

БЫСТРЫЙ СПОСОБ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ЭКСТРАКЦИИ ГИНСЕНОЗИДОВ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ И ПРОДУКТОВ НА ОСНОВЕ ЖЕНЬШЕНЯ ДЛЯ ВЭЖХ-МС/МС АНАЛИЗА

А.Н. Ставрианиди, И.А. Родин, А.В. Браун, О.А. Шпигун

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова
Российская Федерация, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3
Stavrianiidi.andrey@gmail.com

Поступила в редакцию 27 сентября 2013 г.,
после доработки 29 – октября 2013 г.

ЦЕЛЬ СТАТЬИ. Разработка удобного, быстрого и неразрушающего метода извлечения гинсенозидов из объектов со сложной матрицей, совместимого с чувствительным ВЭЖХ-МС детектированием этих соединений.

МЕТОДОЛОГИЯ. Использовали ультразвуковую экстракцию при 30 °С. В качестве экстрагента были выбраны различные смеси воды и органических растворителей (метанола и этанола). Детектирование и определение структуры гинсенозидов проводили с помощью ВЭЖХ с тандемным масс-спектрометрическим детектированием на третьем квадруполе, работающем в режиме линейной ионной ловушки.

НАУЧНАЯ ЦЕЛЬ. Исследовали влияние на эффективность экстракции следующих факторов: состав экстрагирующей смеси, объем смеси и число последовательных актов экстракции. Проверена возможность химического превращения исходных гинсенозидов Rg1, Rb1 и Rc в гинсенозиды более простой структуры во время экстракции.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Рассчитанные способом «введено-найдено» степени извлечения гинсенозидов Rg1, Rb1, Rc лежат в диапазоне от 80 до 110 %. Показано отсутствие разрушения структуры данных веществ при проведении экстракции.

ВЫВОДЫ. Выбраны оптимальные условия проведения экстракции гинсенозидов. Разработанный способ экстракции без последующего упаривания и перерастворения экстракта применяли в комбинации с ВЭЖХ-МС определением гинсенозидов в различных объектах со сложной матрицей.

Ключевые слова: ультразвуковая экстракция, гинсенозиды, *Panax ginseng*, ВЭЖХ-МС/МС.

Андрей Николаевич Ставрианиди – аспирант МГУ имени М.В. Ломоносова.

Область научных интересов: масс-спектрометрия (анализ малых молекул), высокоэффективная жидкостная хроматография, исследование аминокислот.

Количество опубликованных работ – 11.

Игорь Александрович Родин – к.х.н., старший научный сотрудник МГУ имени М.В. Ломоносова.

Область научных интересов: масс-спектрометрия (анализ малых молекул), высокоэффективная жидкостная хроматография.

Количество опубликованных работ – 35.

Аркадий Владимирович Браун – аспирант МГУ имени М.В. Ломоносова.

Область научных интересов: масс-спектрометрия (анализ малых молекул), высокоэффективная жидкостная хроматография.

Количество опубликованных работ – 12.

Олег Алексеевич Шпигун – д.х.н., член корр. РАН, заведующий лабораторией хроматографии МГУ имени М.В. Ломоносова.

Область научных интересов: ионная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография.

Количество опубликованных работ – 380.

ВВЕДЕНИЕ

Гинсенозиды – основные действующие вещества растений рода *Panax*. Женьшень и его ана-

логи активно используют в производстве средств традиционной медицины в Китае, Корее, Японии, США и на Дальнем Востоке. В последние несколь-

