

基于红外光谱的鲜地黄、生地黄和熟地黄成分差异分析

田家屹, 马芳, 韩玲玉*

清华大学药学院中药研究院, 北京 100084

摘要 运用傅里叶变换衰减全反射红外光谱(ATR-FTIR)对鲜地黄水提物、生地黄水煎液和熟地黄水煎液的整体成分进行差异分析,并运用离子色谱法对差异成分进行定量分析,研究鲜地黄与其炮制品的整体成分及变化规律。ATR-FTIR中,三种地黄在糖区有差异,其中鲜地黄糖区特征峰在1 140, 1 047和1 000 cm^{-1} ,生地黄糖区特征峰为1 140和1 045 cm^{-1} ,熟地黄糖区特征峰为1 142和1 029 cm^{-1} ,且三种地黄峰形状不同。二阶导数红外光谱(SDIR)进一步发现,地黄炮制过程中糖类成分在1 200~600 cm^{-1} 之间的特征峰变化最为显著。三种地黄提取液的特征峰位置相近,但相对峰强度不同,且随着炮制过程呈规律性变化。可以推测出在鲜地黄炮制过程中,鲜地黄中多糖发生水解,变成熟地黄中的寡糖或者单糖。应用离子色谱法对8种单糖和寡糖进行定量分析,所建立方法线性关系良好($R^2 \geq 0.999 0$)。定量结果显示,葡萄糖、蜜二糖、半乳糖、甘露糖、甘露三糖、水苏糖和毛蕊花糖苷在鲜地黄、生地黄和熟地黄样品中差异显著($p < 0.05$)。水苏糖在鲜地黄中含量最高,其余6种糖类成分均在炮制过程中呈递增趋势,推测水苏糖在地黄的炮制过程中参与多渠道的水解过程。该研究使用红外光谱分析探究了鲜地黄及其炮制品中整体化学成分的变化,为鲜地黄的实验室研究和临床应用提供数据支持。同时为鲜药的质量控制提供参考,并为中药炮制的研究提供新思路。

关键词 鲜地黄; 炮制; 红外光谱; 离子色谱

中图分类号: R284.1 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2022)10-3203-07

引言

鲜地黄是指玄参科地黄(*Rehmannia glutinosa* Liliaceae)的新鲜块根,归心、肝、肾经,有清热生津、凉血、止血之功^[1]。鲜地黄烘焙成生地黄,归心、肝、肾经,具清热凉血、养阴生津之功。生地黄经蒸制或酒炖炮制为熟地黄,归肝、肾经,具有补血滋阴,益精填髓之功。鲜地黄、生地黄和熟地黄性味功效有所不同,其差异的物质基础尚不明确。研究表明^[2],地黄主要含环烯醚萜、紫罗兰酮、苯乙醇苷、三萜、黄酮、糖类、木脂素、酚酸、氨基酸、挥发油及无机元素等。有研究发现^[3],鲜地黄加工成生地黄和熟地黄后,活性成分梓醇和毛蕊花糖苷的含量明显下降。另有研究发现^[4-5]生地黄寡糖中水苏糖所占比例最高,加工炮制过程中,水苏糖含量大幅度的下降与糖类的水解有关。中药是化学成分极复杂的混合物体系,仅一种或若干种活性成分往往不能准确反映

中药的整体疗效。虽然有HPLC法建立鲜地黄指纹图谱^[6-7]等研究,但经过提取后往往不能真实全面地表征中药的化学组成。中药材及其制剂的整体分析和质量控制是必然的发展趋势。红外光谱作为一种全息指纹图谱,能够反映出其中所有成分的综合信息,具有特征性强、取样量小、简单、快速、无损无污染等特点,在中药成分整体分析方面发挥着不可替代的作用^[8-9]。

李雯霞等^[10]使用压片法对鲜地黄及其炮制品进行了红外光谱的分析,证明了红外光谱法在鲜地黄、生地黄和熟地黄差异成分分析应用的可行性。但对鲜地黄进行切片80℃减压干燥24h的处理方法与实际应用不符。张波泳等^[7]直接将鲜地黄冷冻干燥后打粉,冻干粉与生地黄粉末使用ATR和压片法进行红外光谱比较,发现均有一定差异(相关性 >0.95)。课题组前期研究发现,鲜地黄直接打碎后的糊状样品及鲜地黄汁与生地黄和熟地黄粉末、煎煮液及冷浸液比较差异更为明显(相关性均 <0.90)。古籍中记载^[11-13],鲜

收稿日期: 2021-07-23, 修订日期: 2022-02-07

基金项目: 科技部重大新药创制专项项目(2019ZX09201005-006-002), 中国癌症基金会鲜药学术委员会, 建生鲜药创研基金项目(JSYY-20200103-055)资助

