

臺灣二〇〇六年國際科學展覽會

科 別：化學科

作 品 名 稱：人參中人參皂素之分析與食用方式及品種比較

學校 / 作者：臺北市立建國高級中學 郭禮閔
臺北市立建國高級中學 王俊焜

作者簡介

1. 郭禮閱



我是郭禮閱，今年 17 歲，家中長子。我的個性溫和，對學習始終抱持著一股熱忱，我的興趣十分廣泛，從打球、書法到化學，尤其是對化學這方面的喜愛，更是自國二接觸到化學後一直保有著。而父母對我將來想走的路----化學研究，也十分贊同，常鼓勵我要多聞、多問以充實自我，在化學這個領域內，我也盡己所能地去大量閱讀，吸收知識。

2. 王俊焜



我的名字是王俊焜，興趣是看棒球、看電視和讀書。進了高中以後，接觸到很多東西，平常也會自己找書來讀，像是普物、普化…。比較喜歡的科目是物理和化學，我覺得化學蠻有趣的，蠻豐富的，很廣泛，真是千變萬化之學，而我在這次作科展的過程中，學到了很多的東西：像是一些儀器的操作、實驗過程的試誤，和修改、轉變方法等，這些是很難得的經驗，也感謝老師的指導。

摘要

高效液相層析儀 (HPLC) 為測定中藥指標成分常用的分析工具，而近年來高效液相層析質譜儀 (LC-MS) 的應用，亦在天然藥物分析上逐漸扮演重要角色。本研究利用 HPLC 分析人參中的 12 種人參皂素，並以 LC-MS 確認各化合物。

本研究分為三個部份，第一部份為開發適當的 HPLC 分析方法分析人參中的主要成份，並使用 LC-MS 確認這些化合物。人參中的 12 種人參皂素 (ginsenosides Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Re, Rf, Rg₁, Rg₂, Ro and malonylginsenosides mRb₁, mRb₂ and mRc) 可於 60 分鐘內成功分離，在 HPLC 分析方法中使用 Cosmosil 5C18 管柱，以 200nm 偵測，並以 20mM KH₂PO₄-CH₃CN 進行梯度沖提，在 LC-MS 分析中則以 20mM CH₃COONH₄-CH₃CN 進行梯度沖提。

第二部份為利用上述分析方法，比較同批人參藥材進行不同處理方式後，所得人參皂素含量的多寡，包含泡茶、煮茶、泡酒等。結果顯示若為切段 (飲片) 泡茶，至少應浸泡 30 分鐘，切段 (飲片) 水煮則以 15-20 分鐘較佳，粉末 (茶包) 泡茶的變化不明顯，而切段酒浸可以得到最多量的人參皂素，且浸泡越久含量越高。

第三部份為使用多變量統計軟體 SPSS 進行區別分析 (DA)，統計結果可作為人參藥材基原辨識之依據。

Abstract

High-performance liquid chromatography (HPLC) is a common analytical tool that has been used to analyze the index components of Chinese herb medicine. In recent years, high-performance liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) gradually plays an important role. In this study, we used HPLC to detect 12 ginsenosides in Ginseng Radix, and used LC-MS to identify the 12 compounds.

This study includes three parts. The first part concerns the development of HPLC method for determining the chemical constituents in Ginseng Radix, and using LC-MS to identify them. In Ginseng Radix, components such as ginsenosides Rb₁, Rb₂, Rc, Rd, Re, Rf, Rg₁, Rg₂, Ro and malonylginsenosides mRb₁, mRb₂ and mRc could be separated successfully in 60 mins. They were detected at 200nm by using a Cosmosil 5C18 column with a linear gradient elution of 20mM KH₂PO₄-CH₃CN in the HPLC method, and with a linear gradient elution of 20mM CH₃COONH₄-CH₃CN in the LC-MS method.

In the second part, we used this method mentioned above to evaluate the different results from various processes, which include brewing snippets in hot water, brewing powders in hot water, cooking snippets with boiling water, and brewing snippets in rice wine. Our results are listed as follows, First, the tea using Ginseng Radix snippets brewing for about 30 mins in hot water has the best result. Second, using Ginseng Radix snippets cooking for about 15-20 mins with boiling water has the best result. Third, using Ginseng Radix powders brewing in hot water has no apparent difference. Finally, using Ginseng Radix snippets brewing in the rice wine can get most ginsenosides.

The third part is using the statistic software SPSS to proceed the Discriminate Analysis (DA). The results of the statistic analysis can help us to identify the origin of the herb medicines.

人參中人參皂素之分析與食用方式及品種比較

壹、緒論

一、前言

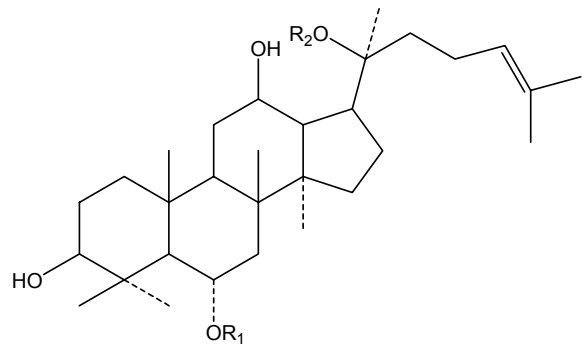
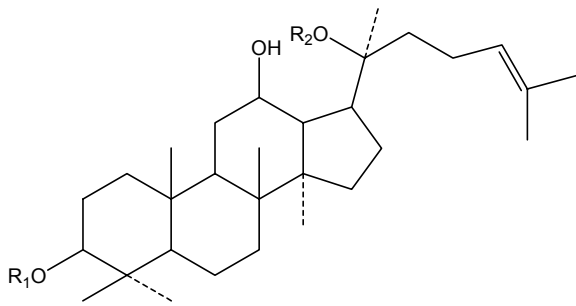
現代人越來重視養生，除了飲用各種中藥飲品，市面上也出現了許多藥材加工製成的茶包、濃縮液、膠囊或罐裝飲料等。而人參是一種最常見的日常補品，常常被用來泡茶、煮湯、泡酒，市售產品也有人參茶包、人參酒、人參精華液、人參膠囊、人參糖等等。人參的食用方式很多，中藥店所販售的人參也有許多種類，本研究的目的即在開發人參中有效成分之分析方法，並用以探討各種人參及人參產品成分有何不同，如何才能攝取到較多的有效成分，以及使用科學方法分辨人參的品種。

人參為常用的藥材之一，始載於神農本草經，列為上品，因根如人形而得名。自古在我國用以補肺陰以益五臟之津液、安精神、定魂魄止驚悸、開心智、明目、除邪氣。近代藥理研究顯示其有強壯、興奮神經系統、強心、增強性機能、降低血糖、抗利尿、促進消化吸收及新陳代謝、抗過敏等作用。

人參來源為五加科植物 *Panax ginseng* C.A. Meyer 的乾燥根，人參的根直接乾燥者為白參，經蒸煮在乾燥者為紅參，並有野生及栽培兩大類。市售人參有許多種，除紅參、白參之外，尚有參鬚、三七參、花旗參及高麗參等。參鬚為人參根部之鬚，而三七人參為五加科植物 *Panax notoginseng* Burkill 的乾燥根，為本草綱目所收載；花旗參即西洋參，又名美國人參、粉光參，始載於本草綱目拾遺，其基原為五加科植物 *Panax quinquefolia* Linn.的乾燥根[1]。

實驗發現人參的主要藥理活性成分為系列的人參皂素 (ginsenoside)，本研究參考莊武璋博士之論文[1]，將其分析方法稍做調整，針對主要的十二種人參皂素，Rb₁(1)、Rb₂(2)、Rc(3)、Rd(4)、Re(5)、Rf(6)、Rg₁(7)、Rg₂(8)、Ro(9)及 malonylginsenoside Rb₁(10)、Rb₂(11)、Rc(12)來進行分析，各成分結構如圖 1。

研究分為三部份：第一部份為找出適合的 HPLC 分析方法，並以 LC-MS 進行成分確認；第二部份比較對同一批人參藥材進行不同處理後，所能得到的人參皂素含量多寡；第三部份則為找出不同種人參的科學辨識方法。



20-*S*-Protopanaxadiol($R_1=R_2=H$)

Rb₁: $R_1= D-Glc(\beta 1-2)D-Glc-$

$R_2= D-Glc(\beta 1-6)D-Glc-$

Rb₂: $R_1= D-Glc(\beta 1-2)D-Glc-$

$R_2= L-Ara(pyr)(\alpha 1-6)D-Glc-$

Rc : $R_1= D-Glc(\beta 1-2)D-Glc-$

$R_2= L-Ara(fur)(\alpha 1-6)D-Glc-$

Rd : $R_1= D-Glc(\beta 1-2)D-Glc-$

$R_2= D-Glc-$

20-*S*-Protopanaxatriol($R_1=R_2=H$)

Re : $R_1= L-Rha(\alpha 1-2)D-Glc-$

$R_2= D-Glc-$

Rf : $R_1= D-Glc(\beta 1-2)D-Glc-$

$R_2= H-$

Rg₁: $R_1= D-Glc -$

$R_2= D-Glc-$

Rg₂: $R_1= L-Rha(\alpha 1-2)D-Glc-$

$R_2= H-$

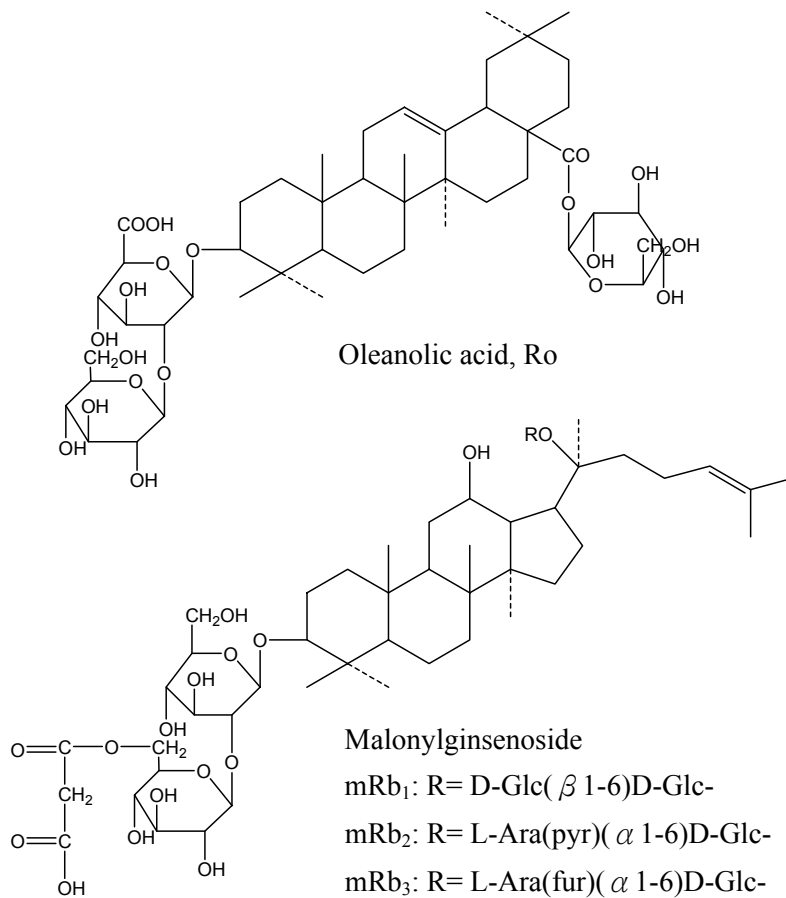


圖 1 人參皂素結構圖

二、高效能液相層析(HPLC)

層析的基本原理，為各化合物與固定相及移動相的作用強弱不同，於管柱中移動的速度也因此而不同，於是能達到分離的效果。分離原理之示意圖如圖 2 所示。

本研究所使用的液相層析，為逆相 (reverse phase) 之液相層析，亦即移動相極性較大，固定相極性較小。由於固定相極性小，極性較小之化合物與固定相間便有較強的作用，與移動相間作用則較弱，反之，極性較大的化合物，與固定相間之作用較弱，與移動相間作用較強，不易滯留，較快離開分離系統，被偵測器偵測。

使用單一組成的移動相溶液進行分離，稱為等極性沖提 (isocratic elution)，而為了增加分離效果，往往是漸漸降低移動相的極性，即使用兩種或兩種以上的溶液，以不同比例混合，漸漸增加低極性有機相的比例，稱為梯度沖提 (gradient elution)。

高效能液相層析儀的基本組成如圖 3 所示。利用抽液泵 (pump) 穩定的將移動相抽入，而樣品經由注射器 (injector) 進入系統，被移動相帶入分離管柱 (column) 中，遂於管柱中進行分配，達到分離效果。

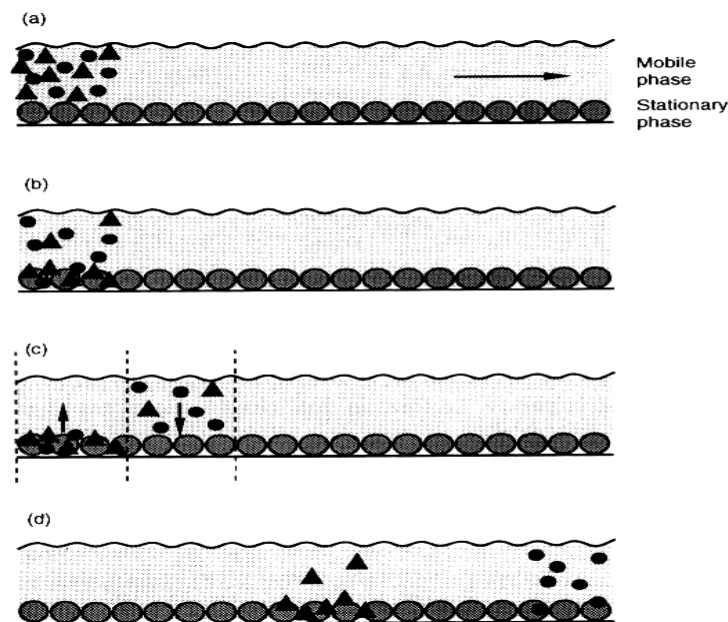


圖 2 層析原理示意圖

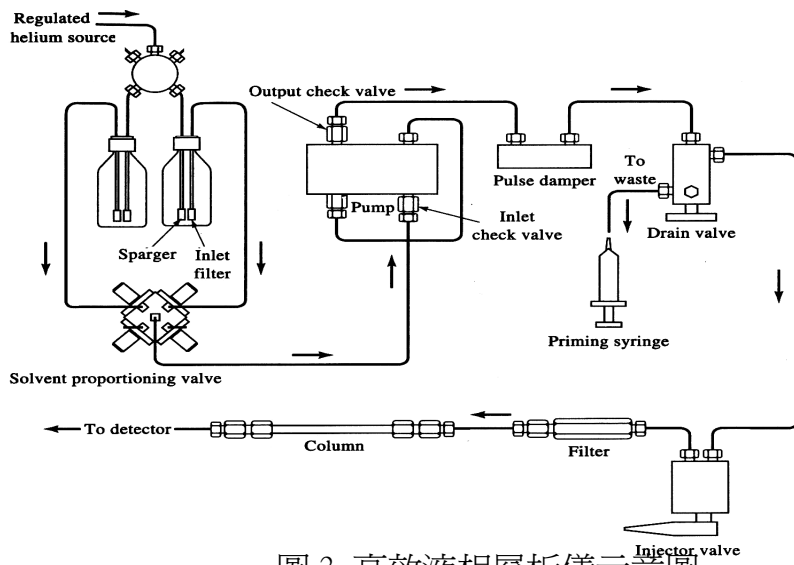


圖 3 高效液相層析儀示意圖

液相層析管柱 (column) 的基礎材料為矽膠 (silica gel)，其具有活性矽醇基 Si-OH (Silanol group)，其結構如圖 3 所示，於顯微鏡下觀察如圖 4。