ко десятилетий многие исследователи предлагали различные подходы для извлечения, идентификации и определения гинсенозидов [1]. Такие подходы необходимы для контроля качества и изучения состава растительных материалов, экстрактов и коммерческих продуктов на основе женьшеня. Для выделения гинсенозидов из твердой матрицы обычно используют жидкостную и сверхкритическую флюидную экстракцию. В качестве экстрагентов для жидкостной экстракции чаще применяют метанол и этанол, а также их водные смеси. *n*-Бутанол также можно использовать в исследовательских целях для экстракции гинсенозидов [2]. Использование метанол-водных смесей вместо чистого метанола, как правило, обеспечивает больший выход гинсенозидов [3, 4]. В работе [4] 10 г измельченного корня женьшеня кипятили в течение двух часов в водном растворе метанола с соотношением метанол : вода (95 : 5). После того, как растворитель испарился, экстракт перерастворили в воде и провели очистку на носителе со смолой для большего выхода гинсенозидов. Затем пробу пропускали через колонку, заполненную силикагелем, используя смеси CHCl_3 и MeOH в качестве элюентов. Различные фракции собирали и анализировали с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ). Доказано, что нагревание во время экстракции приводит к разрушению нестабильных малонил-гинсенозидов и превращению их в соответствующие незамещенные гинсенозиды. Более сложные по структуре гинсенозиды склонны к отщеплению части заместителей в зависимости от процедуры пробоподготовки. Показано [5], что частичное разложение (50 %) гинсенозидов происходило уже через 5 ч экстракции метанолом в аппарате Сокслета, а для полного превращения необходимо порядка 20 ч. То, что температура является действительно важным фактором, может быть проиллюстрировано на примере формирования гинсенозидов Rg3 и Rh2. Они ценятся за свои биологические свойства и в основном содержатся в образцах корней красного корейского женьшеня. Доказано, что данные гинсенозиды не входят в состав натурального продукта, они образуются в результате термообработки при экстракции из гинсенозидов Rb1 и Rc, присутствующих в больших количествах [6].

Экстракция смесью (30 : 70) метанол : вода при 50 °С в течение 30 мин оказалась менее эффективной, чем ультразвуковая экстракция [7]. Для одновременного выделения и определения ацилзамещенных и незамещенных гинсенозидов в корнях растения *P. ginseng* предложен метод последовательной 15-минутной ультразвуковой экстракции смесью (40 : 60) этанол : вода и 4-х часовым перемешиванием с последующим определением методом ВЭЖХ с испарительным детектированием по светорассеянию [8].

Доказано, что сверхкритическая флюидная экстракция (СФЭ) диоксидом углерода с добавкой 6 % мол. этанола дает значительно более высокие результаты по степени извлечения гинсенозидов, чем СФЭ чистым диоксидом углерода [9]. Необходимо заметить, что чистый диоксид углерода имеет небольшой дипольный момент и поэтому плохо подходит для извлечения полярных метаболитов. Экстракция диоксидом углерода (660 л, с добавкой 6 % мол. этанол) при 31.2 МПа и 333 К оказалась равноэффективна экстракции горячей водой, и менее эффективна по сравнению с экстракцией гинсенозидов этанолом в аппарате Сокслета.

Разработанные нами способы исследования качественного [10] и количественного [11] состава гинсенозидов возможно применять в сочетании с разными способами экстракции аналитов из твердой матрицы. Однако в целях контроля качества растительного сырья и продуктов на основе женьшеня необходимо выбрать оптимальные условия быстрой пробоподготовки, включающей в себя ультразвуковую экстракцию, которую можно проводить при меньших температурах, что позволяет избежать разложения гинсенозидов с большим числом заместителей.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты. В работе использовали следующие реактивы: гинсенозиды Rg1, Rb1, Rf, Rd, Rc, Rh2 и Rg3 (более 98 %, Phytolab, Германия), ацетонитрил и этанол (для градиентной хроматографии Panreac, Испания), метанол (Burdick & Jackson, Германия), уксусную и муравьиную кислоты (х.ч., Химмед, Россия). Деионизированную воду готовили из дистиллированной на установке Milli-Q (Millipore, США).