作者简介: 田家屹, 1998年生, 清华大学药学院研究助理 e-mail: tianjy1198@163.com

* 通讯作者 e-mail: hanlingyu@mail.tsinghua.edu.cn

地黄多切片煎煮或绞汁入药。本研究前期也对加水超声提取法进行了考察,发现超声提取的过程中鲜地黄样品发生褐变影响后续试验。现代研究有采用压榨法^[14]对鲜地黄进行提取,但鲜地黄在保存过程中存在失水问题,压榨法重复性差,难以进行定量研究。为了更好的保证鲜地黄的“鲜”,本研究采用鲜地黄冷冻粉碎的水提物代替鲜地黄汁进行检测。

研究傅里叶变换衰减全反射红外光谱仪(attenuated total internal reflectance Fourier transform infrared spectroscopy, ATR-FTIR),并运用红外光谱法测定鲜、生和熟地黄临床应用形式的整体成分差异。并运用离子色谱法对差异成分中的单糖和寡糖进行定量分析,研究鲜地黄及其炮制品的整体成分差异,为鲜地黄的研究和应用提供数据支持。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

于河南省焦作市武陟县北郭乡南古村收集同批次鲜地黄及生地黄,经中药世家传承人皇甫齐伟药师鉴定为玄参科地黄。D-甘露糖(批号:YR-1805011),甘露三糖(批号:YR-1802001),水苏糖(批号:YR-21193),果糖(批号:YR-21896),无水葡萄糖(批号:YR-21882),半乳糖(批号:YR-21893),均购自宝鸡市翊瑞生物科技有限公司,蜜二糖(批号:S11145)购自上海源叶生物科技有限公司,毛蕊花糖苷(批号:HA141444298)购自晨光生物科技集团股份有限公司,纯度均>98%。黄酒为会稽山绍兴香雪酒,乙醇(上海泰坦化学有限公司)为分析纯,超纯水由 GenPure Milli-Q 超纯水系统制备。3k15 高速离心机(Sigma),MM400 混合冷冻混合球磨仪(Retsch),Spectrometer Spectrum two FT-IR 红外光谱仪(PerkinElmer),ckw1100 温控仪(北京市朝阳区自动化仪表厂),ScientificDionexICS-5000+ 离子色谱仪(Thermo),GenPure 超纯水系统(Thermo),Qilnbeier6 涡旋振荡器(Scientific Industries),XS204DR 电子天平(Mettler Toledo)。

1.2 方法

1.2.1 样品制备

取鲜地黄 5 株,清除表面泥土,切块,采用榨汁机将其打碎成糊状,置入液氮中速冻成块状,液氮环境下冷冻研磨 30 s 磨至细粉,−80 °C 冷冻保存,备用,准确称取每株鲜地黄的冷冻研磨粉末 10 g,分别加入 100 mL 超纯水涡旋 10 min,离心 9 500 r·min^{−1},10 min,取上清液,作为鲜地黄供试品水溶液。

生地黄分别取 5 株按 2020 版《中国药典》规范切制饮片,备用。熟地黄参照北京市 2008 版药物炮制规范对生地黄进行炮制,备用。分别准确称取每株生地黄及熟地黄饮片各 10 g 置于圆底烧瓶中,加入 100 mL 的超纯水浸泡 30 min。100 °C 下水浴锅加热回流提取 60 min,取出液体,再次加入 80 mL 超纯水加热回流 30 min,倒出液体,合并两次提取液,纱布过滤,浓缩,超纯水定容至 100 mL,静置放冷,离心 9 500 r·min^{−1},10 min,分别取上清液,作为生地黄、熟地黄供试品水溶液。

1.2.2 ATR-FTIR 光谱采集

分别取上述鲜地黄、生地黄和熟地黄供试品水溶液 2 μL 滴于 ATR-FTIR 的金刚石表面,静置 20 min 待样品挥干且红外图谱稳定后,在 4 000~400 cm^{−1} 范围内采集红外光谱,分辨率 4 cm^{−1},扫描次数 16 次,扫描实时扣除 CO₂ 和 H₂O 干扰。

用 Spectrum 软件(Perkin Elmer)对原始 ATR-FTIR 红外光谱进行 ATR 矫正,读取峰位置,计算相关系数。采用 13 点平滑获得到二阶导数红外图谱。

1.2.3 离子色谱测定地黄糖类成分含量

色谱柱: Dionex Carbopac PA20 BloLC 3×150 mm Analytical,保护柱: Dionex Carbopac PA20 BloLC 3×30 mm Guard,进样量: 10 μL,流速: 0.4 mL·min^{−1},淋洗液: A: H₂O, B: 0.5 mol·L^{−1} 氢氧化钠, C: 醋酸钠 200 mmol·L^{−1},检测器温度: 30 °C,柱温: 30 °C,积分安培检测器,标准四点位, Au 工作电极,梯度洗脱程序见表 1,其中 40.1~47 min 为色谱柱清洗并重新平衡的过程。