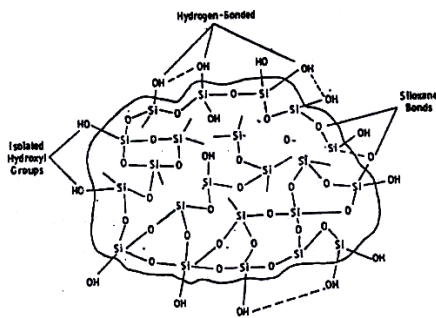


圖 3 矽膠之結構

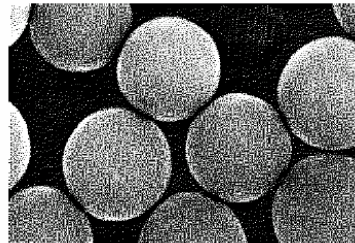
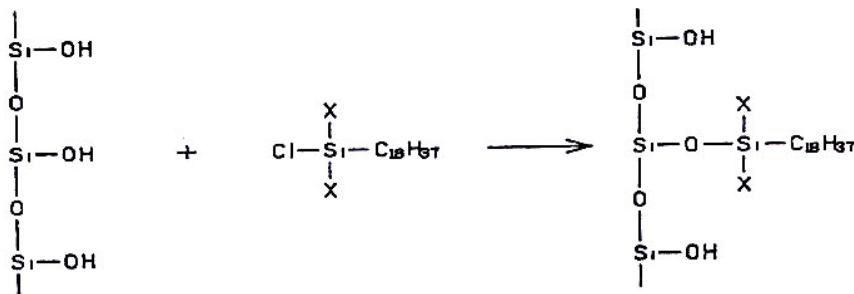


圖 4 矽膠顯微照片

管柱中填充之固定相，可自 1 個碳 (C1) 至 32 個碳 (C32) 的烷基中選擇，將其鍵結於矽膠之分子結構上，鍵結方式如下：



目前常用之烷基為 C1 (methyl), C4 (butyl), C8 (octyl) 及 C18 (octa decyl silane 或簡稱 ODS), 碳鏈越長, 極性越小。本研究所使用的為極性較小的 C18 管柱, 鍵結方式又分為單體 (monomeric type) 及聚合 (polymeric type) 兩種, 如圖 5 所示。

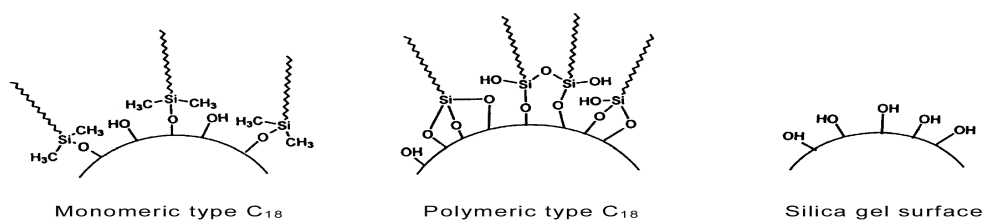


圖 5 不同鍵結形式的固定相

在逆相的液相層析法中, 移動相為高極性, 最常使用的是水, 配合甲醇 (methanol) 及氰甲烷 (acetonitrile) 等有機溶劑作為沖提液, 其中氰甲烷極性最小強度最大, 而水的極性最大, 即強度最小。梯度沖提便是使用逐漸增加有機相的方式, 將極性由大至小之化合物依序沖提出。

以矽膠鍵結 C18 或 C8 等烷基為材料之管柱, 適用之 pH 範圍為 2.0-7.5。逆相層析術之移動相, 常加入鹽類做為緩衝溶液以維持適當之 pH 值。若分析物本身為除了碳氫之外亦含有 -COOH 或 -NH₂ 之複合型離子化合物, 碳氫分子部份會與 C18 進行分配作用, 而 -COOH 或 -NH₂ 部份, 憑藉緩衝溶液之適當 pH 值, 及緩衝溶液的鹽類濃度, 可控制該 -COOH 或 -NH₂, 使之成為疏水性而利於 C18 進行分配作用。例如弱酸性分析物 (RCOOH), 當移動相之緩衝溶液 pH 在 2-5 之間時, 達到抑制解離, 使分析物趨向非極性; 反之, 弱鹼性分析物 (RNH₂) 在 pH 為 6-7.5 之間時, 趨向非極性, 利於與 C18 進行分配作用, 彰顯滯留效應[2]。

三、液相層析/電灑/質譜儀(LC-ESI-MS)

近年來, 氣相層析結合質譜儀極為普遍, 但其僅適用於具揮發性或熱穩定性的化合物, 因此促進了液相層析儀結合質譜儀的發展。然而由於液相層析儀的移動相為液相, 進入質譜儀需形成氣相, 因此在層析儀與質譜儀間, 需有一介面來克服此問題。目前已發展出許多介面, 包含 Moving Belt (MB)、Direct Liquid Inlet (DLI)、Particle Beam (PB)、Thermal Spray (TSP)、Fast Atom Bombardment (FAB)、Plasma Desorption (PD)、Field Desorption (FD)、Atmospheric Pressure Chemical Ionization (APCI)、Chemical Ionization (CI)、Electron Impact Ionization (EI)、Electrospray Ionization (ESI) 等。由於 ESI 可以在較低的溫度下進行, 對熱不穩定性的化合物, 可避免熱分解的問題, 所以廣泛運用於天然物的分析上。

電灑游離法是在大氣壓下, 藉由外加電場, 將樣品溶液噴灑蒸發形成帶電液滴, 而將液相中帶一個或多個電荷的離子, 轉移到氣相的一種游離法。圖 6 為電灑介面之電荷液滴噴灑後, 溶劑揮發、液滴收縮及分子離子行程的過程。離子形成有兩個重要步驟, 即液態樣品噴灑形成帶電液滴, 與帶電液滴形成離子的過程。

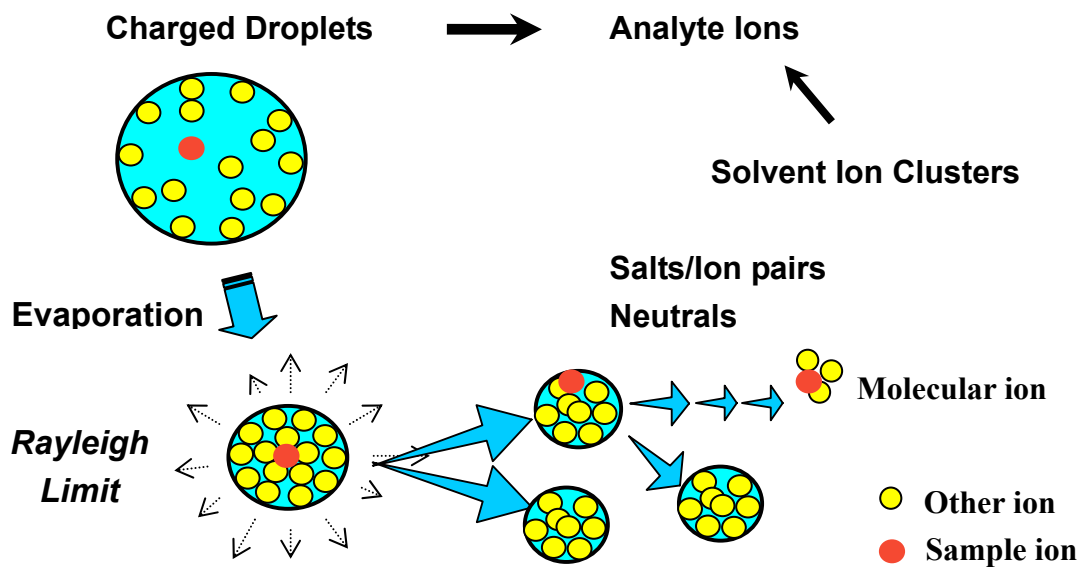


圖 6 電灑游離之過程

1. 液態樣品噴灑形成帶電液滴的過程

在接近大氣壓下，將毛細管前端外加一+2 到-4kV 的高電壓，溶液流經此毛細管，液體表面產生電荷分離的現象，溶液中的正離子往液體表面遷移，而負離子往反方向遷移。當液體表面累積過多正電荷時，會導致表面不安定，表面會被拉出，形成液態角錐-泰勒錐（Taylor cone）。

當電壓足夠高時，液態角錐會不安定，而在角錐頂端形成一直徑數微米、帶高正電荷的液體薄層。當液體薄層達到某一距離時會變得不穩定，而帶高電荷的液滴從此噴灑出來。

2. 電荷液滴形成離子的過程

噴灑出的帶電液滴，會因為溶劑的蒸發，導致電荷體積比增加，而超過雷利安極限（Rayleigh limit）時，小液滴一再重複分裂，形成氣相離子[3,4]。

電灑游離離子化法的過程在較低溫下進行，屬於軟性的離子化法，其質譜斷裂後離子峰較少，在圖譜中常是看到分子離子訊號，因此易於判讀分析物分子量。同時因其能產生多電荷離子，使得高分子量離子的質荷比下降，落於一般質譜儀可偵測的範圍，所以可分析生化大分子。其他優點還包含：適合分析離子性、高極性及熱不穩定性分子，且靈敏度高、背景值低等。

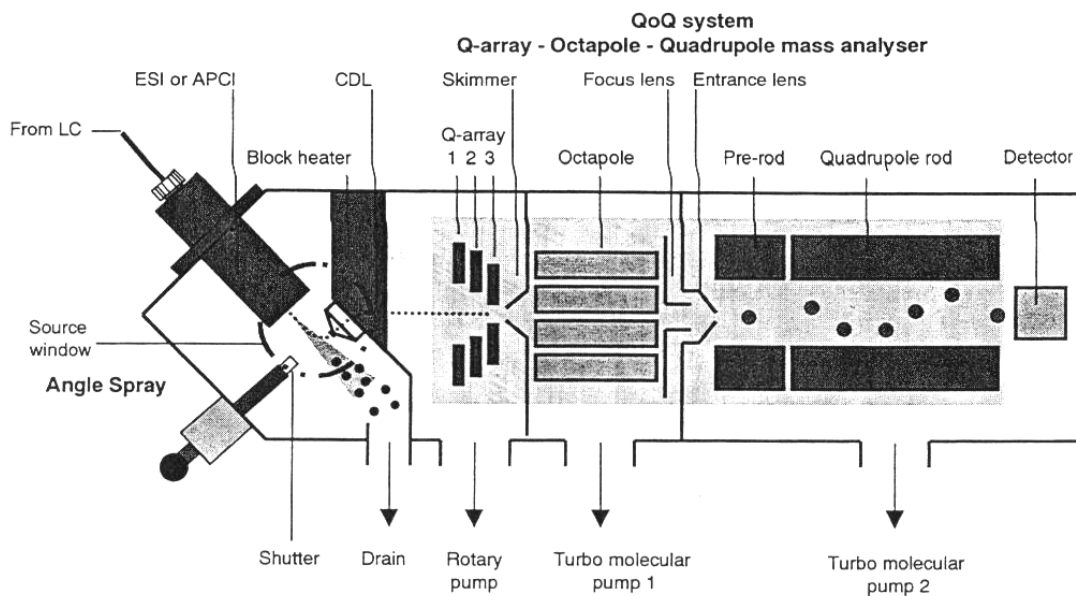


圖 7 LC-MS 儀器示意圖

四、多變量統計分析

1. 區別分析 (Discriminant Analysis, DA) [5]

區別分析主要目的是瞭解群體的差異，先利用區別變數建立區別規則（區別函數），再由區別規則對個體作分類，預測每個個體屬於各群組的可能機率。

區別分析主要分為「區別」和「歸類」。所謂「區別」，就是偵測樣本數據，建立模式以區隔來自不同群組的觀測個體；每個觀測個體的觀測項目(variables)可能不只一個，越多的觀測項目可獲得越多有用的區別訊息，但觀測個體原屬組群必須已知。「歸類」，簡單地說，就是預測新個體歸屬的組群。

區別分析由 S. R. Fisher 首先提出，其基本概念是根據自變數(或稱預測變數)的線性組合，作為將觀察值分組的基礎。這個線性組合，即為區別函數。經由區別函數，可以了解個別預測變數對區別分組的貢獻，也可以了解每個組別的特色。

區別分析有如下的用途：

1. 歸類：根據觀察值的特性，將其歸類到某一組別中。
 2. 處理區別(分類)的問題：區別分析可讓使用者將多個預測變數加以線性組合，以進行已知組別的區別(分類)，並了解其區別能力。
- 預測：根據區別函數所得到的區別分數，可預測觀察值可能屬於的組別。

2. 逐步區別分析[6]