Оборудование. Анализ проводили на ВЭЖХ-МС/МС системе, состоящей из тандемного масс-спектрометра QTrap 3200 (AB Sciex, Канада), оснащенного источником электрораспылительной ионизации, и системы ВЭЖХ ULTIMATE 3000 (Dionex, США). В качестве неподвижной фазы при определении гинсенозидов использовали колонку с обращено-фазовым сорбентом Acclaim RSLC 120 C18, длиной 150 мм, внутренним диаметром 2.1 мм, размером зерна сорбента 3 мкм, фирмы «Dionex» (США). Экспериментальные данные регистрировали и обрабатывали с помощью персонального компьютера и программных пакетов «Analyst» (AB Sciex, Канада).

ОБНАРУЖЕНИЕ ГИНСЕНОЗИДОВ В РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТАХ

Приготовление стандартных растворов и построение градуировочных зависимостей. Навески гинсенозидов массой 2 мг растворяли в 1 мл метанола. Полученные растворы использовали для приготовления серий градуировочных рас-

творов и растворов с концентрацией гинсенозидов Rg1, Rb1 и Rc 400, 600 и 700 мг·л⁻¹ соответственно.

Пробоподготовка. В эксперименте с добавкой гинсенозидов отбирали две навески по 0.1 г сухого корня женьшеня и 0.1 г модельного образца растительного сырья в полипропиленовую пробирку емкостью 15 мл. К одному образцу корня и модельному образцу добавили 100 мкл стандартных образцов гинсенозидов Rg1, Rb1 и Rc с концентрацией 400, 600 и 700 мг·л⁻¹ соответственно. В качестве экстрагента добавляли 10 мл смеси метанол:вода (1 : 4). Затем в течение 30 мин проводили ультразвуковую экстракцию при 30 °С. После экстракции отбирали по 1400 мкл и центрифугировали (4 минуты при 16000 оборотах в минуту). Затем пробы пропускали через пористый фильтр (0.45 мкм) и переносили в новые пробирки. Наконец, отбирали по 1 мл образцов в виалы и анализировали методом ВЭЖХ-МС/МС вместе с модельной смесью гинсенозидов Rg1, Rb1 и Rc в воде с концентрацией 4, 6 и 7 мг/л, соответственно. В остальных экспериментах проводили аналогичную процедуру, изменяя объем и состав экстрагента.

Условия хроматомасс-спектрометрического определения. Определение проводили с использованием источника ионов с электрораспылительной ионизацией в режиме положительно заряженных ионов. Сканирование проводили в гибридной линейной ионной ловушке в интервале от 100 до 1300 а.е.м. Температура источника ионизации составляла 300 °С, напряжение на капилляре 5.5 кВ; давление газа-завесы 100 кПа; давление газа-распылителя 280 кПа. Разделение пробы проводили в градиентном режиме подачи элюента, скорость потока составляла 0.4 мл·мин⁻¹. Программа ступенчатого градиента: 20 % об. ацетонитрила (1-3 мин), линейное увеличение концентрации ацетонитрила до 40 % об. (3-25 мин), затем увеличение – до 75 % об. (25-35 мин), далее изменение содержания ацетонитрила в подвижной фазе до 100 % об. (35-36 мин), 100 % об. ацетонитрила (36-40 мин), 20 % об. ацетонитрила (40-45 мин). Вторым компонентом подвижной фазы была деионизованная вода с добавкой 0.5 % об. муравьиной кислоты. Температура термостата колонки 25 °С. Объем вводимой пробы составлял 0.020 мл. Метрологические характеристики и подробное описание использованного подхода приведены в работе [11].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Целью данной работы была разработка быстрого способа извлечения гинсенозидов из растительного сырья и продуктов на основе женьшеня. Предполагалось использовать ультразвуковую экстракцию при различных условиях без последующего упаривания и перерастворения экстракта. Для этого было изучено влияние на эффективность экстракции таких факторов, как: состав экстрагиру-

ющей смеси, объем смеси и число последовательных актов экстракции.