表 1 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution procedures

Time/min	0	15	25	30	30.1	35	35.1	40	40.1	47
A/%	97	97	0	0	40	40	0	0	97	97
B/%	3	3	100	100	50	50	100	100	3	3
C/%	0	0	0	0	10	10	0	0	0	0
Curve	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

称取适量对照品,加超纯水配置成:甘露糖 0.02 mg·mL^{−1},甘露三糖 0.02 mg·mL^{−1},水苏糖 0.2 mg·mL^{−1},果糖 0.2 mg·mL^{−1},葡萄糖 0.02 mg·mL^{−1},半乳糖 0.02 mg·mL^{−1},蜜二糖 0.02 mg·mL^{−1} 和毛蕊花糖苷 0.2 mg·mL^{−1} 的混标母液,稀释至 0.5, 0.2, 0.1, 0.05, 0.02, 0.01 倍,4 °C 保存,备用。

分别取鲜地黄、生地黄及熟地黄供试品水溶液 80 mL,加 20 mL 乙醇,4 °C 冷藏静置 12 h。离心 9 500 r,10 min,离心两次,取上清液,稀释 100 倍,作为鲜地黄、生地黄和熟地黄供试品溶液。

分别精密移取供试品溶液及不同浓度对照品各 10 μL 注入离子色谱,按上述方法进行测定,并计算甘露糖,甘露三糖,水苏糖,果糖,葡萄糖,半乳糖,蜜二糖,毛蕊花糖苷的含量。

2 结果与讨论

2.1 鲜地黄及其炮制品提取物的红外光谱分析

分别计算鲜地黄、生地黄和熟地黄提取液的 ATR 平均红外光谱,结果如图 1 所示。表 2 为三种地黄提取液 ATR 红外光谱特征峰位置。与鲜地黄提取液全波段红外光谱相比,生地黄提取液有 17 个对应的特征峰,其中有 4 个特征峰位置相同,相关系数为 0.979 7;熟地黄提取液有 16 个对应的特征峰,没有相同特征峰位置,相关系数为 0.954 3。

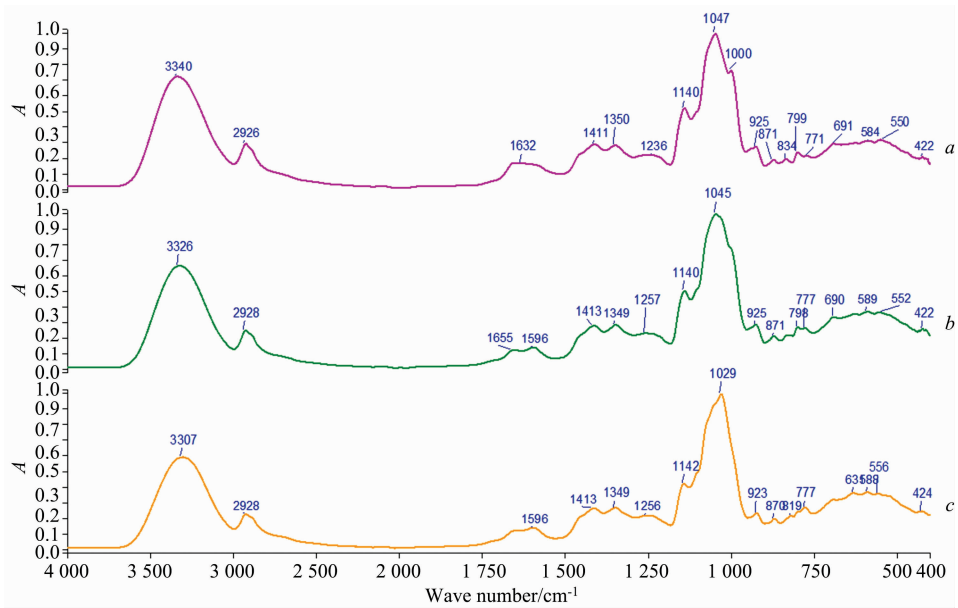


图 1 鲜地黄(a)、生地黄(b)和熟地黄(c)提取液的 ATR 红外光谱

Fig. 1 ATR-FTIR spectra of the fresh RR (a), crude RR (b) and processed RR (c) extract samples

地黄炮制过程也是糖类分别变化的过程，选取地黄中常见的 8 种糖类成分：水苏糖、半乳糖、甘露三糖、果糖、葡萄糖、毛蕊花糖苷、蜜二糖和甘露糖。图 2 中列出了这 8 种糖类标准品的 ATR 红外光谱图。结合图 1 和图 2 分析，鲜地黄样品的 ATR 图谱中，3 340 cm^{-1} 为羟基 O—H 的伸缩振动吸收峰，随着地黄的炮制，生地黄的出峰位置在 3 326 cm^{-1} ，熟地黄的出峰位置在 3 307 cm^{-1} ，特征峰波数逐渐减少，说