對群體作區別分析時就研究者常會尋找許多有區別能力的變數，但是這些變數的選取有時是以主觀認定他們有區別能力，有時會選取解釋能力重疊的變數，因此必須經過篩選，將沒有區別能力或與其他變數有共線性(解釋重疊)的變數刪除。最常用來篩選區別變數的方式就是逐步區別分析，逐步區別分析事實上與逐步迴歸分析相同，也分為向前選取(Forward stepwise)與向後選取(Backward stepwise)兩種，本研究採行向前選取法。利用逐步區別分析找出有區別能力的變數後，再用這些有區別能力的變數作線性(或典型)區別。

變數選取的方法，較常用的為 *Wilk's lambda* 法，此為大部份統計軟體所內定的方法，*Wilk's lambda* 為組內離均差平方和 (SS_{within}) 和與總離均差平方和 (SS_t) 的比，計算如下：

$$\Lambda = \frac{SS_{within}}{SS_t}$$

Λ 值小的變數，代表其組間差異性大且組內相似性高，即變異量大多來自組間而非組內，因此 Λ 值可作為變數區別能力的指標， Λ 值小的變數具有較高的區別能力。這種逐步區分方法每一次選進的變數，是其整體的 Λ 值最小的，接著逐次選取具有最小 Λ 值的變數，直到達到一定的顯著水準才停止選取，完成區別分析，因此只有區別能力較強的變數，會參與區別分析，效果通常較使用所有變數時佳。

貳、研究方法

一、人參皂素分析方法建立及成分確認

1. 參考莊武璋博士之論文，以其分析方法進行調整。
2. 分析方法評估。
3. 以 LC-MS 確認各成分。

二、比較同批紅參參鬚經不同處理後之分析結果

根據文獻資料，紅參參鬚之人參皂素含量較高，且價格較低廉，因此以紅參參鬚進行研究。

1. 標準萃取液（訂為 100%）

- (1) 以粉碎機將紅參參鬚粉碎。
- (2) 精稱紅參參鬚粉末 1g，置於 15mL 試管中。
- (3) 加入 50% 乙醇 8mL，超音波震盪 15min。
- (4) 離心，將上層澄清液置於 25mL 定量瓶中。
- (5) 收集 3 次萃取液於定量瓶中，加 50% 乙醇至 25mL。
- (6) 以 0.45 μ m 之濾膜過濾。
- (7) 以微量吸量管取萃取液 900 μ L 及內標準品溶液（20 μ L acetophenone 加 50% 乙醇至 500mL）100 μ L，混和做為樣品。
- (8) 注入 20 μ L 進行分析。

2. 切段泡茶（模擬人參飲片）

- (1) 將紅參參鬚切段，每段約 1cm。
- (2) 精稱上述藥材 1g 共 5 份，分別置於 50mL 試管中。
- (3) 加入 25mL 熱水（98 $^{\circ}$ C），保存於保麗龍盒中。
- (4) 每 10min.取出一支試管，以 0.45 μ m 之濾膜過濾。
- (5) 以微量吸量管取萃取液 900 μ L 及內標準品溶液 100 μ L，混和做為樣品。
- (6) 注入 20 μ L 進行分析。

3. 粉末泡茶（模擬人參茶包）

- (9) 以粉碎機將紅參參鬚粉碎。
- (10) 精稱紅參參鬚粉末 1g 共 5 份，分別置於 50mL 試管中。
- (11) 加入 25mL 熱水（98 $^{\circ}$ C），保存於保麗龍盒中。
- (12) 每 10min.取出一支試管，以 0.45 μ m 之濾膜過濾。
- (13) 以微量吸量管取萃取液 900 μ L 及內標準品溶液 100 μ L，混和做為樣品。
- (14) 注入 20 μ L 進行分析。

4. 切段水煮（模擬水煮人參茶）

- (1) 將紅參參鬚切段，每段約 1cm。
- (2) 精稱上述藥材 1g 共 5 份，分別置於 50mL 試管中。
- (3) 加入 25mL 熱水（98 $^{\circ}$ C）。
- (4) 試管置於燒杯中隔水加熱，將水加熱至沸騰。
- (5) 沸騰後每 10min.取出一支試管，以 0.45 μ m 之濾膜過濾。
- (6) 以微量吸量管取萃取液 900 μ L 及內標準品溶液 100 μ L，混和做為樣品。
- (7) 注入 20 μ L 進行分析。

5. 酒浸（人參酒）

- (1) 將紅參參鬚切段，每段約 1cm。
- (2) 精稱上述藥材 1g 共 5 份，分別置於 50mL 試管中。
- (3) 加入 25mL 米酒（公賣局稻香紅標米酒，酒精度 22）。

- (4) 試管以封口膜多層密封，置於陰涼廚櫃中。
- (5) 分別在 1 天、1 週、2 週、3 週、4 週後取出，以 0.45 μm 之濾膜過濾。
- (6) 以微量吸量管取萃取液 900 μL 及內標準品溶液 100 μL ，混和做為樣品。
- (7) 注入 20 μL 進行分析。

三、比較不同品種人參並以統計方式建立辨識依據

1. 取各品種人參數批，以上述標準萃取液製備方式進行萃取。
2. 注入 20 μL 進行分析。
3. 計算各樣品之分析結果中，各人參皂素與內標之面積比。
4. 以統計方式進行分類--區別分析

※ 藥品

1. 磷酸二氫鉀 (Potassium dihydrogen phosphate) 購自 ACROS (New Jersey, USA)，為分析級試藥。
2. 醋酸銨 (Ammonium acetate) 購自 ACROS (New Jersey, USA)，為分析級試藥。
3. 氰甲烷 (Acetonitrile) 購自 Merck (Darmstadt, Germany)，為 LC 級試藥。
4. 去離子水 (deionized water) 取自 Milli-Q system (Millipore, Bedford, MA, USA)

※ 儀器

1. 高效液相層析儀 (HPLC)
泵：Shimadzu (Kyoto, Japan) LC-6ADx2
系統控制器：Shimadzu SCL-6B automated gradient controller
偵測器：Shimadzu SPD-M6A photodiode array detector at 280 nm
注射器：Rheodyne Type 7125 20 μL
2. 高效液相層析質譜儀 (HPLC-MS)
泵：Shimadzu LC-10AD *vp* 一個
注入閥：Rheodyne 7125 (20- μL loop)
流動相控制器：Shimadzu SLC-10A *vp* System Controller
偵測器：Shimadzu SPD-M10A *vp* Photodiode Array (190-700nm)
資料處理系統：Shimadzu LC-MS Solution
低壓梯度混合閥組：Shimadzu FCV-10AL *vp*
線上除氣裝置：Shimadzu DGU-14A Degasser
質譜儀：Shimadzu LC-MS 2010A
分流器：HP Micro-Splitter Valve P-460S
3. 超音波震盪器：Elma Transsonic Sigital
4. 離心機：Hettic Universal，轉盤為 15mL \times 12
5. pipette：Nichiryo 100-1000 μL 、10-100 μL 各一支
6. 加熱板：Corning

※ 統計軟體

SPSS (Statistical Package for the Social Science) 10.0 版

參、研究結果與討論

一、人參皂素分析方法建立及成分確認

1. 分析方法建立 (HPLC)

本研究參考莊武璋博士論文之分析方法，但由於儀器及管柱皆有差異，以其方法進行分析無法得到良好的分離效果。

將分析方法中水相 (A 相)、有機相 (B 相) 之組成，以及梯度沖提程式皆進行調整，經多次調整後得到較佳的分析方法如下：

前置管柱：Guard-Pak μ -Bondapak C18 (Millipore, Milford, MA, USA)

分離管柱：Cosmosil 5C18, 5 μ m, 25cm \times 4.6mm (Nacalai tesque, Kyoto, Japan)

流動相：(A) 20mM KH₂PO₄ /CH₃CN = 80/20 (v/v)

(B) CH₃CN /H₂O = 80/20 (v/v)

偵測波長：200nm

分析時間：60 分鐘

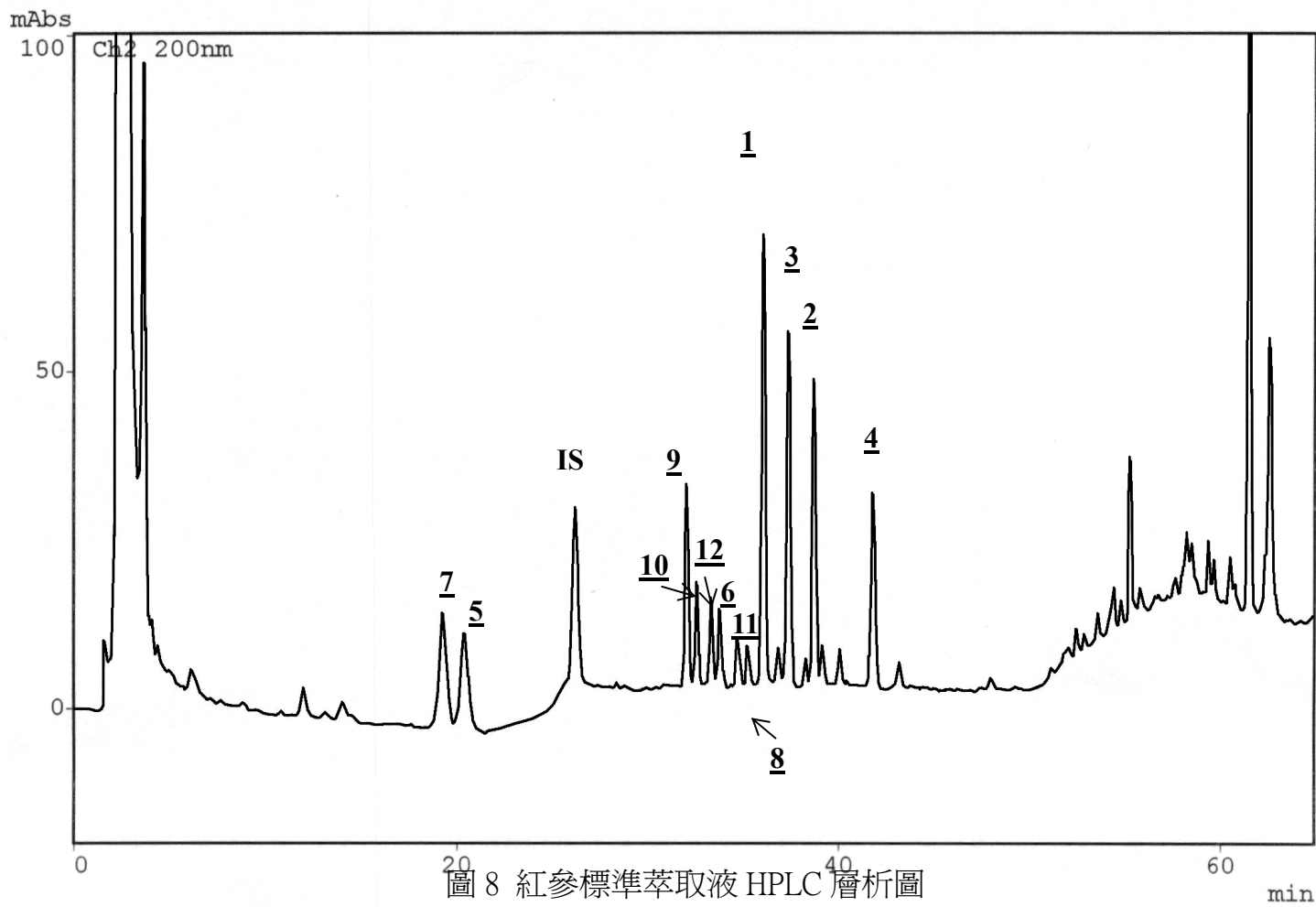
平衡時間：15 分鐘

梯度衝提程式：

表 1 分析方法之梯度沖提程式

Time(min)	Flow rate		A%	B%	Curve
	Time(min)	(mL/min)			
0		1	95	5	linear
15		1	95	5	linear
20		1	85	15	linear
30		1	75	25	linear
35		1	70	30	linear
45		1	65	35	linear
50		1	0	100	linear
60		1	0	100	linear

HPLC 層析圖如圖 8，各吸收峰解析度良好，且重複數次再現性佳，可做為本實驗之分析方法。



2. 成份確認 (LC-MS)

本研究無標準品，因此以文獻比對的方式，及使用 LC-MS 所得之質譜圖來確認各成份。關於人參皂素之定量研究多年來已有許多報導，但與處理方式相關的文獻卻非常少，因此本研究著重在量的相對比較，並未進行檢量線製作。

LC-MS 之分析條件與上述 HPLC 分析方法相同，僅將流動相 A 中 20mM KH_2PO_4 改為 20mM $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ ，MS 部份分析條件如下：

流速：以分流器固定流速為 0.2mL/min 進入質譜儀，0.6mL/min 為廢液。

Ion Source：ESI (Electron Spray Ionization)