Проверка применимости экстракции гинсенозидов способом «введено – найдено». При анализе объектов со сложной матрицей, например растительного сырья, эффективность жидкостной экстракции невозможно достоверно определить способом «введено – найдено», поскольку обычно матрица является уникальной и уже содержит в себе неизвестное количество определяемых компонентов, кроме того, эти вещества содержатся в образце в связанной форме и эффективность их извлечения существенно отличается от извлечения специально введенной добавки определяемого вещества или внутреннего стандарта. Поэтому применение способа «введено – найдено» является недостаточным для оценки степеней извлечения гинсенозидов из женьшеневого растительного сырья и продуктов на его основе.

Для оценки применимости жидкостной экстракции гинсенозидов был проведен эксперимент с добавкой известных количеств гинсенозидов Rg1, Rb1 и Rc к сухому корню женьшеня и модельному образцу растительного сырья неизвестного состава, не содержащего женьшеня.

Три навески образца корня, образца корня с добавкой и модельного образца растительного сырья с добавкой были проэкстрагированы смесью метанол : вода (1 : 4) соответственно описанию, приведенному выше в экспериментальной части. После этого экстракты были проанализированы методом ВЭЖХ-МС/МС вместе с модельной смесью гинсенозидов Rg1, Rb1 и Rc в воде с концентрацией 4, 6 и 7 мг·л⁻¹ соответственно. Для экстрактов из модельного образца растительного сырья и образца высушенного корня женьшеня с добавкой степени извлечения рассчитывались по формулам (1) и (2) соответственно:

$$R, \% = (S_m / S_0) \cdot 100 \quad \text{и} \quad (1)$$

$$R, \% = [(S_{xa} - S_x) / S_0] \cdot 100, \quad (2)$$

где S_m – площадь пика на хроматограмме модельного образца с добавкой, S_0 – площадь пика на хроматограмме водной смеси гинсенозидов известной концентрации, $(S_{xa} - S_x)$ – разность площадей пиков на хроматограммах образца высушенного корня женьшеня с добавкой и без добавки.

Из табл. 1 видно, что для двух исследованных образцов с разной матрицей наблюдается почти полное извлечение гинсенозидов, это связано с тем, что добавленные в виде раствора гинсенозиды находятся в несвязанной форме на поверхности растительного материала, поэтому они практически полностью смываются органическим растворителем во время экстракции. Таким образом, реальные степени извлечения гинсенозидов из растительного сырья существенно ниже. Кроме того, степени извлечения могут быть различны при экстракции из образцов корня, прошедшего разную

Таблица 1

Степени извлечения R и площади пиков S гинсенозидов в образцах растительного материала и образцах с добавкой ($n = 3, P = 0.95$)

Образец	Гинсенозид					
	Rg1		Rb1		Rc	
	$S, \text{ед} (x10^7)$	$R, \%$	$S, \text{ед} (x10^7)$	$R, \%$	$S, \text{ед} (x10^7)$	$R, \%$
Корень сухой с добавкой	18.1 ± 0.4	99	50 ± 1	94	14.5 ± 0.3	99
Корень сухой	7.9 ± 0.2	–	45 ± 1	–	9.1 ± 0.2	–
Модельный образец с добавкой	10.9 ± 0.2	107	4.4 ± 0.1	79.3	4.8 ± 0.1	87
Стандартный водный раствор	10.2 ± 0.2	–	5.5 ± 0.1	–	5.5 ± 0.1	–

обработку, и продуктов на основе женьшеня. Тем не менее, данный эксперимент подтвердил (рис. 1), что ультразвуковая экстракция в выбранных условиях не приводит к превращению гинсенозидов Rb1 и Rc в гинсенозиды с меньшим числом заместителей, например в гинсенозиды Rg3 и Rh2 [6] (времена удерживания гинсенозидов Rg3 и Rh2 в тех же хроматографических условиях разделения были 30.3 и 34.2 мин соответственно).