明随着地黄的炮制，样品含水量逐渐降低，另一方面糖类成分也在转化为糖苷类；鲜地黄中 2 926 cm^{-1} 为亚甲基 C—H 的伸缩振动吸收峰，与甘露三糖特征峰位置相同，生地黄与熟地黄中 2 928 cm^{-1} 与甘露糖峰位置一致；1 655 和 1 596 cm^{-1} 为 O—H 弯曲振动吸收峰、芳香环骨架振动吸收峰及共轭羰基的伸缩振动吸收峰，归属于样品中的水及蛋白质成分；鲜地黄 1 236 cm^{-1} 为 C—H 的变形振动吸

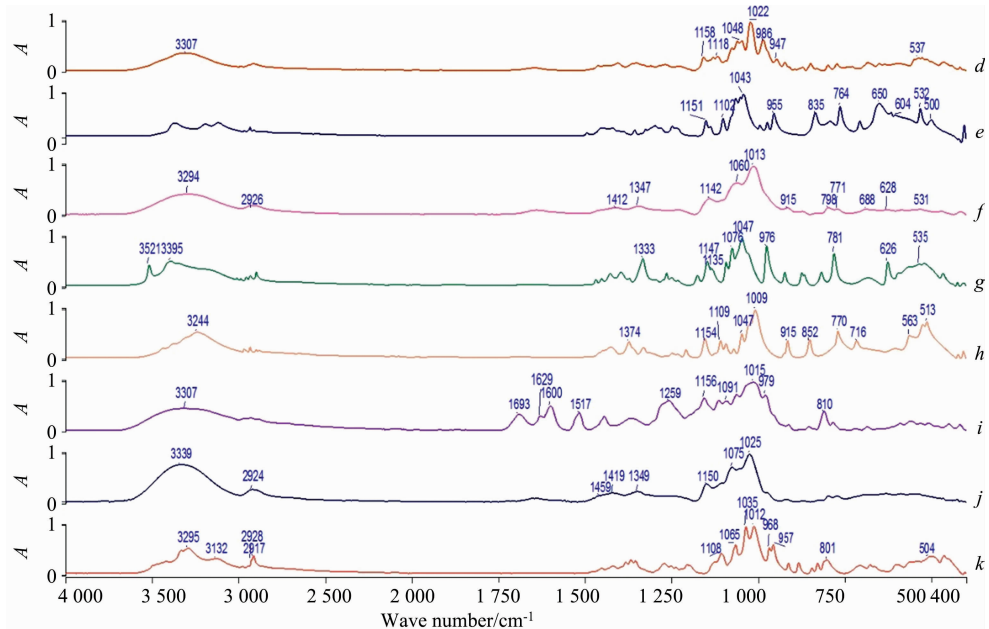


图 2 糖类标准品的 ATR 红外光谱

d: 水苏糖; e: 半乳糖; f: 甘露三糖; g: 果糖; h: 葡萄糖; i: 毛蕊花糖苷; j: 蜜二糖; k: 甘露糖

Fig. 2 ATR-FTIR spectra of standard for saccharide compounds

d: Stachyose; e: Galactose; f: Mannitriose; g: Fructose;

h: Anhydrous glucose; i: Acteoside; j: Melibiose; k: Mannose

收峰,明显区别于生地黄与熟地黄中特征峰位置 $1\ 257\ \text{cm}^{-1}$; $1\ 100\sim 700\ \text{cm}^{-1}$ 主要是 C—O 伸缩振动的吸收峰,其主要归属于糖类成分。其中鲜地黄提取液和生地黄提取液最高吸收峰位置在 $1\ 049\ \text{cm}^{-1}$,而熟地黄提取液最高峰位置为 $1\ 029\ \text{cm}^{-1}$,进一步说明地黄炮制过程中糖类发生转化。

2.2 鲜地黄及其炮制品提取物的二阶导数红外光谱分析

计算不同地黄提取液样品与糖类标准品的二阶导数图谱,可以提高谱图分辨率,增强谱图特征性,分辨红外光谱中重叠的吸收峰。图 3 为不同地黄样品在 $1\ 200\sim 600\ \text{cm}^{-1}$

