

高分离度快速液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法 分析酒制和醋制人参的皂苷类成分

戴雨霖¹ 越皓¹ 孙长江² 郭云龙¹ 郑飞¹ 李晶¹ 刘淑莹^{*1}

¹(长春中医药大学吉林省人参科学研究院, 长春 130117) ²(吉林大学中日联谊医院放射线科, 长春 130033)

摘要 利用高分离度快速液相色谱与四极杆-飞行时间质谱(RRLC-Q-TOF MS)联用技术,对酒制人参和醋制人参的人参皂苷类成分进行比较研究。样品经不同方法炮制,离心过滤后,采用 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱,以 0.1% 甲酸和乙腈作为流动相进行梯度洗脱,采用高分辨质谱进行检测,利用 Masshunter Qualitative Analysis 软件与人工相结合进行分析。鉴定了 46 种人参皂苷,比较了酒制人参和醋制人参中人参皂苷含量差异,并检测到稀有人参皂苷。同时总结了炮制品中人参皂苷的转化途径。对人参置于酒或醋中有效成分的浸出量进行比较。本方法对于人参炮制品的成分研究具有借鉴意义,并且对民间使用的人参泡酒进行了科学解释,为人参炮制品在临床合理使用提供指导。

关键词 酒制人参;醋制人参;人参皂苷;液相色谱-质谱联用

1 引言

人参是五加科植物人参(*Panax ginseng* C. A. Mey.)的干燥根,具有益智、提高免疫力、调节心血管系统等功效,主要有效成分是人参皂苷^[1]。人参皂苷属于三萜类化合物,共三类,分别是原人参二醇型皂苷(Protopanaxadiol, PPD)、原人参三醇型皂苷(Protopanaxatriol, PPT)(骨架结构示于图 1)和齐墩果烷型人参皂苷(Oleanolic acid)。按照其 C-20 位结构的不同,又可以分为 20(S)-型和 20(R)-型,天然人参皂苷构型均为 20(S)-型。

人参有红参、生晒参、大力参等炮制品^[2-4]。研究表明,人参经过加工炮制后,所含有效成分发生复杂变化,同时伴有新物质生成^[5],民间将新鲜人参置于酒中浸泡后服用,达到保健的目的^[6],但很少进行科学解释。中医理论中,药材经醋炮制后,可以增强治疗作用的例子有很多^[7]。据报道,人参皂苷在酸性环境下能够转化成具有很强生物活性的稀有皂苷^[8]。

高分离度快速液相色谱与四极杆-飞行时间质谱(RRLC-Q-TOF MS)联用技术常用于天然产物的化学成分分析^[9],Wang 等^[10]利用液相色谱-质谱联用技术检测人参和西洋参中人参皂苷类化合物的差异,本实验利用液相色谱-质谱联用技术,比较人参通过醋及酒炮制后的化学成分变化,为其质量评价和临床应用提供依据。

2 实验部分

2.1 仪器、试剂与材料

Agilent 1200 型快速分离液相色谱系统,Agilent 6520 Q-TOF 质谱仪(美国 Agilent 公司)。鲜人参、

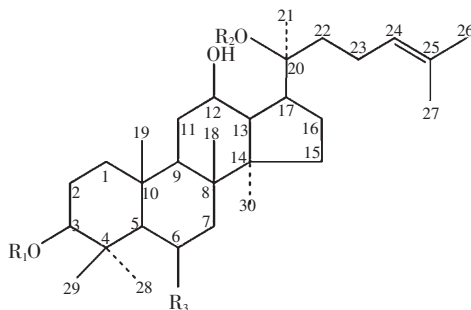


图 1 原人参二醇型皂苷和原人参三醇型皂苷的结构式
Fig. 1 Structures of panaxadiol ginsenosides and panaxatriol ginsenosides

当 R₃ = OH 为原人参三醇型皂苷,当 R₃ = H 为原人参二醇型皂苷。
R₃ = OH, panaxatriol ginsenosides; R₃ = H, panaxadiol ginsenosides.