Изучение эффективности извлечения гинсенозидов. Для ориентировочной оценки необходимого для экстракции объема экстрагента использовали смесь метанол : вода (1 : 4). Экстракты анализировали напрямую без упаривания и перерастворения в подвижной фазе. Объем вводимой пробы – 20 мкл. Для сравнения эффективности извлечения учитывали различный объем добавленного экстрагента, концентрация гинсенозида Rd приводится в пересчете на грамм свежего измельченного образца корня азиатского женьшеня. После экстракции 10 мл экстрагента проводили последовательную экстракцию 20 мл и 30 мл, двумя и тремя порциями по 10 мл, соответственно, для повышения эффективности. Согласно рис. 2, для удовлетворительной экстракции достаточно 5-10 мл экстрагента, при этом последовательная

экстракция несколькими порциями такого объема не приводит к значительному увеличению степени извлечения.

Для того чтобы оценить выигрыш в извлечении гинсенозидов при последовательной экстракции несколькими порциями растворителя, проводили экстракцию из корейского женьшеневого чая (образец 2) и из свежего измельченного корня женьшеня (образец 1). В табл. 2 площади пиков на хроматограммах экстрактов первой порцией 10 мл 20 % метанола в воде приняты за 100 %. Площади пиков, а следовательно, и количество гинсенозидов извлекаемых суммарно во время 2 и 3 экстракций оказалось на уровне 5-10 % от общего извлеченного количества аналитов.

Более значимым фактором, влияющим на извлечение гинсенозидов из сложной матрицы, является состав экстрагента. В эксперименте по изучению зависимости степеней извлечения гинсенозидов от состава экстрагента, концентрацию гинсенозидов после трех последовательных экстракций 10 мл 20 % метанола и этанола в воде приняли равной 100 %. Однако степени извлечения при использовании однократной экстракции 10 мл смесей, содержащих 50 % и 70 % органических растворителей оказались в 1.5-2 раза выше (рис. 3 и 4).

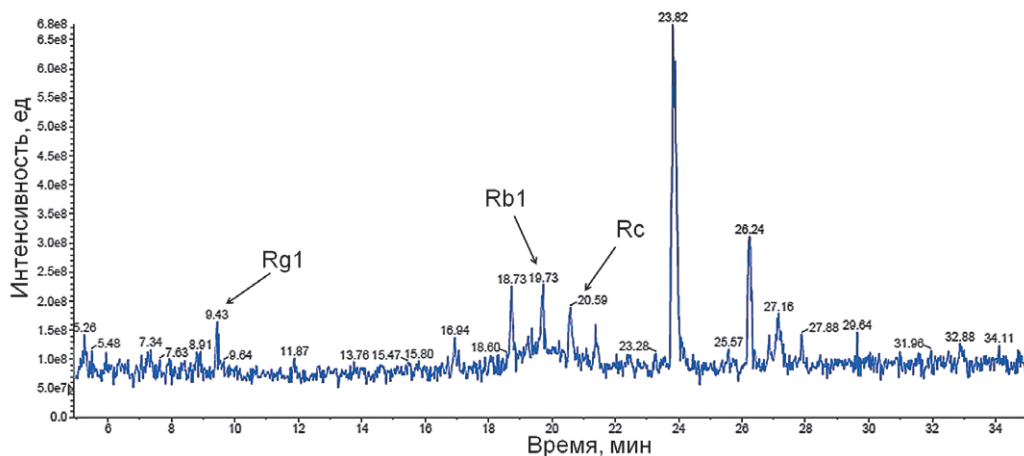


Рис. 1. Хроматограмма по полному ионному току экстракта из модельного образца растительного сырья с добавкой гинсенозидов Rg1, Rb1 и Rc с концентрацией 4, 6 и 7 мг·л⁻¹ (экстракта)