范围内的二阶导数红外光谱(second derivative IR, SDIR),此区域主要为地黄提取液中端碳基 C—H 的弯曲振动、糖环呼吸振动和 C—O 伸缩振动。如图 3 所示,三种地黄提取液的特征峰位置相似,但是相对峰强度不同,且随着炮制过程呈规律性变化。鲜地黄中峰 $1\ 159$ 和 $1\ 141\ \text{cm}^{-1}$ 随着炮制过程峰强度逐渐减弱,熟地黄峰位移至 $1\ 148\ \text{cm}^{-1}$ 。鲜地黄中峰 $1\ 045\ \text{cm}^{-1}$ 峰强度逐渐降低,在生地黄中出现新的特征峰 $1\ 046\ \text{cm}^{-1}$,逐渐蓝移到熟地黄中的 $1\ 054\ \text{cm}^{-1}$ 。同时,峰 $1\ 028\ \text{cm}^{-1}$ 逐渐增强, $997\ \text{cm}^{-1}$ 强度逐渐减弱,并红移到 989

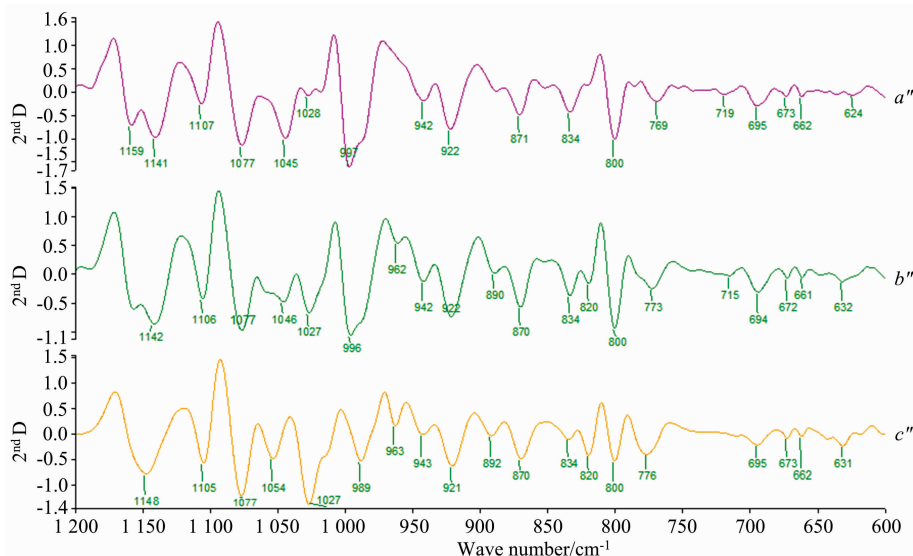


图 3 鲜地黄(a'')、生地黄(b'')和熟地黄(c'')提取液的二阶导数红外光谱

Fig. 3 ATR-SDIR spectra of the fresh RR (a''), crude RR (b'') and processed RR (c'') extract samples

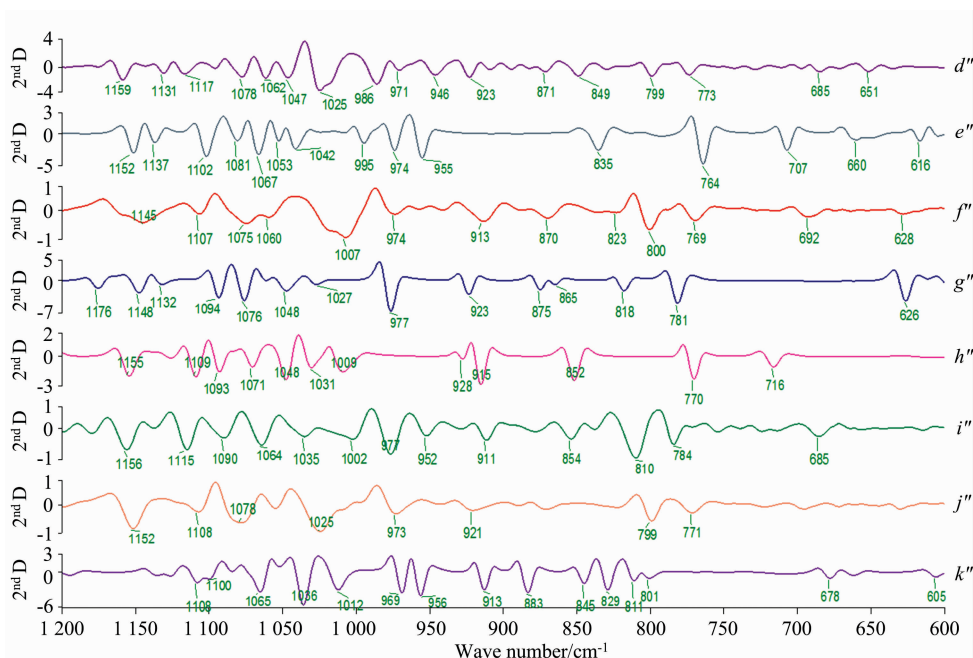


图 4 糖类标准品的二阶导数红外光谱

d'' : 水苏糖; e'' : 半乳糖; f'' : 甘露三糖; g'' : 果糖; h'' : 葡萄糖; i'' : 毛蕊花糖苷; j'' : 蜜二糖; k'' : 甘露糖