生晒参(5年)均购于吉林省抚松县万良人参市场,经长春中医药大学王淑敏教授鉴定为五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的根;人参皂苷 Rg₂, Rg₃, Rb₁, Rc, Rd, Re 和 Rf 等对照品(纯度>98%,南京泽朗医药科技有限公司);乙腈(色谱纯);其它试剂均为分析纯。醋(山西水塔醋业股份有限公司,总酸≥4.00 g/100 mL);白酒(北京双庆和酒业有限责任公司,酒精度:56% Vol);黄酒(浙江圣塔绍兴酒有限公司,酒精度:8% Vol)。

2.2 样品的制备

鲜人参分别用3种浸泡液(醋、白酒、黄酒)浸泡48 h后,高压蒸锅100℃蒸制2.5 h,冷却至室温,于烘箱60℃干燥72 h。等量的浸泡液,备用。

分别称取1 g生晒参粉末,加入20 mL 70%甲醇,浸泡过夜,超声60 min,以5000 r/min离心10 min,过0.22 μm滤膜,备用。浸泡液制备方法同上。

2.3 实验条件

色谱条件:色谱柱:Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm,3.5 μm),梯度洗脱;流动相:0.1%甲酸溶液(A),乙腈(B);流动相梯度:0~2 min,0%~10% B;2~7 min,10%~15% B;7~15 min,15%~30% B;15~21 min,30%~39% B;21~33 min,39%~50% B;33~44 min,50%~68% B;44~50 min,68%~100% B。柱温35℃;流速0.3 mL/min;进样量5 μL。

质谱条件:采用电喷雾负离子扫描模式(ESI⁻),干燥气(N₂)流速9 L/min,干燥气温度300℃,雾化气压力2.41×10⁵ Pa,毛细管电压为3.5 kV,碎裂电压175 V,锥孔电压65 V,质量扫描范围 *m/z* 100~2000。实验数据采用 Masshunter Qualitative Analysis(B. 03. 01)软件分析处理。

3 结果与讨论

3.1 线性范围和检出限

选择人参中主要成分人参皂苷 Rg₂ 和 Rf 为对照品,按照2.3节中色谱、质谱条件,通过 RRLC-Ce-TOF 联用技术分析计算线性范围和检出限。以浓度(*C*)为横坐标,峰面积(*A*)为纵坐标,绘制标准曲线,结果表明在0.025~2.5 μg/mL浓度范围内,Rg₂对照品的相关系数为0.994,标准曲线线性关系良好。在0.1~10 μg/mL的浓度范围内,Rf对照品的相关系数为0.995,标准曲线线性关系良好。以3倍信噪比(*S/N*)计算得 Rg₂ 和 Rf 对照品的检出限分别为0.0010和0.0012 mg/kg(表1)。

表1 对照品人参皂苷 Rg₂ 和 Rf 的线性范围、回归方程、线性相关系数、检出限

Table 1 Linear range of ginsenosides Rg₂ and Rf, regression equation, relative standard deviation and limit of detection (LOD)

No.	人参皂苷 Ginsenosides	线性范围 Linear range (μg/mL)	回归方程 Linear equation	相关系数 (R ²)	检出限 LOD (mg/kg)
1	Rg ₂	0.025~2.5	$y = 2.796x - 2.034$	0.994	0.0010
2	Rf	0.1~10	$y = 3.053x - 2.235$	0.995	0.0012

3.2 不同炮制品化学分析及比较

人参皂苷在ESI负离子模式下的一级质谱图中,准分子离子主要以[M-H]⁻和[M+HCOOH-H]⁻的形式存在^[11]。通过RRLC-Q-TOF MS获得标准对照品提供的质谱信息和供试品一级谱中的分子质量信息,以及二级串联质谱分析得到碎片信息,确定苷元类型和所连糖基的种类和数量,进而确定人参皂苷结构。