Таблица 2

Площади пиков S гинсенозидов Rf и Rd на хроматограммах экстрактов из образца измельченного корня женьшеня (образец 1) и корейского женьшеневого чая (образец 2) ($n = 3$, $P = 0.95$)

Образец (№ экстракта)	Гинсенозид Rd		Гинсенозид Rf	
	S, ед. ($\times 10^6$)	%	S, ед. ($\times 10^6$)	%
Образец 1 (1)	198 \pm 4	100	257 \pm 5	100
Образец 1 (2)	11.4 \pm 0.2	5.8	9.4 \pm 0.2	3.7
Образец 1 (3)	3.0 \pm 0.1	1.5	2.6 \pm 0.1	1
Образец 2 (1)	261 \pm 4	100	76 \pm 2	100
Образец 2 (2)	19.4 \pm 0.3	7.4	4.3 \pm 0.1	5.6
Образец 2 (3)	8.14 \pm 0.03	3.1	1.28 \pm 0.02	1.7

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Способом «введено-найдено» была подтверждена применимость разработанного способа экстракции гинсенозидов из свежего измельченного корня женьшеня, рассчитанные степени извлечения гинсенозидов Rg1, Rb1, Rc лежат в диапазоне от 80 до 110 %. При использовании ультразвуковой экстракции при 30 °C гинсенозиды Rb1 и Rc не превращались в гинсенозиды Rg3 и Rh2. Использование смесей вода : метанол и вода : этанол с концентрацией органического растворителя 40-80 % в качестве экстрагента хорошо подходит для количественных и полуквантитативных исследований образцов растительного сырья и продуктов на основе женьшеня. Для ускорения процедуры пробоподготовки и скрининговых анализов коммерческих продуктов достаточно проводить одну экстракцию 10 мл растворителя, поскольку в таком случае потери аналитов не превышают 10-15 % в сравнении с многократной экстракцией тем же растворителем. Вопросы изучения влияния матрицы образца на эффективность экстракции и достоверной оценки степеней извлечения будут подняты в дальнейших исследованиях.

ЛИТЕРАТУРА

- Recent Methodology in the Phytochemical Analysis of Ginseng / N. Angelova [et al.] // *Phytochem. Anal.* 2008. V. 19. P. 2-16.
- Liu S., Zhong J.J. Phosphate effect on production of ginseng saponin and polysaccharide by cell suspension cultures of *Panax ginseng* and *Panax quinquefolium* // *Process Biochem.* 1998. V. 33. P. 69-74.
- Anderson M.L., Burney D.P. Validation of Sample Preparation Procedures for Botanical Analysis // *J. AOAC Int.* 1998. V. 81, № 5. P. 1005-1010.
- Differentiation and identification of ginsenoside isomers by electrospray ionization tandem mass spectrometry / F. Song [et al.] // *Anal. Chim. Acta.* 2005. V. 531. P. 69-77.
- Court W.A., Hendel J.G., Elmi J. Reversed-phase high-performance liquid chromatography determination of ginsenosides of *Panax quinquefolium* // *J. Chromatogr. A.* 1996. V. 755, № 1. P. 11-17.
- Popovich D.G., Kitts D.D. Generation of ginsenosides Rg3 and Rh2 from North American ginseng // *Phytochemistry.* 2004. V. 65, № 3. P. 337-344.

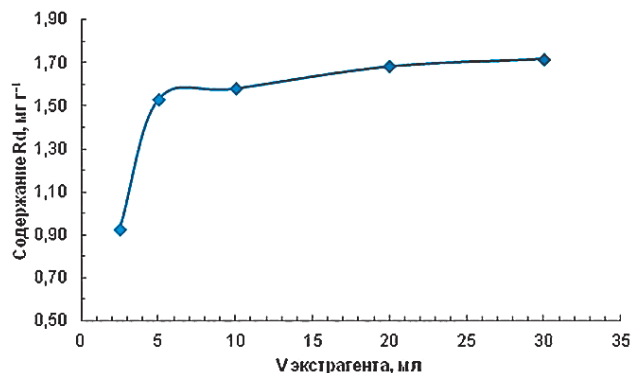


Рис. 2. Зависимость эффективности извлечения гинсенозида Rd от объема экстрагента