Probe Temperature：400°C

CDL Temperature：250°C

Block Temperature：200°C

Nebulizer Gas Flow：2.5mL

Drying Gas Flow：0.02MPa

Acquisition Mode：scan

Detector Gain：1.4kV

Probe High Voltage：4.5kV

Interval：1sec

LC-MS 所得 TIC 圖及各成分之 MS 圖如 9 及圖 10-33。

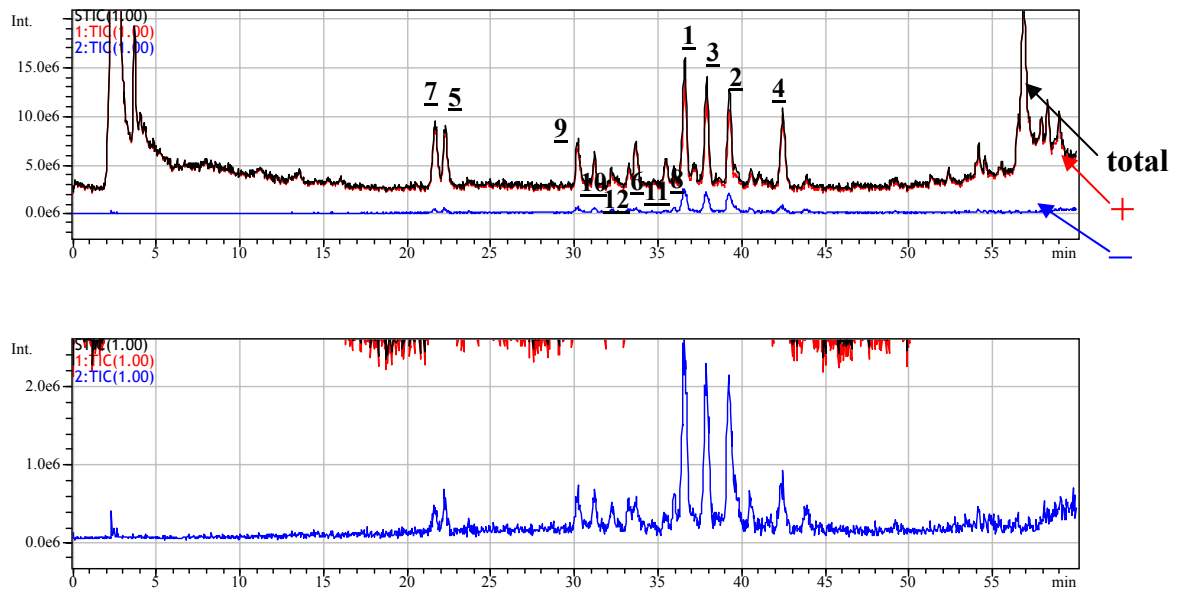


圖 9 人參萃取液之 TIC 圖

— 正離子模式 — 負離子模式 — 正負總和

1 Rb₁ (分子量 1109)

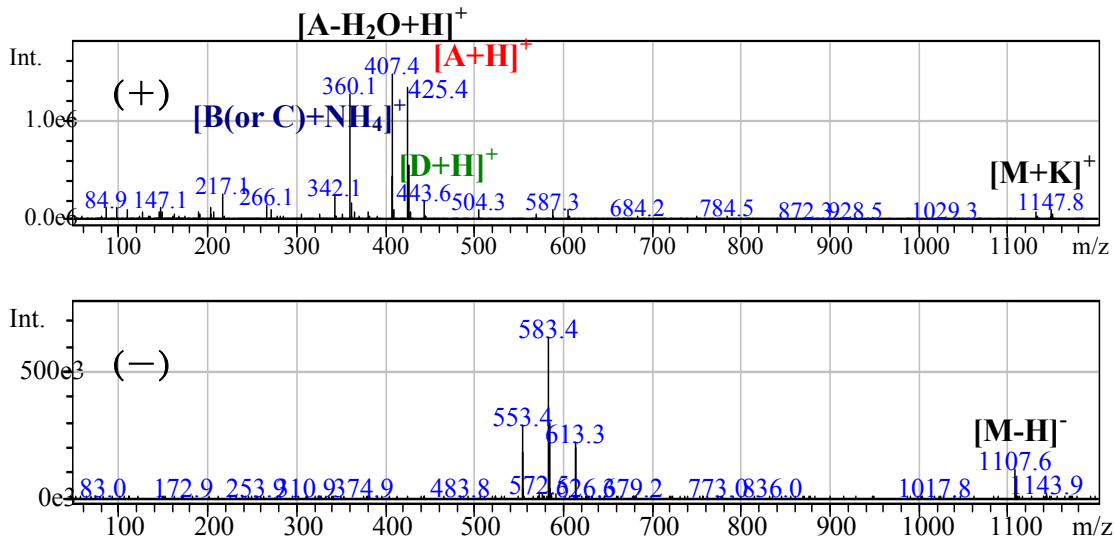


圖 10 成分 1 Rb₁ 質譜圖

Rb₁ 屬於 20-*S*-Protopanaxadiol 衍生物，正離子模式下，主要斷片為 425、407、360，425 來自 20-*S*-Protopanaxadiol 本體，即圖 11 中的[A+H]⁺，而 407 則來自 [A-H₂O+H]⁺，360 來自圖中的[B+NH₄]⁺或[C+NH₄]⁺，另外在正離子模式還可找到 [D+H]⁺的 443，及未被打斷的[M+K]⁺，即 1148。再以負離子模式為輔，可找到[M-H]⁻，即 1108。各斷片可能斷裂途徑如附錄 1 所示。

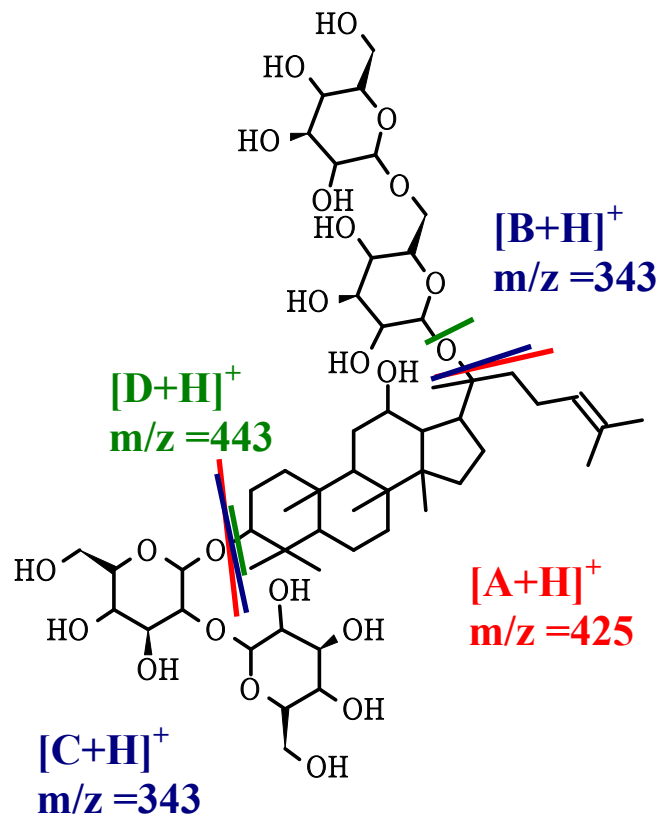


圖 11 Rb₁ 斷片分析

2 Rb₂ (分子量 1079)

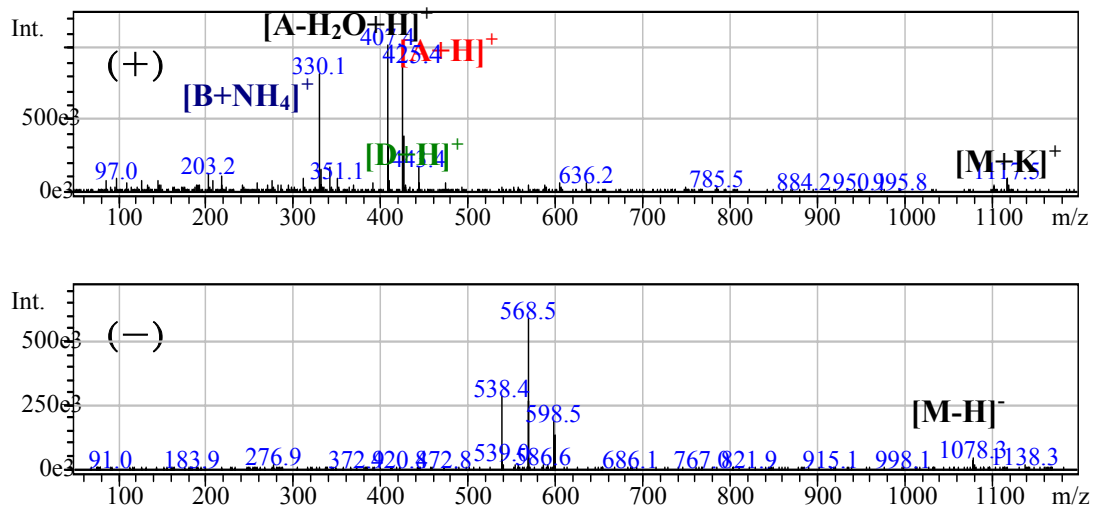


圖 12 成分 2 Rb₂ 質譜圖

Rb₂亦屬於 20-*S*-Protopanaxadiol 衍生物，斷片與 Rb₁相似，正離子模式下，主要斷片為 425、407、330，425 來自 20-*S*-Protopanaxadiol 本體，即圖 13 中的[A+H]⁺，407 來自[A-H₂O+H]⁺，也可能來自[E+H]⁺，360 來自圖中的[B+NH₄]⁺，在正離子模式還可找到[D+H]⁺的 443，及未被打斷的[M+K]⁺，即 1118。以負離子模式為輔，可找到[M-H]⁻，即 1078。各斷片可能斷裂途徑如附錄 1 所示。

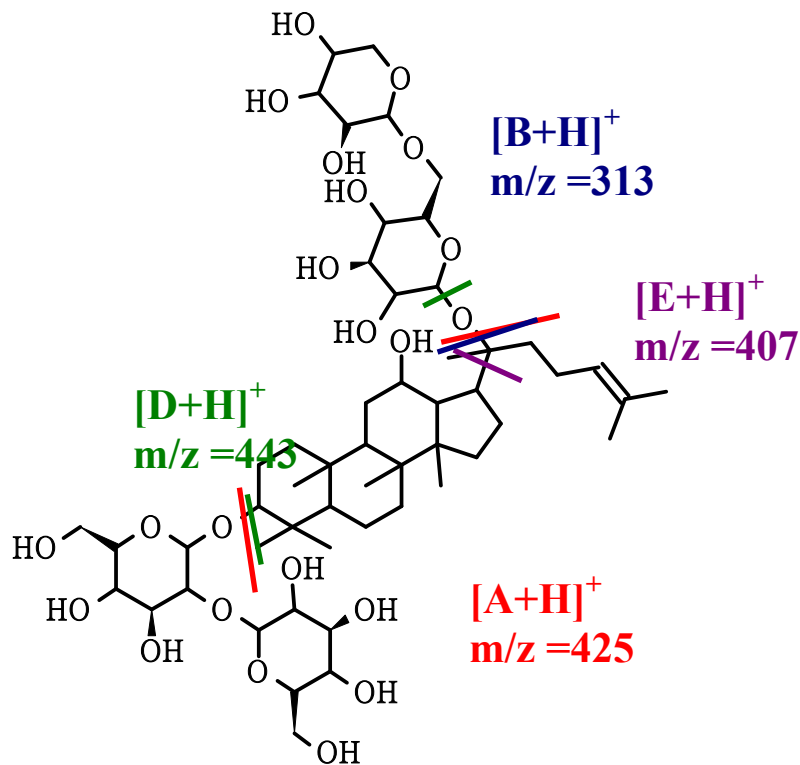


圖 13 Rb₂斷片分析

3 Rc (分子量 1079)

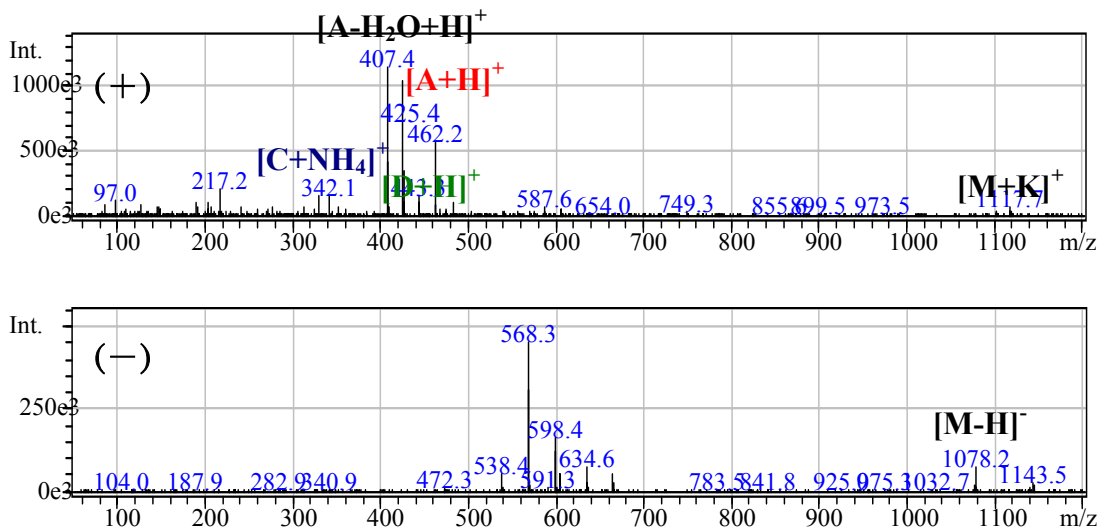


圖 14 成分 3 Rc 質譜圖

Rc 亦屬 20-*S*-Protopanaxadiol 衍生物，斷片與 Rb 相似，正離子模式下，主要斷片為 425、407，425 來自 20-*S*-Protopanaxadiol 本體，即圖 15 中的[A+H]⁺，407 來自[A-H₂O+H]⁺，也可能來自[E+H]⁺，在正離子模式還可找到[D+H]⁺的 443，及未被打斷的[M+K]⁺，即 1118。以負離子模式為輔，可找到[M-H]⁻，即 1078。各斷片可能斷裂途徑如附錄 1 所示。