Fig. 4 ATR-SDIR spectra of standard for saccharide compounds

d'' : Stachyose; e'' : Galactose; f'' : Mannitriose; g'' : Fructose; h'' : Glucose; i'' : Acteoside; j'' : Melibiose; k'' : Mannose

cm⁻¹附近。963 cm⁻¹峰强度逐渐增强伴随着 800 cm⁻¹峰逐渐减弱。鲜地黄中峰 789 cm⁻¹也随着炮制过程逐渐蓝移到 776 cm⁻¹附近。图 4 为 8 种糖类标准品在 1 200~600 cm⁻¹范围内的 SDIR。结合图 4 中多种糖类标准品的特征峰位置，

可以推测出从鲜地黄炮制到生地黄，最终到熟地黄的过程中，主要是糖类成分组成发生变化。鲜地黄中多糖发生水解，生成熟地黄中的寡糖或者单糖。

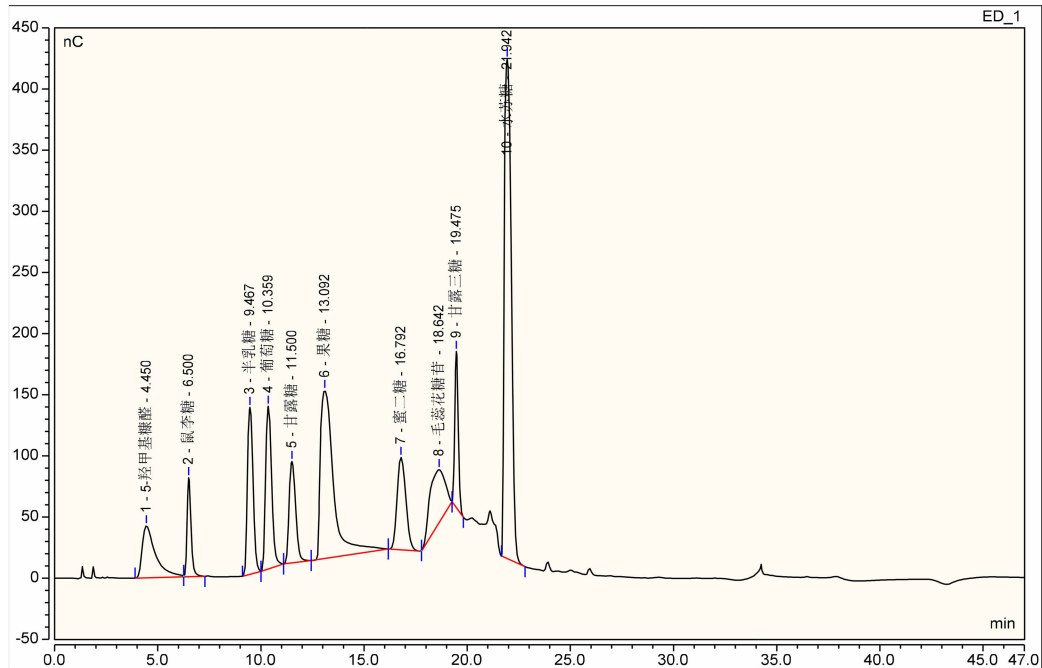


图 5 糖类标准品混合溶液的离子色谱

Fig. 5 Ion Chromatography of saccharides mixed standard

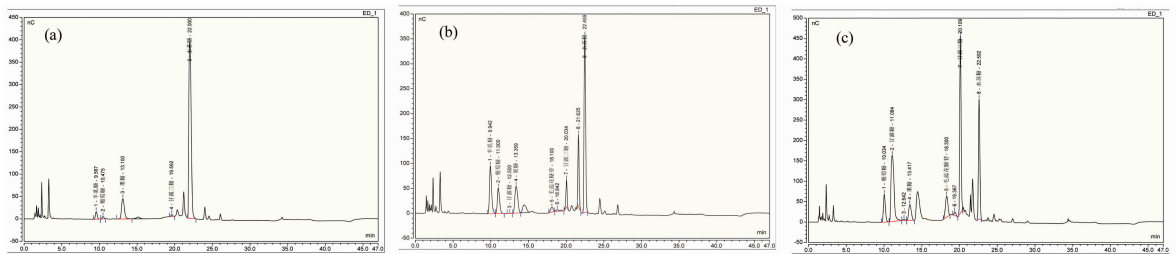


图 6 鲜地黄(a)、生地黄(b)和熟地黄(c)提取液的离子色谱

Fig. 6 Ion Chromatography of the fresh RR (a), crude RR (b) and processed RR (c) extracts