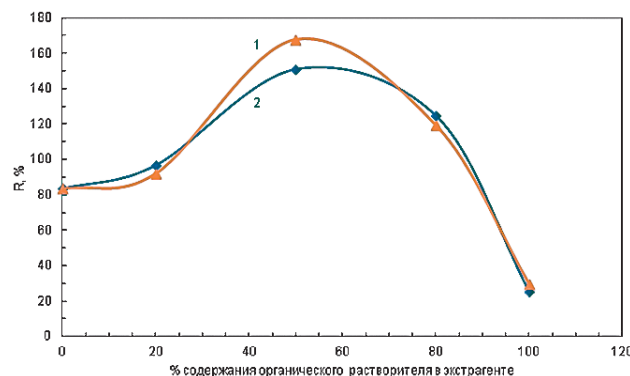


Рис. 3. Зависимость степени извлечения от концентрации органического растворителя в экстрагенте для гинсенозида Rc (1 – EtOH, 2 – MeOH)

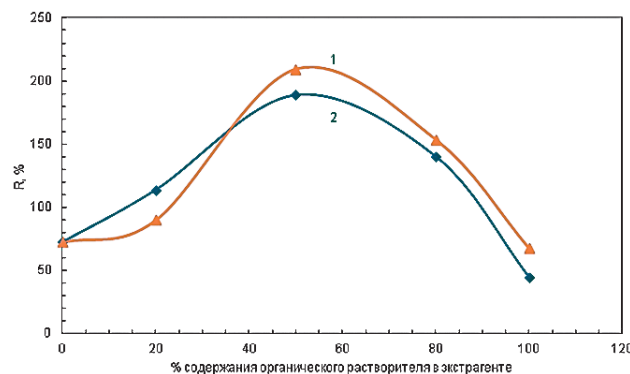


Рис. 4. Зависимость степени извлечения от концентрации органического растворителя в экстрагенте для гинсенозида Rb1 (1 – EtOH, 2 – MeOH)

7. Li W., Fitzloff J.F. HPLC Determination of Ginsenoside Content in Dietary Supplements using Ultraviolet Detection // *J. Liq. Chromatogr. Rel. Technol.* 2002. V. 25, № 16. P. 2485-2500.
8. Determination of Ginsenosides in *Panax ginseng* Roots by Liquid Chromatography with Evaporative Light-Scattering Detection / N. Fuzzati [et al.] // *J. AOAC Int.* 2000. V. 83, № 4. P. 820-829.
9. Wang H.C., Chen C.R., Chang C.M.J. Carbon dioxide extraction of ginseng root hair oil and ginsenosides // *Food Chem.* 2001. V. 72, № 4. P. 505-509.

10. Одновременное определение гинсенозидов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием / И.А. Родин [и др.] // *Масс-спектрометрия.* 2013. Т. 10, № 2. С. 129-135.
11. The use of linear ion trap for qualitative analysis of phytochemicals in Korean ginseng tea / A. Stavrianidi [et al.] // *Biomed. Chrom.* 2013. V. 27, № 6. P. 765-774.

RAPID METHOD OF ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION OF GINSENOIDES FROM PLANT MATERIALS AND GINSENG PRODUCTS APPLICABLE FOR HPLC-MS/MS ANALYSIS

A.N. Stavrianidi, I.A. Rodin, A.V. Braun, O.A. Shpigun

Lomonosov Moscow State University
Leninskie Gory, GSP-1, Moscow, 119991, Russian Federation
Stavrianidi.andrey@gmail.com

PURPOSE OF THE ARTICLE. In the past decades a number of extraction methods for biologically active compounds of ginseng coupled with different detection techniques were created. For HPLC-MS profiling of these compounds in plant material and related products a fast non-destructive way to extract ginsenosides from plant materials and ginseng products based on ultrasound-assisted extraction was developed.