实验数据采用提取离子流(EIC)方法分析。以丙二酰基人参皂苷 mRb₁ 为例,说明其它人参皂苷的鉴定方法。人参皂苷 mRb₁ 是二醇型人参皂苷,其C-3位取代是一分子丙二酰基和两分子的葡萄糖形成的侧链,C-20位为两分子葡萄糖连接而成。丙二酰基人参皂苷 mRb₁ 的二级串联质谱示于图2。mRb₁ 理论分子质量为1194.6033,在质谱一级谱图中主要以[M-H]⁻离子形式存在,[M-H]⁻理论值为1193.5961,测得值为1193.5967,误差为0.5×10⁻⁶。从图2可以观察到 *m/z* 1107, 945, 783, 621, 459 等碎片离子。其中,*m/z* 1193 离子脱去丙二酰基(86 U)产生了 *m/z* 1107 [M-malonyl-H]⁻特征碎片离子;脱去丙二酰基和一分子葡萄糖形成了 *m/z* 945 离子;陆续脱去一分子葡萄糖残基分别产生了 *m/z* 783, 621, 459 碎片离子。离子 *m/z* 459 是二醇型人参皂苷的特征离子。这与文献[4]报道的信息一致,可推测此物质

为人参皂苷 mRb₁。用同样的方法可以判定所测得的人参皂苷 RRLC-MS/MS 数据(表 2)。

表 2 为 3 种人参炮制品和生晒参的化学成分鉴定和相对含量比较。由于生晒参的炮制过程中未经过高温蒸制,因此生晒参的皂苷类成分中存在天然的丙二酰基类人参皂苷。而炮制品在这个过程中经过溶液浸泡和高温蒸制,会有一部分丙二酰基类人参皂苷水解脱去了丙二酰基,生成了相应的人参皂苷,如 mRd 经水解生成了 Rd,因此在炮制品中类似 Rd 这样生成相应的人参皂苷的含量会明显增加。炮制品中存在着一些生晒参中没有检测出的成分,如人参皂苷 Rh₂, F2, Rg₄, Rg₅, Rg₆, Rk₃ 等。人参皂苷 Rh₂ 是重要的抗肿瘤活性成分,人参皂苷 Rk₃ 对顺铂所致的肾毒性具有保护作用,这些成分的变化是人参蒸制药效改变的物质基础^[12]。有少数的人参皂苷含量上发生较大改变。例如,在酸环境下人参皂苷主要的转化标志性产物为 Rg₃^[13, 14]。这是由于人参皂苷 C-3 位和 C-20 的糖基不稳定造成的。醋制人参对人参皂苷的转化效果最明显。