2.3 鲜地黄及其炮制品提取物离子色谱糖类含量测定

2.3.1 线性关系考察

如表 2 所示，8 种单糖、寡糖及衍生物的线性范围均 R² ≥ 0.999 0，表明在各自线性范围内线性关系良好。

2.3.2 离子色谱测定结果分析

离子色谱法测定 8 种单糖、寡糖及衍生物结果表见图 7。8 种成分除果糖以外，其他均有统计学差异 (p < 0.05)。归纳总结后发现：水苏糖含量在鲜地黄、生地黄和熟地黄水提取物中依次降低，而除水苏糖和果糖外的其他六种糖均是鲜地黄水提取物中含量最低。其中，熟地黄水煎液中甘露三糖、毛蕊花糖苷、葡萄糖和蜜二糖含量显著高于生地黄和鲜地黄，提示它们可能是地黄糖类成分在炮制过程中受热分解的终产物。

表 2 8 种单糖、寡糖成分的线性关系考察

Table 2 Linear regression equations of 8 kinds of monosaccharides and oligosaccharides

样品	回归方程	R ²	线性范围/ (μg · mL ⁻¹)
葡萄糖	y=2.933 7x+0.180 8	0.999 2	0.2~20
蜜二糖	y=1.983 1x+0.100 9	0.999 2	0.2~20
果糖	y=0.887 0x+0.782 8	0.999 0	2~200
半乳糖	y=2.933 7x+0.180 8	0.999 2	0.2~20
甘露糖	y=2.786 9x+0.217 8	0.999 3	0.2~20
甘露三糖	y=2.162 2x+0.072 4	0.999 5	0.2~20
水苏糖	y=1.303 1x+0.140 5	0.999 1	2~200
毛蕊花糖苷	y=0.999 0x+2.094 4	0.999 0	2~200

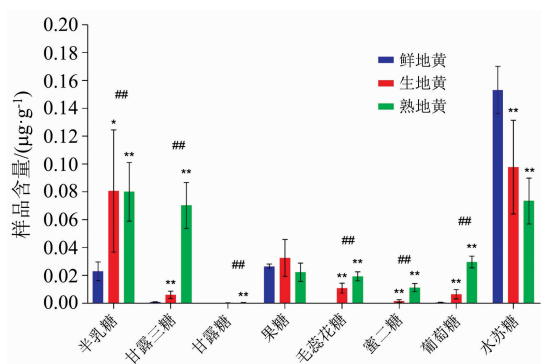


图 7 8 种单糖、寡糖及衍生物在鲜地黄、生地黄和熟地黄水提物中含量结果图 ($n=5$)

生地黄、熟地黄 vs 鲜地黄: $p < 0.05$: *, $p < 0.01$: **, 生地黄 vs 熟地黄: $p < 0.05$: #, $p < 0.01$: ##

Fig. 7 Contents of 8 kinds of monosaccharides and oligosaccharides in fresh RR, crude RR and processed RR extracts ($n=5$)

the difference in fresh RR with crude RR and processed RR: $p < 0.05$: *, $p < 0.01$: **, the difference in crude RR with fresh RR and processed RR: $p < 0.05$: #, $p < 0.01$: ##

References

- [1] Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). Pharmacopoeia of the People's Republic of China(中华人民共和国药典), Part 1 (一部). Beijing; China Medical Science Press(北京; 中国医药科技出版社), 2020. 129.
- [2] CHEN Jin-peng, ZHANG Ke-xia, LIU Yi, et al(陈金鹏, 张克霞, 刘毅, 等). Chinese Traditional and Herbal Drugs(中草药), 2021, 52(6): 1772.
- [3] WANG Bo, LÜ Chen-zi, HE Mei-jing, et al(王勃, 吕辰子, 何美菁, 等). World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica(世界科学技术-中医药现代化), 2018, 20(6): 1010.
- [4] CHEN Jin, TAN Li-yuan, LI Min, et al(陈瑾, 谭丽媛, 李敏, 等). Lishizhen Medicine and Materia Medica Research(时珍国医国药), 2018, 29(7): 1625.
- [5] Xue Shujuan, Wang Lili, Chen Suiqing. Molecules, 2018, 23(3): 541.
- [6] TAN Li-yuan, CHEN Jin, WANG Xu-wen, et al(谭丽媛, 陈瑾, 王旭文, 等). Chinese Traditional Patent Medicine(中成药), 2020, 42(9): 2520.
- [7] ZHANG Bo-yong, JIANG Zhen-zuo, WANG Yue-fei, et al(张波泳, 江振作, 王跃飞, 等). Chinese Traditional Patent Medicine(中成药), 2016, 38(5): 1104.
- [8] FAN Ke-feng, TANG Fa-yin, ZHAO Jian-ping, et al(樊克锋, 汤法银, 赵建平, 等). Chinese Journal of Veterinary Drug(中国兽药杂志), 2017, 51(3): 55.
- [9] Zhao Ping, Li Xia, Wang Ying, et al. Carbohydrate Polymers, 2020, 233: 115836.
- [10] LI Wen-xia, WANG Xiu-zhen, PEI Yuan-yuan, et al(李雯霞, 王秀真, 裴圆圆, 等). Asia-Pacific Traditional Medicine(亚太传统医药), 2020, 16(12): 36.
- [11] WU Tang(吴塘). Detailed Analysis of Epidemic Warm Diseases(温病条辨). Beijing; People's Medical Publishing House(北京: 人民卫生出版社), 2005. 120.
- [12] YAN Xi-ting(严西亭). De Pei Ben Cao(得配本草). Shanghai; Shanghai Scientific & Technical Publishers (上海: 上海卫生出版社), 1957. 17.
- [13] LI Shi-zhen(李时珍). Compendium of Material Medica(本草纲目). Beijing; People's Medical Publishing House(北京: 人民卫生出版社), 1977. 89.
- [14] LIANG Ai-hua, XUE Bao-yun, WANG Jin-hua, et al(梁爱华, 薛宝云, 王金华, 等). China Journal of Chinese Material Media(中国中药杂志), 1999, 24(11): 663.