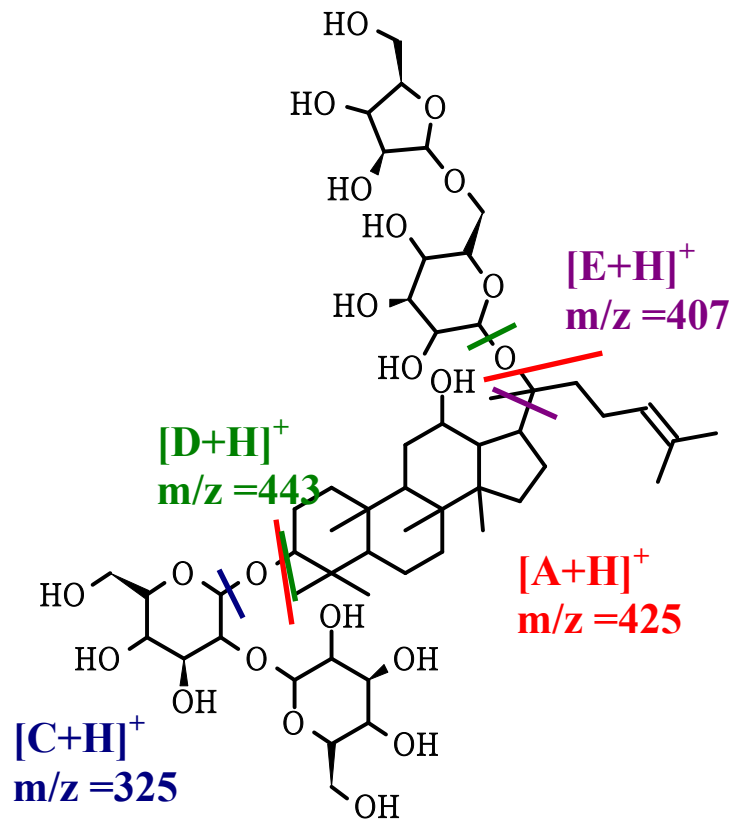


圖 15 Rc 斷片分析

4 Rd (分子量 947)

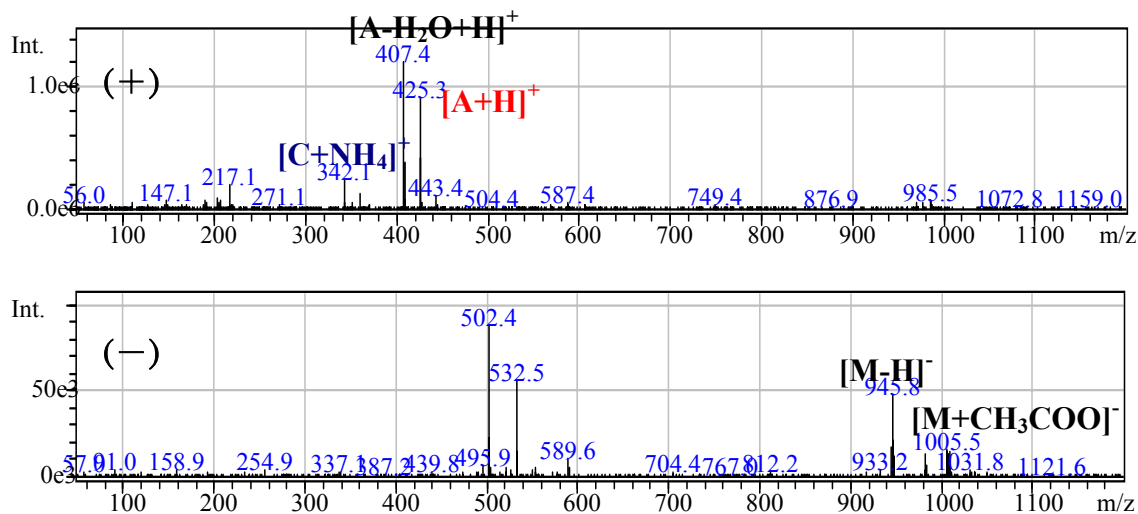


圖 16 成分 4 Rd 質譜圖

Rd 仍屬 20-*S*-Protopanaxadiol 衍生物，斷片與 Rb 相似，正離子模式下，主要斷片為 425、407，425 來自 20-*S*-Protopanaxadiol 本體，即圖 17 中的 $[A+H]^+$ ，407 來自 $[A-H_2O+H]^+$ ，在正離子模式還可找到 $[D+H]^+$ 的 443。以負離子模式為輔，可找到 $[M-H]^-$ ，即 946，與 $[M+CH_3COO]^-$ 的 1006。各斷片可能斷裂途徑如附錄 1 所示。

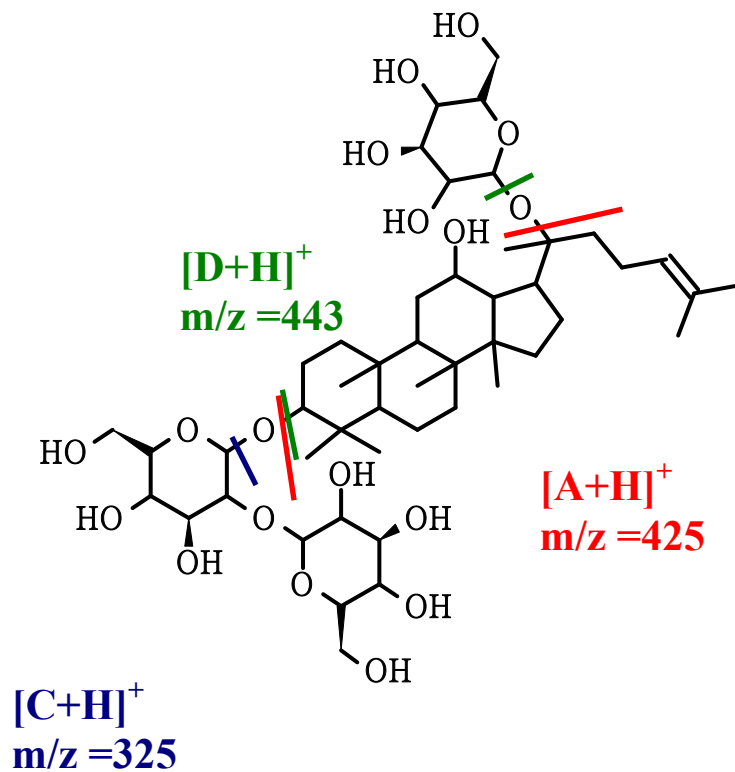


圖 17 Rd 斷片分析

5 Re (分子量 947)

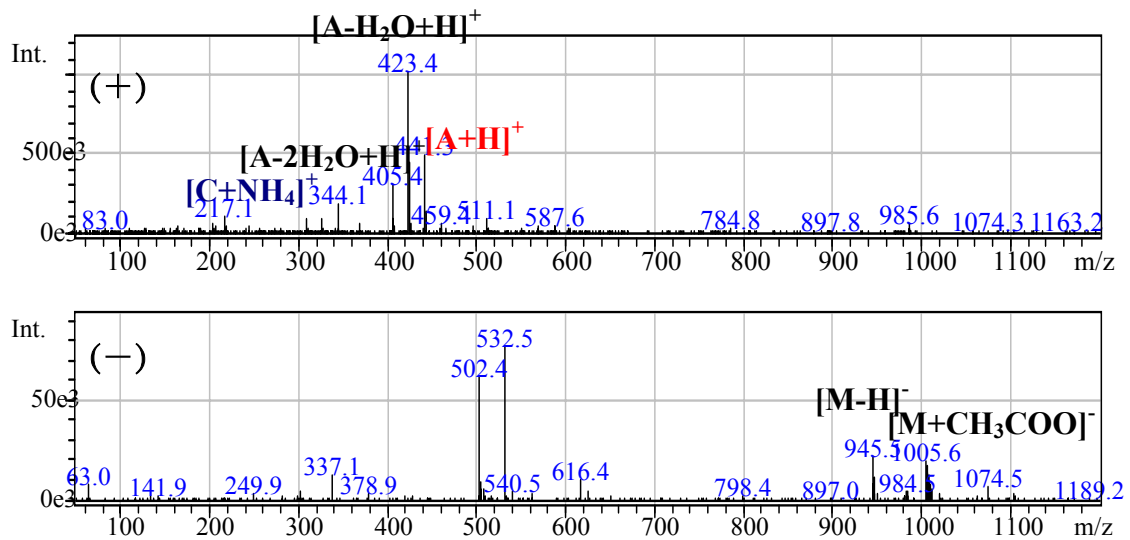


圖 18 成分 5 Re 質譜圖

Re 屬 20-*S*-Protopanaxatriol 衍生物，正離子模式下，主要斷片為 441、423、405，441 來自 20-*S*-Protopanaxatriol 本體，即圖 19 中的 $[A+H]^+$ ，423 來自 $[A-H_2O+H]^+$ ，405 來自 $[A-2H_2O+H]^+$ ，在正離子模式還可找到 $[C+NH_4]^+$ 的 344。以負離子模式為輔，可找到 $[M-H]^-$ ，即 946，與 $[M+CH_3COO]^-$ 的 1006。各斷片可能斷裂途徑如附錄 1 所示。

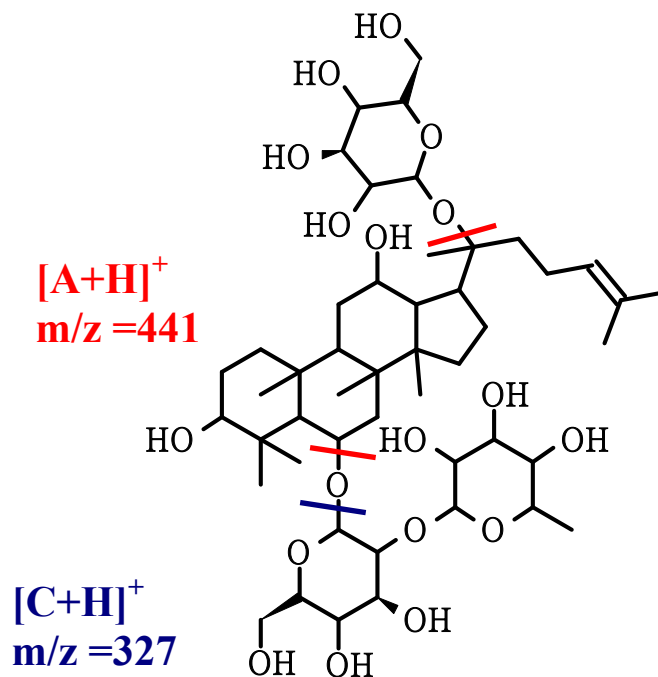


圖 19 R_c 斷片分析

6 Rf (分子量 800)

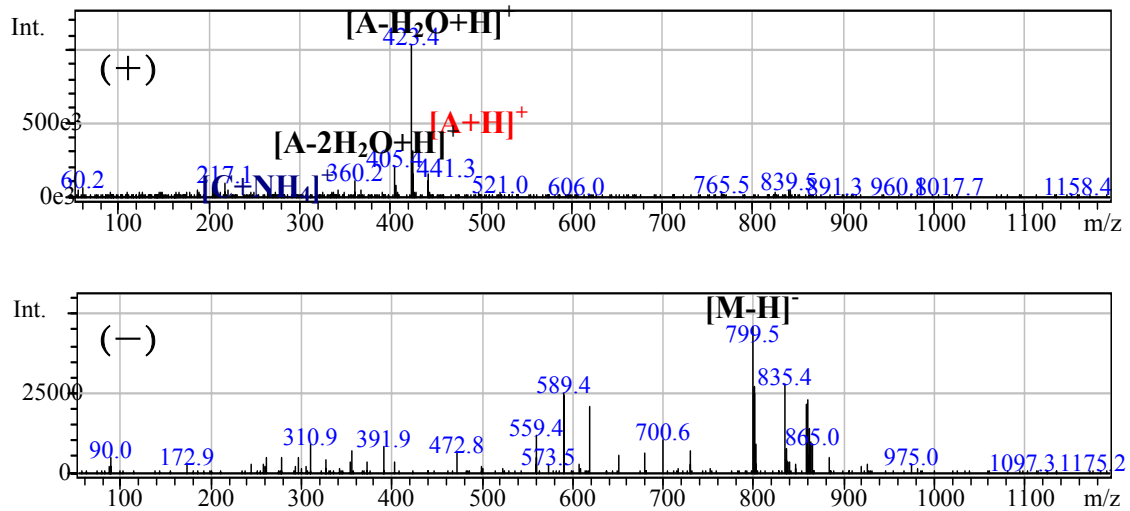


圖 20 成分 6 Rf 質譜圖

Re 亦屬 20-*S*-Protopanaxatriol 衍生物，正離子模式下，主要斷片為 441、423、405、441 來自 20-*S*-Protopanaxatriol 本體，即圖 21 中的 $[A+H]^+$ ，423 來自 $[A-H_2O+H]^+$ ，405 來自 $[A-2H_2O+H]^+$ ，在正離子模式還可找到 $[C+NH_4]^+$ 的 360。以負離子模式為輔，可找到 $[M-H]^-$ ，即 799。各斷片可能斷裂途徑如附錄 1 所示。

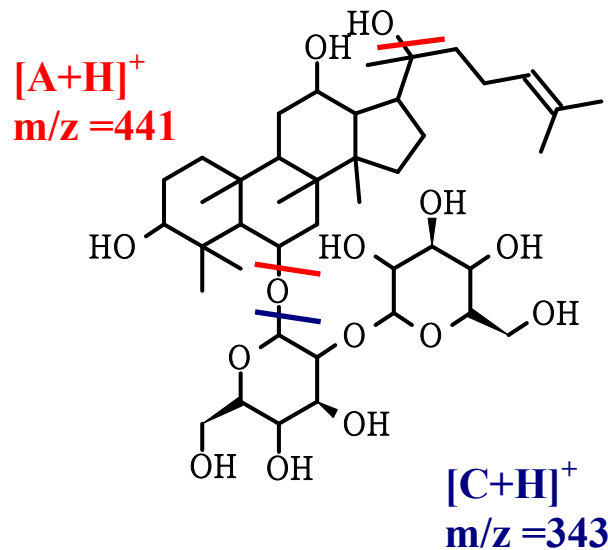


圖 21 Rf 斷片分析

7 R_{g1} (分子量 800)

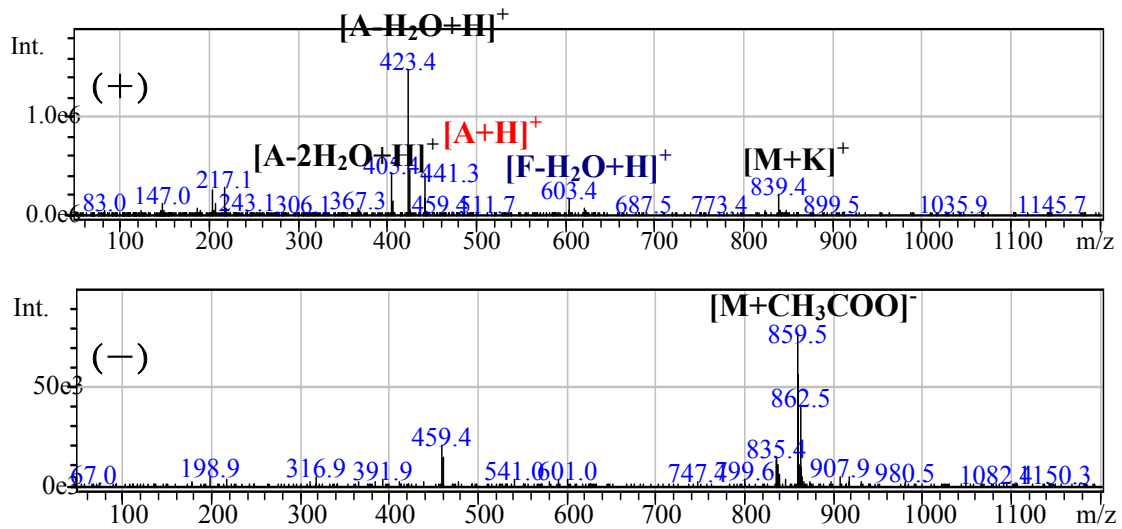


圖 22 成分 7 R_{g1} 質譜圖

R_{g1} 亦屬 20-*S*-Protopanaxatriol 衍生物，正離子模式下，主要斷片為 441、423、405，441 來自 20-*S*-Protopanaxatriol 本體，即圖 23 中的[A+H]⁺，423 來自[A-H₂O+H]⁺，405 來自[A-2H₂O+H]⁺，在正離子模式還可找到[F-H₂O+H]⁺的 603。以負離子模式為輔，可找到[M+CH₃COO]⁻，即 859。各斷片可能斷裂途徑如附錄 1 所示。