表 2 负离子模式下 46 种人参皂苷的 MS/MS 数据

Table 2 Data of 46 kinds of ginsenosides in negative ion mode

No.	Identity	Molecular formula	W	V	D	M	[M-H] ⁻ / [M+HCOOH-H] ⁻ (m/z) mass accuracy<10 ⁻⁵	MS/MS fragment ion (m/z)
1	Ra ₀	C ₆₀ H ₁₀₂ O ₂₈	-	+	++	++	1269.6485/1315.654	1107, 945, 783, 621, 459
2	Ra ₁	C ₅₈ H ₉₈ O ₂₆	++	+	++	++	1209.6274/1255.6328	1107, 945, 783, 621, 459
3	Ra ₂	C ₅₈ H ₉₈ O ₂₆	++	+	++	++	1209.6274/1255.6328	1107, 945, 783, 621, 459
4	Ra ₃	C ₅₉ H ₁₀₀ O ₂₇	++	+	++	++	1239.6379/1285.6434	1107, 1077, 945, 783, 621, 459
5	Rb ₁	C ₅₄ H ₉₂ O ₂₃	++	+++	+++	+++	1107.5957/1153.6011	945, 783, 621, 459
6	Rb ₂	C ₅₃ H ₉₀ O ₂₂	++	++	++	+++	1077.5851/1123.5906	945, 783, 621, 459
7	Rb ₃	C ₅₃ H ₉₀ O ₂₂	+++	+++	+++	+++	1077.5851/1123.5906	945, 783, 621, 459
8	Rc	C ₅₃ H ₉₀ O ₂₂	++	++	++	++	1077.5851/1123.5906	945, 783, 621, 459
9	Rd	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	+	++	++	++	945.5428/991.5483	783, 621, 459
10	Rg ₃	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	+	++	+	+	783.49/829.4955	621, 459
11	Rs ₁	C ₅₅ H ₉₂ O ₂₃	++	+	++	++	1119.5957/1165.6011	1077, 1059, 945, 783, 621, 459
12	Rs ₂	C ₅₅ H ₉₂ O ₂₃	++	+	++	++	1119.5957/1165.6011	1077, 1059, 945, 783, 621, 459
13	Rs ₃	C ₄₄ H ₇₄ O ₁₄	-	++	+	+	825.5006/871.5061	783, 621, 459
14	mRb ₁	C ₅₇ H ₉₄ O ₂₆	++	+	+	+	1193.5961/-	1107, 945, 783, 621, 459
15	mRb ₂	C ₅₆ H ₉₂ O ₂₅	+++	+	+	+	1163.5855/-	1077, 915, 783, 621, 459
16	mRb ₃	C ₅₆ H ₉₂ O ₂₅	+++	+	+	+	1163.5855/-	1077, 915, 783, 621, 459
17	mRc	C ₅₆ H ₉₂ O ₂₅	+++	+	+	+	1163.5855/-	1077, 915, 783, 621, 459
18	mRd	C ₅₁ H ₈₄ O ₂₁	+++	+	+	+	1031.5432/-	945, 783, 765, 621, 459
19	F2	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	-	+	++	++	783.49/829.4955	621, 459
20	Rh ₂	C ₃₆ H ₆₂ O ₈	-	++	+	++	621.4372/667.4427	459
21	CK	C ₃₆ H ₆₂ O ₈	-	++	+	++	621.4372/667.4427	459
22	Rg ₁	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	+++	+++	+++	+++	-/845.4904	637, 475
23	Rf	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	+++	+++	+++	+++	799.4849/845.4904	637, 475
24	Rg ₂	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	+	++	+	++	783.49/829.4955	637, 475
25	Re	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	++	+	++	++	945.5428/-	799, 783, 637, 475
26	Noto R ₁	C ₄₇ H ₈₀ O ₁₈	++	+	+	+	931.5272/977.5327	799, 637, 475
27	Noto R ₂	C ₄₁ H ₇₀ O ₁₃	++	+	+	+	769.4744/815.4798	637, 475
28	mRg ₁	C ₄₅ H ₇₄ O ₁₇	++	++	++	++	885.4853/-	781, 637, 475
29	mRf	C ₄₅ H ₇₄ O ₁₇	++	++	++	++	885.4853/-	781, 619, 475
30	mRe	C ₅₁ H ₈₄ O ₂₁	+	+	+	+	1031.5432/-	945, 799, 637, 475
31	20-Glc-Rf	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₉	+	+	+	+	961.5378/1007.5432	799, 637, 475
32	F3	C ₄₁ H ₇₀ O ₁₃	-	+	+	+	769.4744/-	637, 475

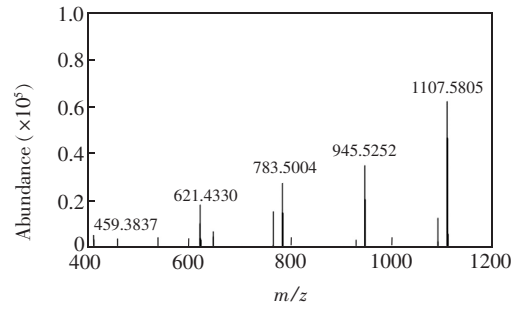


图 2 人参皂苷 mRb₁ 二级串联质谱图

Fig. 2 MS/MS spectrum of mRb₁ ginsenoside

续表 2(Continued to Table 2)