Xue^[5]等研究认为鲜地黄炮制过程中水苏糖水解有棉子糖途径和甘露三糖途径, 其中棉子糖会继续水解成蜜二糖, 甘露三糖和蜜二糖水解释产生半乳糖。其认为甘露糖是多糖水解释产物, 果糖减少与美拉德反应有关。本研究发现, 生地黄水苏糖比鲜地黄减少约三分之一, 表明大量的水苏糖同时参与多渠道的水解是鲜地黄在炮制过程中产生的最显著变化。熟地黄的半乳糖平均值略低于生地黄, 表明半乳糖可能在生地黄酒制过程中参与其他反应。而毛蕊花糖苷随炮制增加与之前研究结论不同, 需进一步考证。

3 结论

采用 ATR-FTIR 法对鲜地黄水提物、生地黄和熟地黄水煎液进行了整体成分分析, 确定糖类为鲜地黄与炮制品最主要的差异成分。进一步, 应用离子色谱法对 8 种单糖及寡糖进行定量分析, 证实鲜地黄及其炮制品中糖类成分的差异。研究为鲜地黄的应用和质量控制提供参考。

Analysis of Composition Differences of Fresh Radix Rehmanniae, Crude Radix Rehmanniae and Processed Radix Rehmanniae Using Infrared Spectroscopy

TIAN Jia-yi, MA Fang, HAN Ling-yu*

School of Pharmaceutical Sciences, Tsinghua University, Beijing 100084, China

Abstract Based on the Attenuated Total internal Reflectance Fourier Transform Infrared spectroscopy (ATR-FTIR) to study the main differences of chemical constituents in water extraction of fresh Radix Rehmanniae (RR), a decoction of crude RR and processed RR. In addition, ion chromatography was used to analyze the different components quantitatively. This study aims to reveal the whole composition and variation of fresh RR and its processed products. In ATR-FTIR, there were differences among the three RR in the region of saccharides. The characteristic peaks of fresh RR were located at 1 140, 1 047 and 1 000 cm^{-1} , raw RR were 1 140 and 1 045 cm^{-1} , and processed RR were 1 142 and 1 029 cm^{-1} . Moreover, the peak shapes of the three kinds of RR were quite different. Meanwhile, the second derivative infrared spectra (SDIR) showed that the characteristic peaks of saccharides in the range of 1 200 ~ 600 cm^{-1} changed most significantly during the processing of RR. The positions of characteristic peaks of three kinds of RR extracts were similar, but the relative peak intensities were different, and they changed regularly with the processing process. It can be inferred that during the processing of fresh RR, the polysaccharides in fresh RR hydrolyzed into oligosaccharides or monosaccharides. Furtherly, 8 monosaccharides and oligosaccharides were analysed quantitatively using ion chromatography with good linear relationship ($R^2 \geq 0.999 0$). The results indicated that the contents of glucose, melibiose, galactose, mannose, manninotriose, stachyose and acteoside were different in the extracts of the fresh RR, crude RR and processed RR ($p < 0.05$). The content of stachyose and fructose was the highest in fresh RR and raw RR, respectively. The other 6 saccharides trend to increase in processing, presuming that the stachyose in fresh RR might have a multi-channel hydrolytic process. This study explored the regulation of the whole chemical components of fresh RR in the processing process and provided data support for laboratory investigation and the clinical application of fresh RR. Moreover, these data provided a reference for quality control of fresh Chinese herbal medicine and gave new ideas for traditional Chinese medicine processing research.

Keywords Fresh Radix Rehmanniae; Processing; Infrared spectroscopy; Ion chromatography

(Received Jul. 23, 2021; accepted Feb. 7, 2022)

* Corresponding author