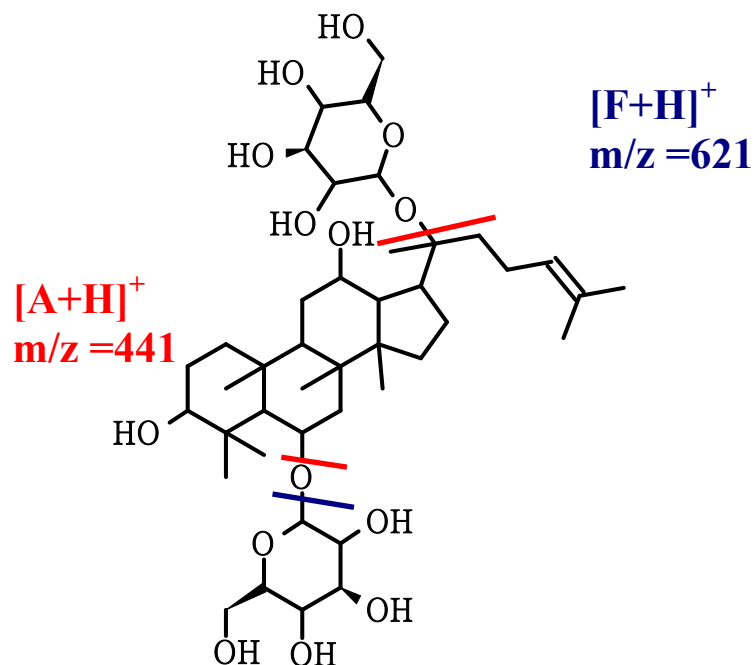


圖 23 R_{g1} 斷片分析

8 R_{g2} (分子量 785)

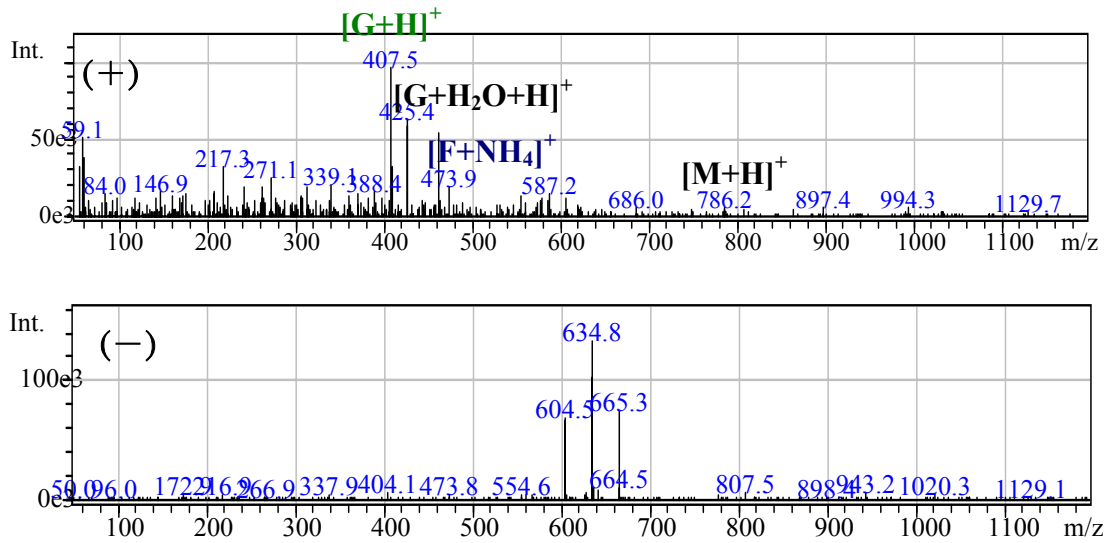


圖 24 成分 8 R_{g2} 質譜圖

R_{g2} 亦屬 20-*S*-Protopanaxatriol 衍生物，但在樣品中含量少，MS 圖譜易受干擾，正離子模式下，主要斷片為 407、425，407 來自圖 25 中的[G+H]⁺，425 來自[G+H₂O+H]⁺，在正離子模式還可找到[F+NH₄]⁺的 474。各斷片可能斷裂途徑如附錄 1 所示。

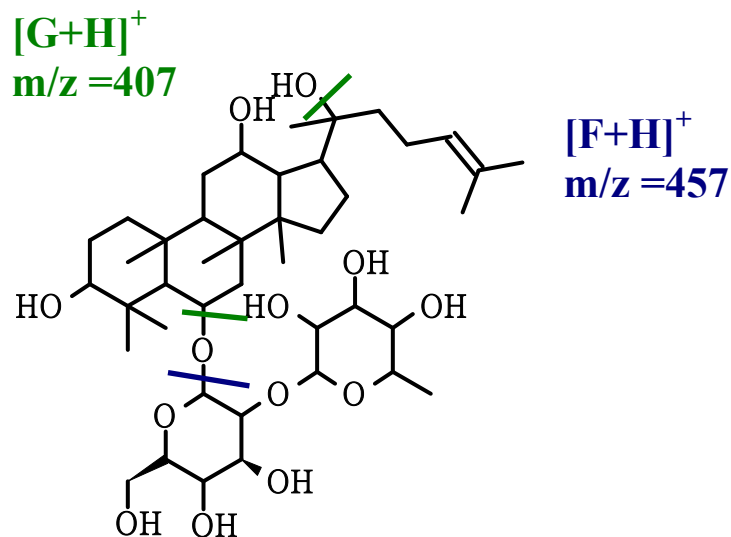


圖 25 R_{g2} 斷片分析

9 Ro (分子量 957)

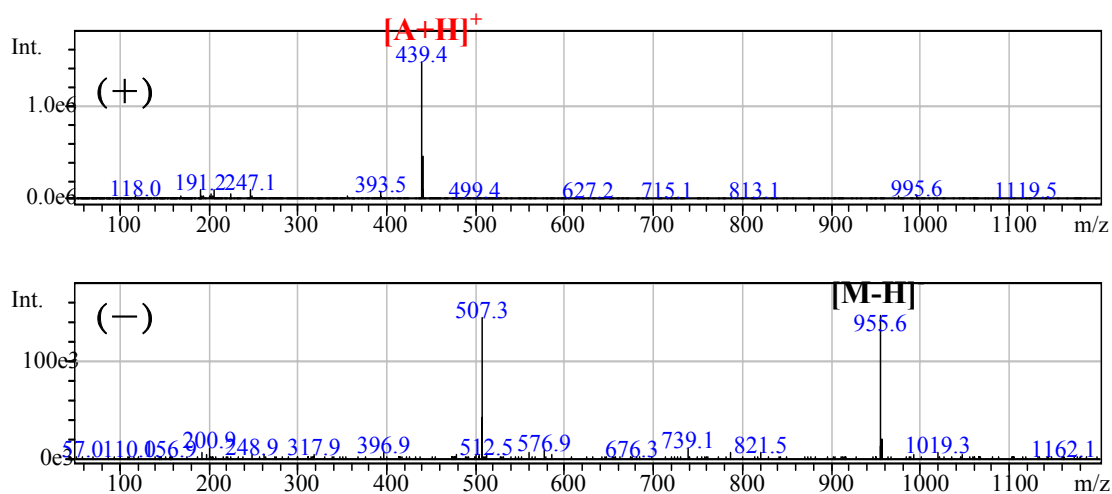


圖 26 成分 9 Ro 質譜圖

Ro 為 Oleanolic acid，正離子模式下，主要斷片為 439，439 來自圖 27 中的 $[A+H]^+$ ，以負離子模式為輔，還可找到 $[M-H]$ 的 956。斷片可能斷裂途徑如附錄 1 所示。

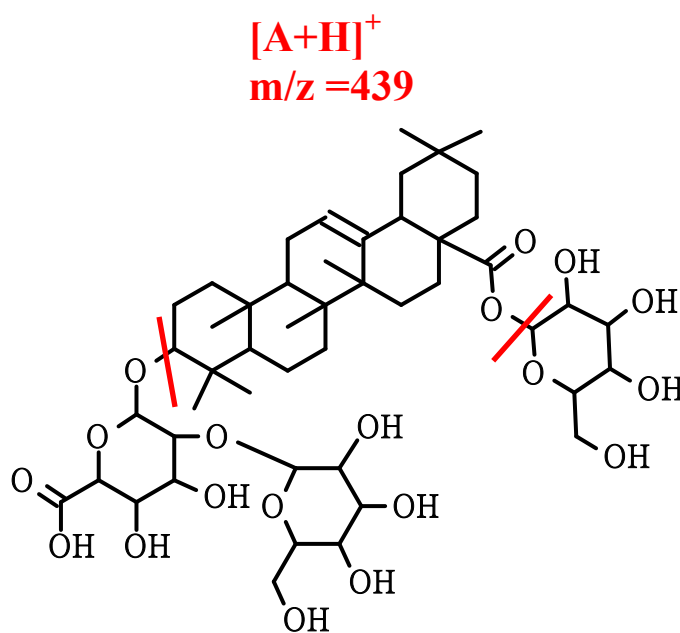


圖 27 Ro 斷片分析

10 mRb₁ (分子量 1195)

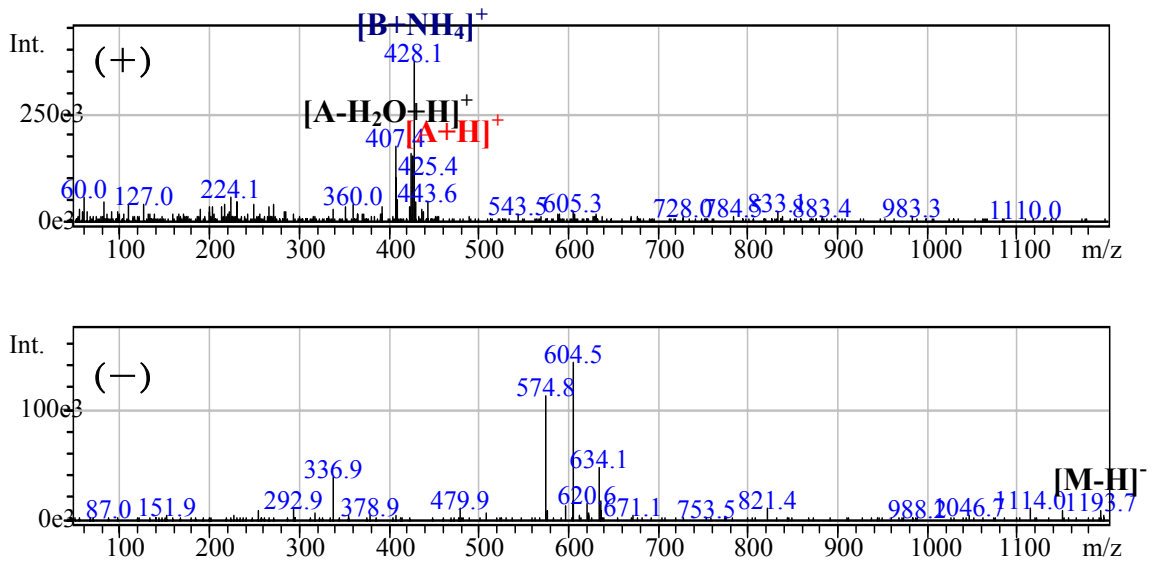


圖 28 成分 10 mRb₁ 質譜圖

mRb₁ 為 Malonylginsenoside，正離子模式下，主要斷片為 428、425、407，428 來自圖 29 中的 [B+NH₄]⁺，425 來自 [A+H]⁺，407 則為 [A-H₂O+H]⁺，以負離子模式為輔，還可找到 [M-H]⁻ 的 1194。斷片可能斷裂途徑如附錄 1 所示。

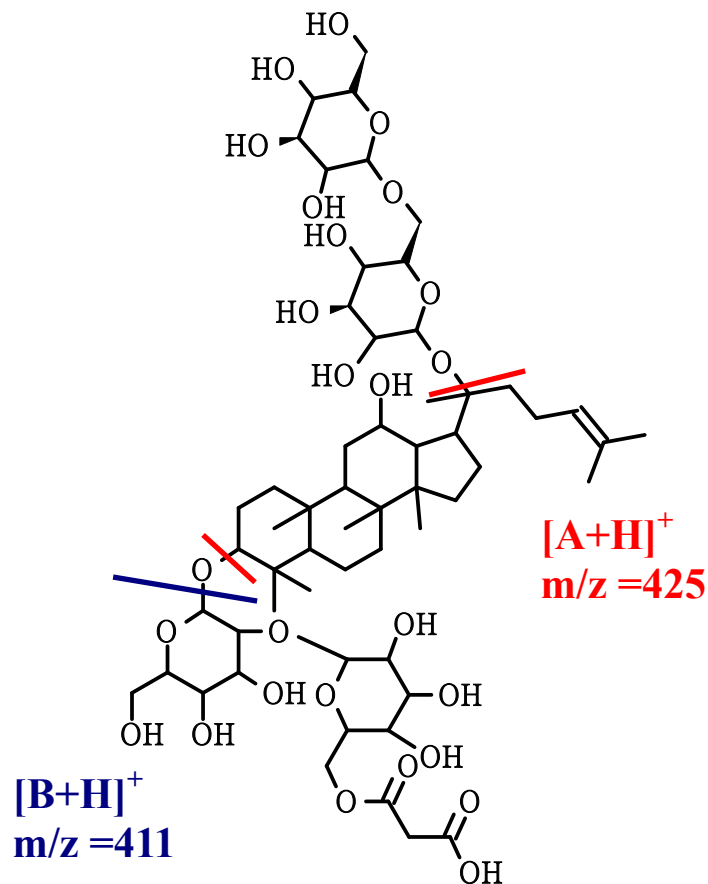


圖 29 mRb₁ 斷片分析

11 mRb₂ (分子量 1165)