No.	Identity	Molecular formula	W	V	D	M	$\frac{[M-H]^-}{[M+HCOOH-H]^-} (m/z)$ mass accuracy $< 10^{-5}$	MS/MS fragment ion (m/z)
33	F1	C ₃₆ H ₆₂ O ₉	-	-	+	+	637.4321/683.4376	475
34	20(R)-Rh ₁ / 20(S)-Rh ₁	C ₃₆ H ₆₂ O ₉	-	-	+	+	637.4321/683.4376	475
35	Ro	C ₄₈ H ₇₆ O ₁₉	++	++	+	+	955.4908/-	793, 613, 569, 453
36	Rg ₄ /Rg ₆	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₂	-	++	+	++	765.4795/811.4849	619, 457
37	Rg ₄ /Rg ₆	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₂	-	++	+	++	765.4795/811.4849	619, 457
38	Rg ₅ /Rk ₁	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₂	-	++	+	+	765.4795/811.4849	603, 441
39	Rg ₅ /Rk ₁	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₂	-	++	+	+	765.4795/811.4849	603, 441
40	Rh ₄ /Rk ₃	C ₃₆ H ₆₀ O ₈	-	++	+	+	-/665.427	457
41	Rh ₄ /Rk ₃	C ₃₆ H ₆₀ O ₈	-	++	+	+	-/665.427	457
42	20(S)-Rf ₃	C ₄₂ H ₇₄ O ₁₅	-	++	+	+	817.4955/863.501	477
43	Rg ₈ /Rg ₉	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₃	-	++	+	+	781.4744/827.4798	457
44	Rg ₈ /Rg ₉	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₃	-	++	+	+	781.4744/827.4798	457
45	20(S)-CY/ 20(R)-CY	C ₄₂ H ₇₄ O ₁₄	-	+	+	+	801.5006/847.5061	459
46	20(S)-CY/ 20(R)-CY	C ₄₂ H ₇₄ O ₁₄	-	+	+	+	801.5006/847.5061	459

W: 生晒参; V: 醋制人参; D: 白酒制人参; M: 黄酒制人参; 编号 1~21 为二醇型人参皂苷, 编号 22~34 为三醇型人参皂苷, 编号 35 为齐墩果烷型人参皂苷, 编号 35~46 为其它类型皂苷。“-”代表未检测到, “+”代表峰面积为 $0 \sim 2 \times 10^5$, “++”代表峰面积为 $(2 \times 10^5 \sim 5 \times 10^5)$, “+++”代表峰面积大于 5×10^5 。

W: White ginseng; V: Vinegar processed ginseng; D: Distilled spirit processed ginseng; M: Millet wine processed ginseng. No. 1-21: Panaxadiol ginsenosides; No. 22-34: Panaxatriol ginsenosides; No. 35: Oleanolic acid; No. 35-46: Others. “-”: No detected; “+”: Peak area are less than 2×10^5 ; “++”: Peak area are $2 \times 10^5 \sim 5 \times 10^5$; “+++”: Peak area are above 5×10^5 .

3.3 原人参二醇型人参皂苷转化途径

以醋制人参中的原人参二醇型人参皂苷转化途径为例, 人参皂苷 Rb₁ (1108), Rb₂ (1078), Rb₃ (1078), Rc (1078) 的 C-3 位和 C-20 分别连有不同的糖基, 如人参皂苷 Rb₃ 在 RRLC-Q-TOF-MS 一级谱中的准分子离子为 $[M-H]^- (m/z 1077.5851)$, 在 ESI-MS/MS 条件下发生碎裂产生一系列碎片离子, 其中 $m/z 945$ 是 $m/z 1077$ 离子失去 C-20 位木糖基 C₅H₈O₄ (132 U) 碎片产生的, $m/z 783$ 是 $m/z 1077$ 离子失去 C-20 位木糖基碎片并且失去一个葡萄糖基 C₆H₁₀O₅ 碎片产生的, $m/z 621$ 是 $m/z 1077$ 离子失去 C-20 位木糖基碎片且分别失去两个葡萄糖基 C₁₂H₂₀O₁₀ 碎片产生的, $m/z 459$ 是 $m/z 1077$ 离子失去 C-20 位和 C-3 位所有取代糖基碎片产生的。炮制过程中, 人参皂苷 Rb₁, Rb₂, Rb₃, Rc 会发生 C-20 位的取代基优先失去, C-3 位保持不变。即转化成人参皂苷 Rd (946)。继续转化会有两条途径: 第一条途径是人参皂苷失去 C-3 位的葡萄糖基 C₆H₁₀O₅ (162 u) 和 C-20 位的一个糖基, 产生人参皂苷 F2。F2 失去 C-3 位或者 C-20 位的糖基后分别转化成人参皂苷 CK 和 Rh₂ (图 3)。第二条途径是人参皂苷失去 C-20 位的糖基并且 C-3 位的取代基不变, 即转化成 C-20 位 R/S 构型的 Rg₃。Rg₃ 接着失去 C-3 位的一个葡萄糖取代基, 转化成人参皂苷 Rh₂。最后 Rg₃ 经过水合作用或者脱水作用分别可以生成人参皂苷 CY 和人参皂苷 Rk₁/Rg₅ (提取离子流图见图 4)。RRLC-Q-TOF-MS 一级谱中 Rk₁/Rg₅ 的含量大于人参皂苷 CY, 可以说明脱水作用占主导。

