼, 杨明生, 冯志明. 苹果原汁中葡萄糖、果糖和蔗糖 NMR 定量分析[J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2011, 8(1): 86.
- [22] 李馨白, 徐翊雯, 张雅军, 等. 核磁共振氢谱法对 3 种低相对分子质量肝素中残留溶剂乙醇的定性和定量分析[J]. 中国药学杂志, 2023, 58(8): 725.
- [23] 张亚琨, 张美莉, 白雪. 膳食纤维及短链脂肪酸对肠道微生物组成的影响[J]. 中国粮油学报, 2023, 38(2): 195.
- [24] 艾素, 汤伟, 郭若琳, 等. 微生物发酵中草药及其活性物质的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(6): 1110.
- [25] 刘腾飞, 贾天柱. 神曲制备过程中配料比考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(15): 40.
- [26] 王丹, 况丹妮, 刘若阳, 等. 焦糖化与美拉德反应中 DDMP、HMF 及糠醛的生成研究[J]. 食品工业科技, 2022, 43(12): 100.
- [27] 刘德鹏, 王云, 王国有, 等. 焦栀子炮制过程中饮片色泽变化与美拉德反应的相关性分析[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(10): 2382.

[责任编辑 孔晶晶]