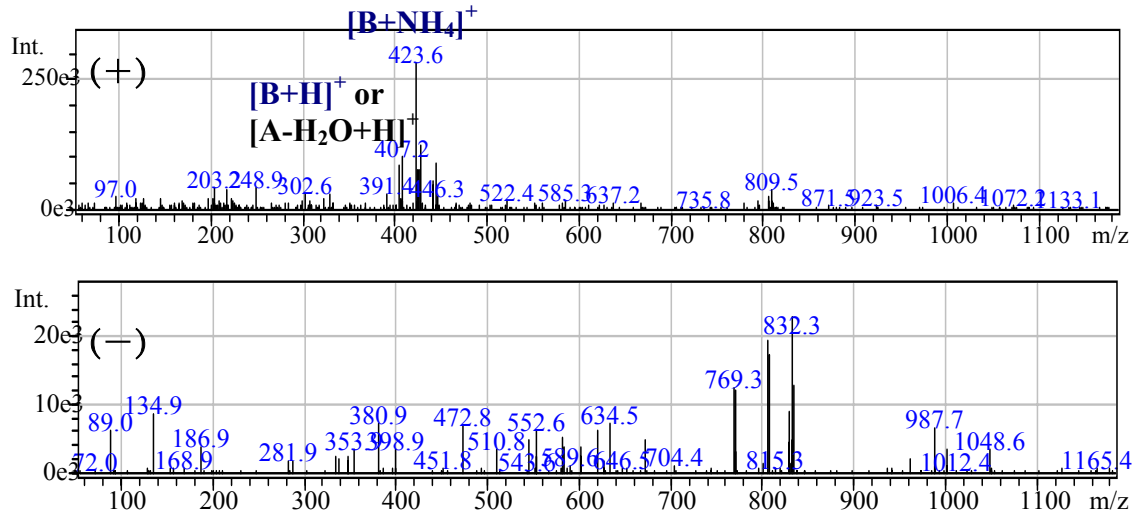


圖 30 成分 11 mRb₂ 質譜圖

mRb₁ 為 Malonylginsenoside，在樣品中含量少，MS 圖譜易受干擾，正離子模式下，主要斷片為 424、407，424 來自圖 31 中的 [B+NH₄]⁺，407 來自 [A-H₂O+H]⁺，或 [B+H]⁺。

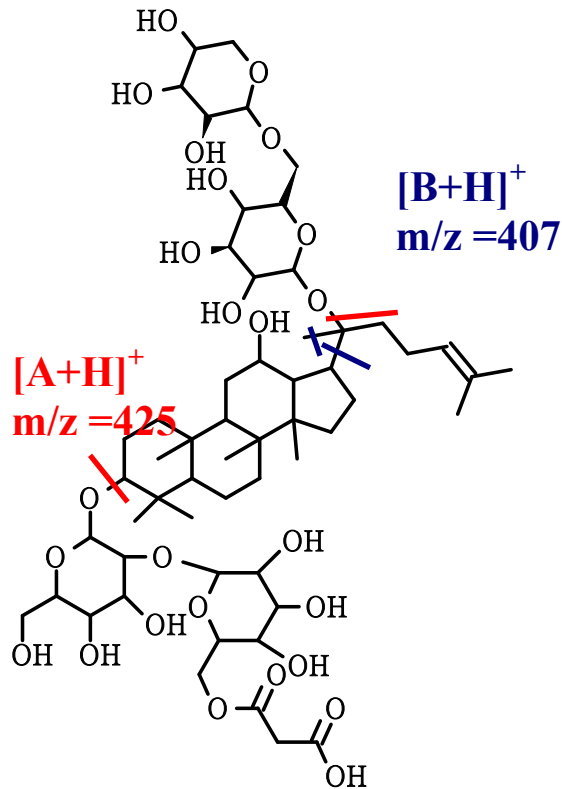


圖 31 mRb₂ 斷片分析

12 mRc (分子量 1165)

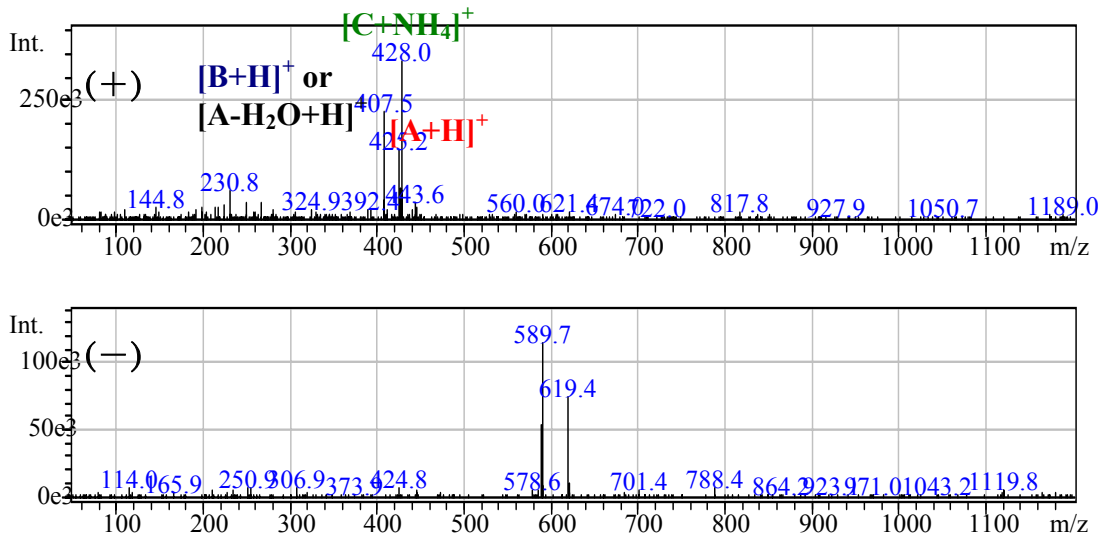


圖 32 成分 12 mRc 質譜圖

mRc 亦為 Malonylginsenoside，正離子模式下，主要斷片為 428、425、407，428 來自圖 33 中的 $[C+NH_4]^+$ ，425 來自 $[A+H]^+$ ，407 則為 $[A-H_2O+H]^+$ ，或 $[B+H]^+$ 。斷片可能斷裂途徑如附錄 1 所示。

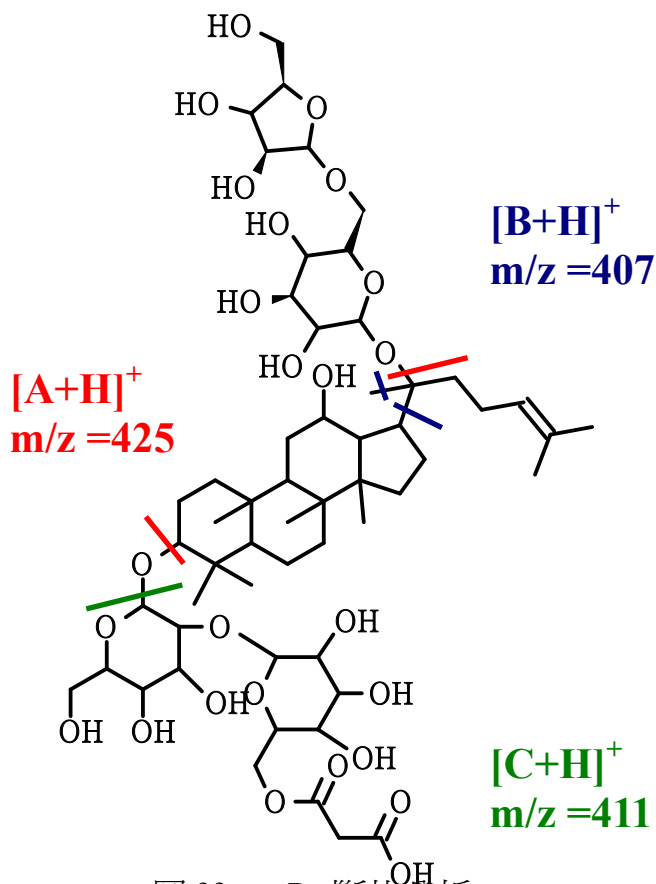


圖 33 mRc 斷片分析

二、比較同批紅參參鬚經不同處理後之分析結果

文獻資料[1]顯示紅參參鬚含有較多人參皂素，且考慮其價格較低廉，因此選擇紅參參鬚進行本研究。以標準萃取液(50%乙醇萃取液)中各成份的吸收峰面積比為 1，計算經不同方式處理後，各成分的相對含量，以此相對含量為萃出率。結果如表 2 至表 5。

表 2 切段泡茶萃出率

	Rg ₁ (7)	Re(5)	Ro(9)	mRb ₁ (10)	mRc(12)	Rf(6)	mRb ₂ (11)	Rg ₂ (8)	Rb ₁ (1)	Rc(3)	Rb ₂ (2)	Rd(4)
10min	0.13410	0.13011	0.07511	0.11780	0.07136	0.11174	0.11738	0.06114	0.11201	0.14388	0.10322	0.08442
20min	0.15148	0.21133	0.07345	0.20112	0.16433	0.20459	0.18652	0.07300	0.14647	0.17563	0.15693	0.11979
30min	0.18583	0.31948	0.09161	0.28682	0.19530	0.32056	0.33312	0.15278	0.25206	0.30524	0.24808	0.19921
40min	0.24204	0.33212	0.14731	0.32483	0.22587	0.31868	0.32690	0.18325	0.31353	0.32335	0.25805	0.17799
50min	0.25297	0.35437	0.12774	0.36069	0.23937	0.36111	0.33324	0.20074	0.29358	0.33652	0.25769	0.20656

表 3 切段水煮萃出率

	Rg ₁ (7)	Re(5)	Ro(9)	mRb ₁ (10)	mRc(12)	Rf(6)	mRb ₂ (11)	Rg ₂ (8)	Rb ₁ (1)	Rc(3)	Rb ₂ (2)	Rd(4)
5min	0.15395	0.22220	0.13259	0.18202	0.23389	0.14730	0.15565	0.22490	0.16180	0.18417	0.14385	0.08703
10min	0.23123	0.36601	0.19500	0.25666	0.28930	0.19835	0.23103	0.29334	0.25356	0.34343	0.26048	0.21286
15min	0.31218	0.43973	0.23849	0.31728	0.41959	0.28330	0.27266	0.35490	0.33352	0.43783	0.37755	0.25258
20min	0.35149	0.45189	0.30675	0.26647	0.39999	0.26865	0.24031	0.30905	0.35725	0.40174	0.38467	0.27529
25min	0.32230	0.39276	0.23690	0.21993	0.28255	0.24732	0.23934	0.26212	0.37866	0.41799	0.40124	0.24482

表 4 粉末泡茶萃出率

	Rg ₁ (7)	Re(5)	Ro(9)	mRb ₁ (10)	mRc(12)	Rf(6)	mRb ₂ (11)	Rg ₂ (8)	Rb ₁ (1)	Rc(3)	Rb ₂ (2)	Rd(4)
10min	0.17787	0.22114	0.15810	0.20260	0.34415	0.31371	0.23782	0.24736	0.26488	0.28355	0.20655	0.18207
20min	0.16526	0.22321	0.17736	0.24271	0.39681	0.33721	0.30729	0.28295	0.37083	0.44533	0.33236	0.29306
30min	0.18681	0.24234	0.23610	0.27243	0.52737	0.37690	0.34412	0.31061	0.38624	0.47788	0.34418	0.31344
40min	0.19223	0.29602	0.27799	0.34943	0.56524	0.41307	0.43804	0.35200	0.39560	0.51478	0.35793	0.32325
50min	0.23306	0.40523	0.36787	0.51166	0.57854	0.32793	0.41235	0.35264	0.41645	0.48279	0.37665	0.34446

表 5 切段酒浸萃出率

	Rg ₁ (7)	Re(5)	Ro(9)	mRb ₁ (10)	mRc(12)	Rf(6)	mRb ₂ (11)	Rg ₂ (8)	Rb ₁ (1)	Rc(3)	Rb ₂ (2)	Rd(4)
1day	0.34204	0.42984	0.22678	0.51600	0.37726	0.60624	0.57546	0.27065	0.41959	0.50956	0.43119	0.33411
7day	0.36435	0.54510	0.41393	0.95468	0.73382	1.05458	0.93819	0.72471	0.87311	1.10314	0.97875	0.81986
14day	0.50129	0.67922	0.55058	1.04130	1.24295	1.17200	1.17415	0.80318	1.11703	1.24333	1.04051	0.79850
21day	0.62736	0.76828	0.63875	1.29897	1.33860	1.29346	1.22517	0.97551	1.21380	1.39403	1.12479	0.92745
28day	0.66701	0.78122	0.71190	1.55028	1.58479	1.41597	1.32007	1.08220	1.34836	1.60790	1.19362	0.95976

將各組結果作成折線圖加以比較，結果如下：

1. 切段泡茶

切段泡茶結果如圖 34 所示，由折線圖可看出，各成分萃出率大致隨浸泡時間增長而增加，但在 30 分鐘之後增加的幅度很小，有些甚至有減少的情形。增加幅度減小主要原因應為此熱水中已溶有一定量的人參皂素，另外也可能因為熱水溫度在室溫中漸漸降低而稍有影響。部份成分浸泡時間較長時有微量降低，可能是因為其他某些成分溶出量增加時造成輕微抑制，或來自藥材的個別差異。由本研究結果得知，人參切段（或飲片）泡茶時，若不回沖至少應泡大約 30 分鐘。