3.4 浸泡液的化学成分分析

在常温下, 采用等量醋、白酒及黄酒浸泡相同质量的鲜人参, 考察人参中有效化学成分的浸出含量, 以峰面积作为比较单位 (图 5)。结果表明, 浸泡液 RRLC-Q-TOF-MS 一级谱中可以检测到大量人参皂苷, 含量依次是: 醋 > 黄酒 > 白酒。浸泡液中人参皂苷含量差异的原因可能是人参皂苷更易溶于低 pH 值且极性大的溶液, 而白酒浸泡液中的人参皂苷成分并不是最多的。民间使用人参泡酒服用的习惯, 可能是由于古代保鲜防腐的手段有限, 而作为一种流传至今的保鲜方法, 或者由于白酒浸泡液的口感较好。

3.5 小结

本研究表明, 生晒参中主要的人参皂苷在炮制品中均可找到, 而且人参皂苷含量相差不大, 但炮制

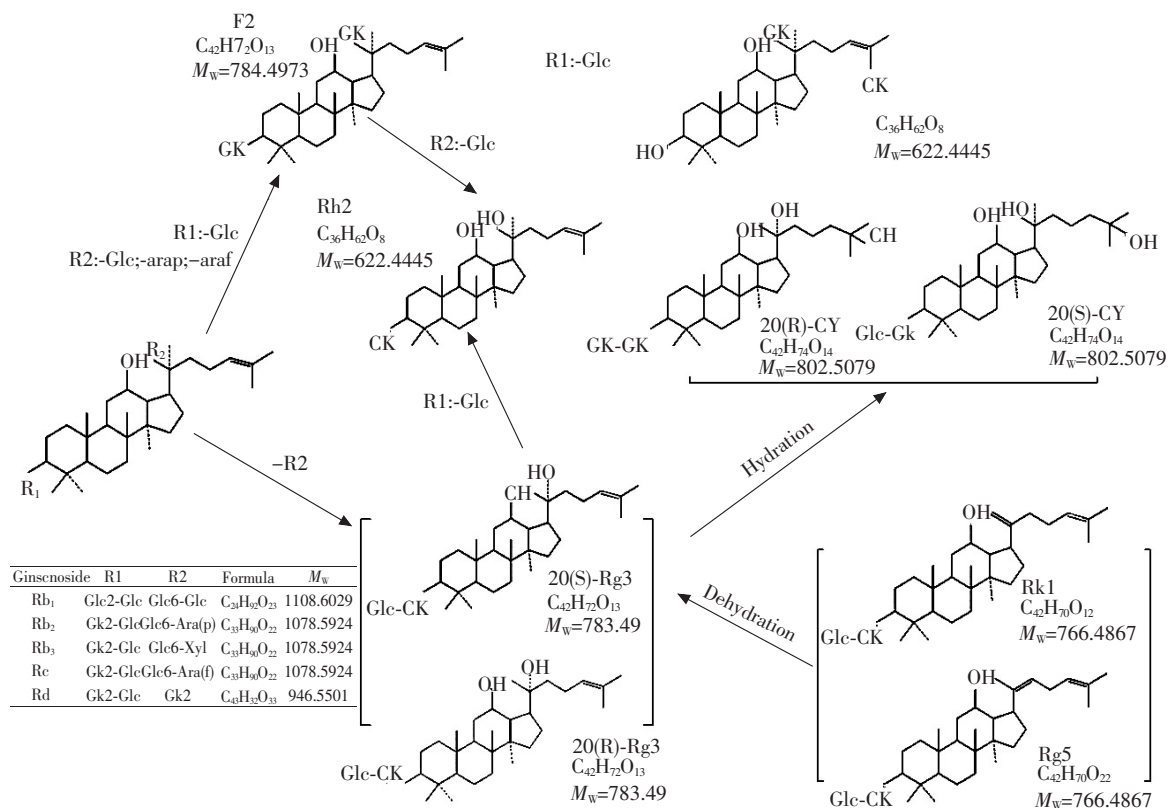


图 3 醋制人参中的原人参二醇型人参皂苷转化途径图

Fig. 3 Chemical transformation pathway for protopanaxadiol-type (PPD-type) ginsenosides in vinegar processed ginseng

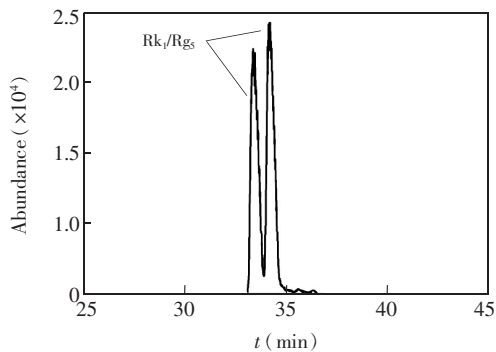


图 4 醋制人参的提取离子流图(m/z 765.4795)