FINDINGS. Calculated by means of "Added-Found" approach recoveries of ginsenosides Rg1, Rb1, Rc from ginseng root and model sample known to be free of analytes ranged from 80 to 110 %. The effect on the recovery of the following factors: the composition of the extracting mixture, the volume of the mixture and the number of successive extractions was studied. The extraction in case of using 50-70 % methanol/ethanol water mixtures was 1.5-2 times more effective than with 10-20 % mixtures.

CONCLUSIONS. After optimization developed method of extraction without subsequent evaporation and reconstitution of the extract was used in combination with HPLC-MS determination of ginsenosides in various objects with a complex matrix.

Keywords: ultrasound-assisted extraction, ginsenosides, *Panax ginseng*, HPLC- MS/MS.

REFERENCES

1. Angelova N., Kong H.W., Van der Heijden R., Yang S.Y., Choi Y.H., Kim H.K., Wang M., Hankemeier T., Van der Greef J., Xu G., Verpoorte R. Recent Methodology in the Phytochemical Analysis of Ginseng. *Phytochem. Anal.*, 2008, vol. 19, pp. 2-16.
2. Liu S., Zhong J.J. Phosphate effect on production of ginseng saponin and polysaccharide by cell suspension cultures of *Panax ginseng* and *Panax quinquefolium*. *Process Biochem.*, 1998, vol. 33, pp. 69-74.
3. Anderson M.L., Burney D.P. Validation of Sample Preparation Procedures for Botanical Analysis. *J. AOAC Int.*, 1998, vol. 81, no. 5, pp. 1005-1010.
4. Song F., Liu Z., Liu Sh., Cai Z. Differentiation and identification of ginsenoside isomers by electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta.*, 2005, vol. 531, pp. 69-77.
5. Court W.A., Hendel J.G., Elmi J. Reversed-phase high-performance liquid chromatography determination of ginsenosides of *Panax quinquefolium*. *J. Chromatogr. A.*, 1996, vol. 755, no. 1, pp. 11-17.
6. Popovich D.G., Kitts D.D. Generation of ginsenosides Rg3 and Rh2 from North American ginseng. *Phytochemistry*, 2004, vol. 65, no. 3, pp. 337-344.
7. Li W., Fitzloff J.F. HPLC Determination of Ginsenoside Content in Dietary Supplements using Ultraviolet Detection. *J. Liq. Chromatogr. Rel. Technol.*, 2002, vol. 25, no. 16, pp. 2485-2500.
8. Fuzzati N., Gabetta B., Jayakar K., Pace R., Ramaschi G., Villa F. Determination of Ginsenosides in *Panax ginseng* Roots by Liquid Chromatography with Evaporative Light-Scattering Detection. *J. AOAC Int.*, 2000, vol. 83, no. 4, pp. 820-829.
9. Wang H.C., Chen C.R., Chang C.M.J. Carbon dioxide extraction of ginseng root hair oil and ginsenosides. *Food Chem.*, 2001, vol. 72, no. 4, pp. 505-509.
10. Rodin I.A., Stavrianidi A.N., Braun A.V., Shpigun O.A., Berizovskaia E.I. [Simultaneous determination of ginsenosides by high performance liquid chromatography with tandem mass-spectrometric detection]. *Mass spectrometriia* [Mass spectrometry], 2013, vol. 10, no. 2, pp. 129-135 (in Russian).
11. Stavrianidi A., Rodin I., Braun A., Shpigun O. The use of linear ion trap for qualitative analysis of phytochemicals in Korean ginseng tea. *Biomed. Chrom.*, 2013, V. 27, no. 6, pp. 765-774.