Fig. 4 Extract ion chromatography (EIC) of vinegar processed ginseng at m/z 765.4795

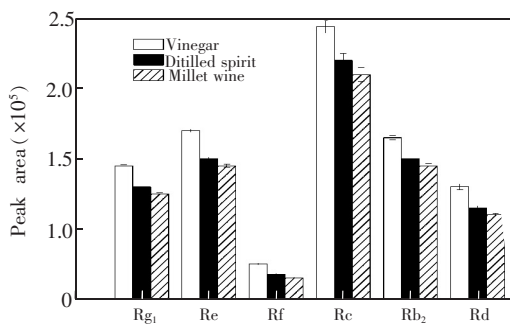


图 5 3 种浸泡液的部分人参皂苷含量图

Fig. 5 Parts of the ginsenosides contents in three solutions

人参含有很多稀有人参皂苷,如人参皂苷 Rh₂, F₂, Rg₄, Rg₅, Rg₆ 和 Rk₃ 等。醋制人参转化生成人参皂苷 Rg₃ 效果十分明显,可以作为制备稀有人参皂苷的一种手段,同时对原人参二醇型人参皂苷转化途径进行系统研究。黄酒制人参浸出人参皂苷的效果优于白酒制人参,但稍逊于醋制人参。

References

1 Choi K. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2008, 29(9): 1109-1118
 2 ZHENG Zhong, SONG Feng-Rui, LIU Shu-Ying, LIU Zhi-Qiang. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2013, 33(6): 327-333

- 郑重, 宋凤瑞, 刘淑莹, 刘志强. 质谱学报, **2013**, 33(6): 327-333
- 3 LI Hai-Sheng, ZHOU Jing-Yuan, LIU Hong. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, **1996**, 27(10): 624-626
李海生, 周静远, 刘虹. 中草药, **1996**, 27(10): 624-626
- 4 HAO Ying, YU Shan-Shan, DAI Yu-Lin, ZHANG Ying, ZHONG Wei, LIU Shu-Ying, YUE Hao. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, **2014**, 35(4): 311-316
郝颖, 于珊珊, 戴雨霖, 张颖, 钟薇, 刘淑莹, 越皓. 质谱学报, **2014**, 35(4): 311-316
- 5 ZHANG Miao, QIN Kun-Ming, LI Wei-Dong, YIN Fang-Zhou, CAI Hao, CAI Bao-Chang. *China journal of Chinese Material Medica.*, **2014**, 39(19): 3701-3706
张淼, 秦昆明, 李伟东, 殷放宙, 蔡皓, 蔡宝昌. 中国中药杂志, **2014**, 39(19): 3701-3706
- 6 Kim D K, Baik M Y, Kim H K, Hahm Y T, Kim B Y. *Korean Journal of Food Science and Technology*, **2012**, 44(2): 179-184
- 7 WANG Jing, MAO Chun-Qin, LUTu-Lin. *Chinese Journal of Information on TCM*, **2009**, 16(1): 99-101
王静, 毛春芹, 陆兔林. 中国中医药信息杂志, **2009**, 16(1): 99-101
- 8 Wu W, Qin Q J, Guo Y Y, Sun J H, Liu S Y. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2012**, 60(40): 10007-10014
- 9 DAI Yu-Lin, YU Shan-Shan, ZHANG Ying, HAO Ying, ZHONG Wei, YUE Hao, LIU Shu-Ying. *Chem. J. Chinese Universities*, **2014**, 35(7): 1396-1402
戴雨霖, 于珊珊, 张颖, 郝颖, 钟薇, 越皓, 刘淑莹. 高等学校化学学报, **2014**, 35(7): 1396-1402
- 10 Wang X M, Sakuma T, Asafu-Adjaye E, Shiu G K. *Anal. Chem.*, **1999**, 71(8): 1579-1584
- 11 LI Li, LIU Chun-Ming, WU Wei, YUE Hao, LIU Zhi-Qiang, LIU Shu-Ying, TIAN Cheng. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2005**, 33(8): 1087-1090
李丽, 刘春明, 吴巍, 越皓, 刘志强, 刘淑莹, 田成. 分析化学, **2005**, 33(8): 1087-1090
- 12 Beak S H, Piao X L, Lee U J, Kim H Y, Park J H. *Biol. Pharm. Bull*, **2006**, 29(10): 2051-2055
- 13 Kim M H, Lee Y C, Choi S Y, Cho C W, Rho J, Lee K W. *Journal of Ginseng Research*, **2011**, 35(4): 497-503
- 14 Yi J H, Kim M Y, Kim Y C, Jeong W S, Bae D W, Hur J M, Jun M. *Food Science and Biotechnology*, **2010**, 19(3): 647-653

Determination of Ginsenosides in Processed Ginseng by Rapid Resolution Liquid Chromatography Coupled with Quadrupole-Time-of-Flight Tandem Mass Spectrometry

DAI Yu-Lin¹, YUE Hao¹, Sun Chang-Jiang², GUO Yun-Long¹, ZHENG Fei¹, LI Jing¹, LIU Shu-Ying^{*1}

¹Jilin Ginseng Academy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

²(Department of Radiology, China-Japan Union Hospital, Jilin University, Changchun 130033, China)

Abstract Rapid resolution liquid chromatography coupled with quadrupole-time-of-flight tandem mass spectrometry (RRLC-Q-TOF MS/MS) was used for the comparative analysis of ginsenosides composition in white ginseng, vinegar processed ginseng, distilled spirit processed ginseng and millet wine processed ginseng. Under the optimal chromatographic conditions including ZORBAX SB-C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm, 3.5 μm) at 35 °C, 5 μL of injection volume and water-acetonitrile gradient elution as mobile phase with a flow rate of 0.3 mL/min, 46 kinds of ginsenosides were identified by the comparison of the retention time of the standard compound and the accurate mass obtained from RRLC-Q-TOF MS/MS. The rare ginsenosides were detected by the comparison of white ginseng with Processed-ginseng, such as ginsenoside Rh₂, F₂, Rg₄, Rg₅, Rk₃ etc. The method has reference significance for the research of compounds in the processed Chinese-herbs.

Keywords Processed-ginseng; Ginsenosides; Liquid chromatography-mass spectrometry

(Received 12 March 2015; accepted 2 June 2015)