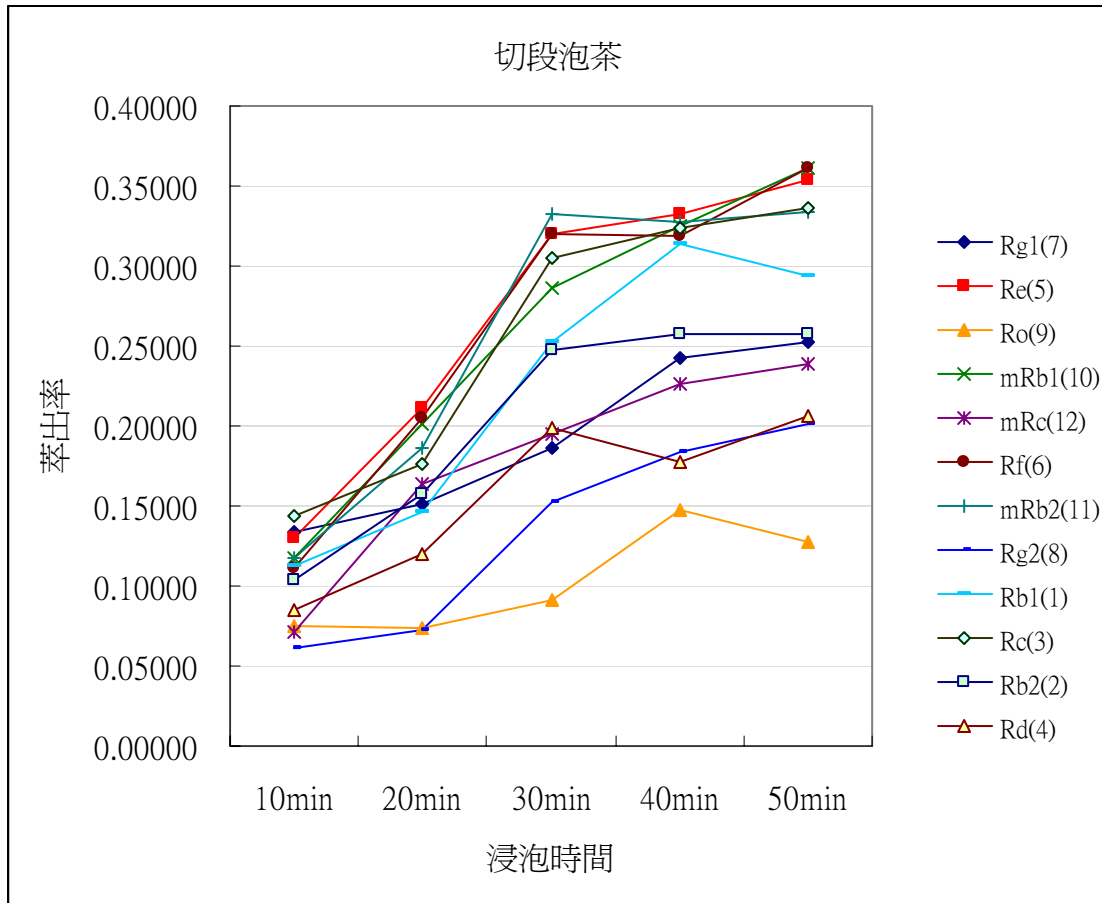


圖 34 切段泡茶各成份萃出率變化圖

2. 切段水煮

切段水煮結果如圖 35 所示，由折線圖可看出，各成分萃出率在前 15 分鐘持續增加，但在 15 分鐘或 20 分鐘後部份成分有減少的情形，增加者也不明顯。其中 mRb₁ 及 mRb₂ 減少可能由於其在水煮過程中轉變為 Rb₁ 及 Rb₂，Rb₁ 及 Rb₂ 則無減少情形，其他成分也可能在持續高溫下轉變成其他物質或遭到破壞，而導致含量減少。由此結果可知，若要以加熱煮沸方式煮人參茶，煮滾後再煮 15-20 分鐘可得較多人參皂素。

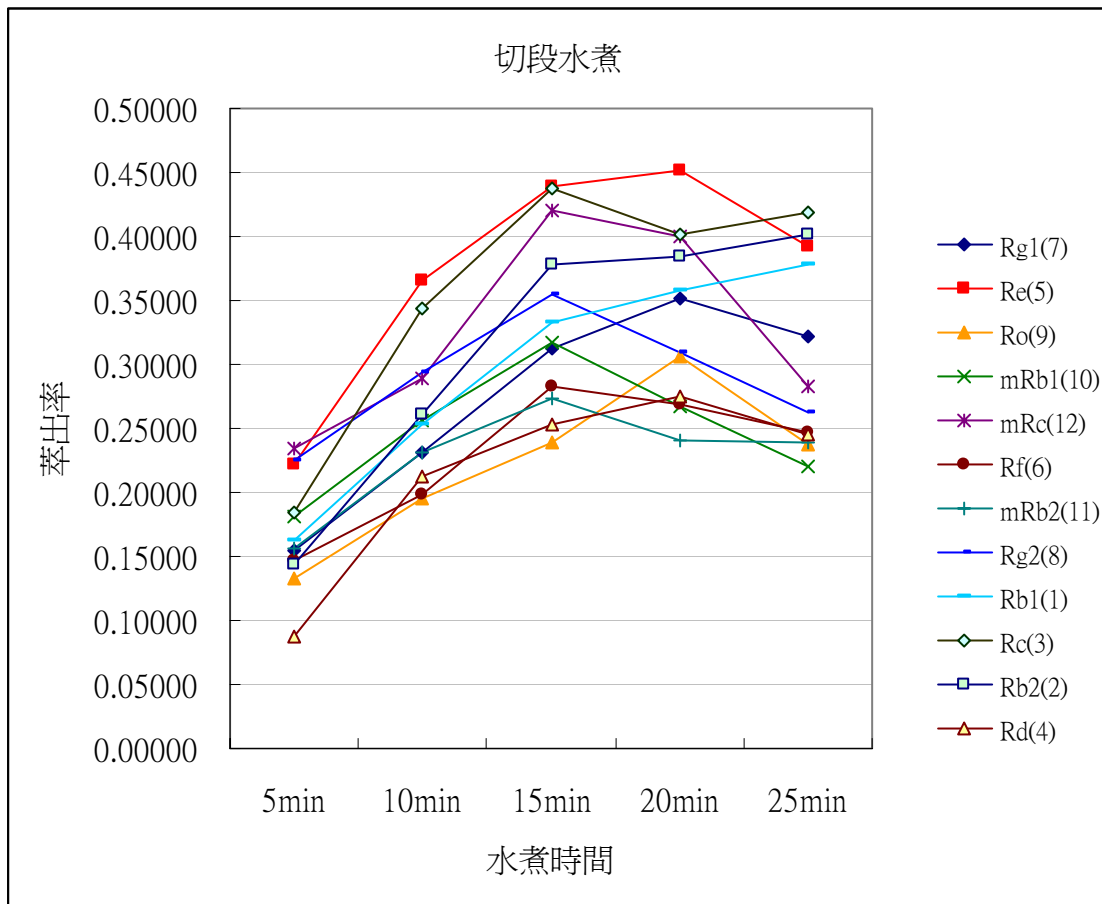


圖 35 切段水煮各成份萃出率變化圖

3. 粉末泡茶

粉末泡茶結果如圖 36 所示，由折線圖可看出，各成分大致隨浸泡時間增長而增加，但增加情形普遍不明顯，有些成分僅在 10-20 分鐘有較大增加，大部份成份在 30-40 分鐘後少有變化。依此結果推測，由於粉末接觸面積較大，各皂素較易溶出，也因此能在較短時間內達到一定量，導致時間增長變化不大。所以若以人參茶包沖泡人參茶時，不需浸泡太久即可飲用。

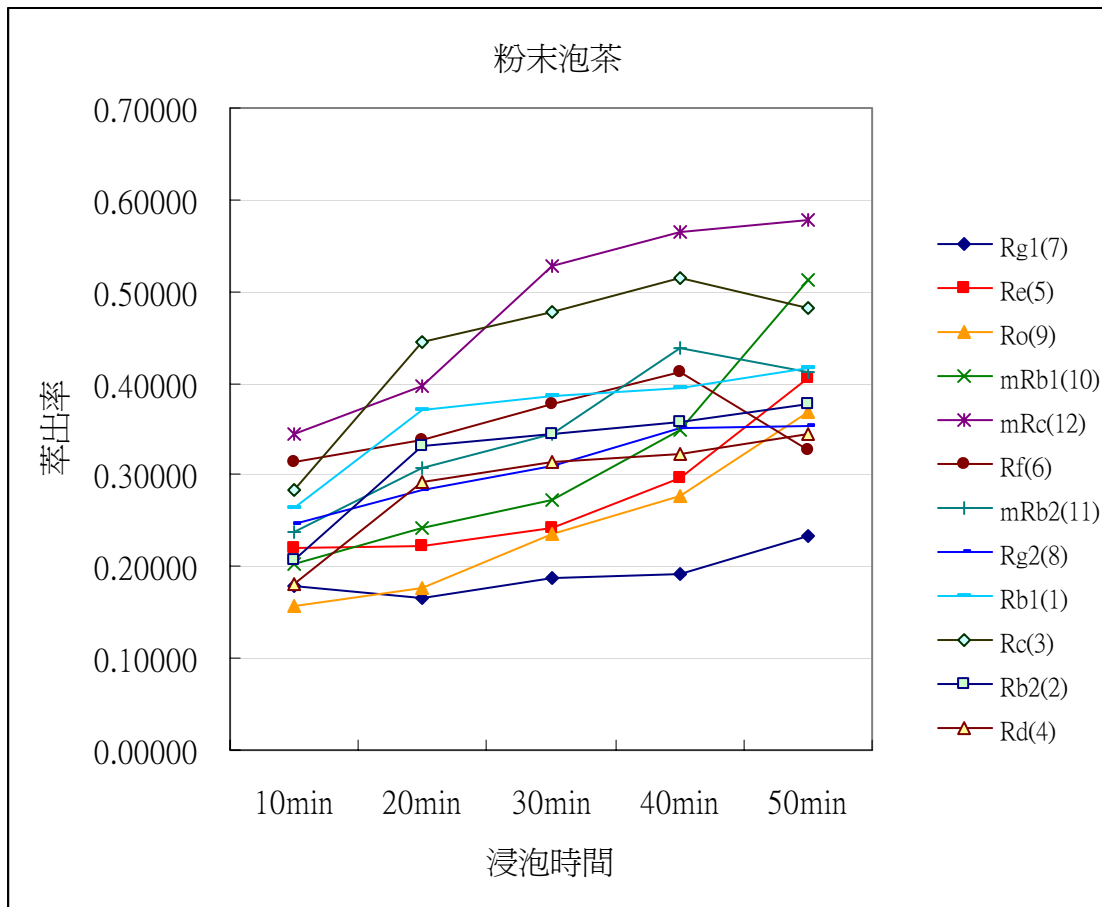


圖 36 粉末泡茶各成份萃出率變化圖

4. 切段酒浸

切段酒浸結果如圖 37 所示，由折線圖可看出，各成分皆隨酒浸時間增長而增加，一天至一週增加最明顯，一週後仍持續增加。酒浸四週後，大部分成分萃出率已接近或超過標準液，有些甚至達到 1.5 以上，並持續增加，與人參茶比較明顯高出很多。由此結果可看出，人參酒浸泡越久人參皂素越多，且酒若保存良好可長期存放，因此可以長時間浸泡，與人參茶比較，雖需較長時間且較不方便，人參皂素的含量卻比沖泡或水煮之人參茶高出許多，但不宜大量飲用，為其缺點。

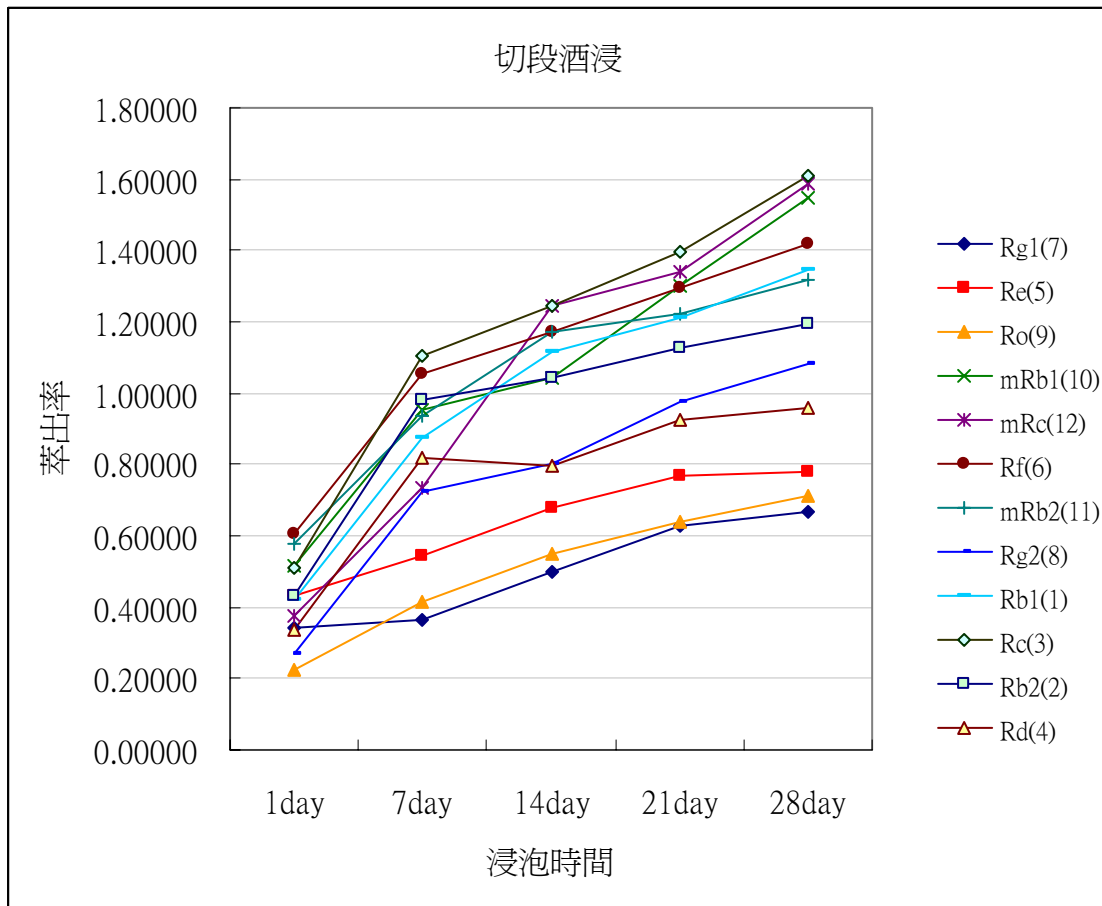


圖 37 切段酒浸各成份萃出率變化圖

由上述結果可知人參酒中的人參皂素比人參茶高出許多，若僅討論人參茶，各處理方式皆取 20 分鐘之結果進行比較，如圖 38 所示，可看出切段泡茶之萃出率最低，而切段水煮與粉末泡茶萃出率相仿，明顯較切段泡茶高。因此製做人參茶較好的方式，為切段（飲片）水煮，或粉末（茶包）沖泡，粉末水煮不屬於日常使用方式，因此未列入實驗。

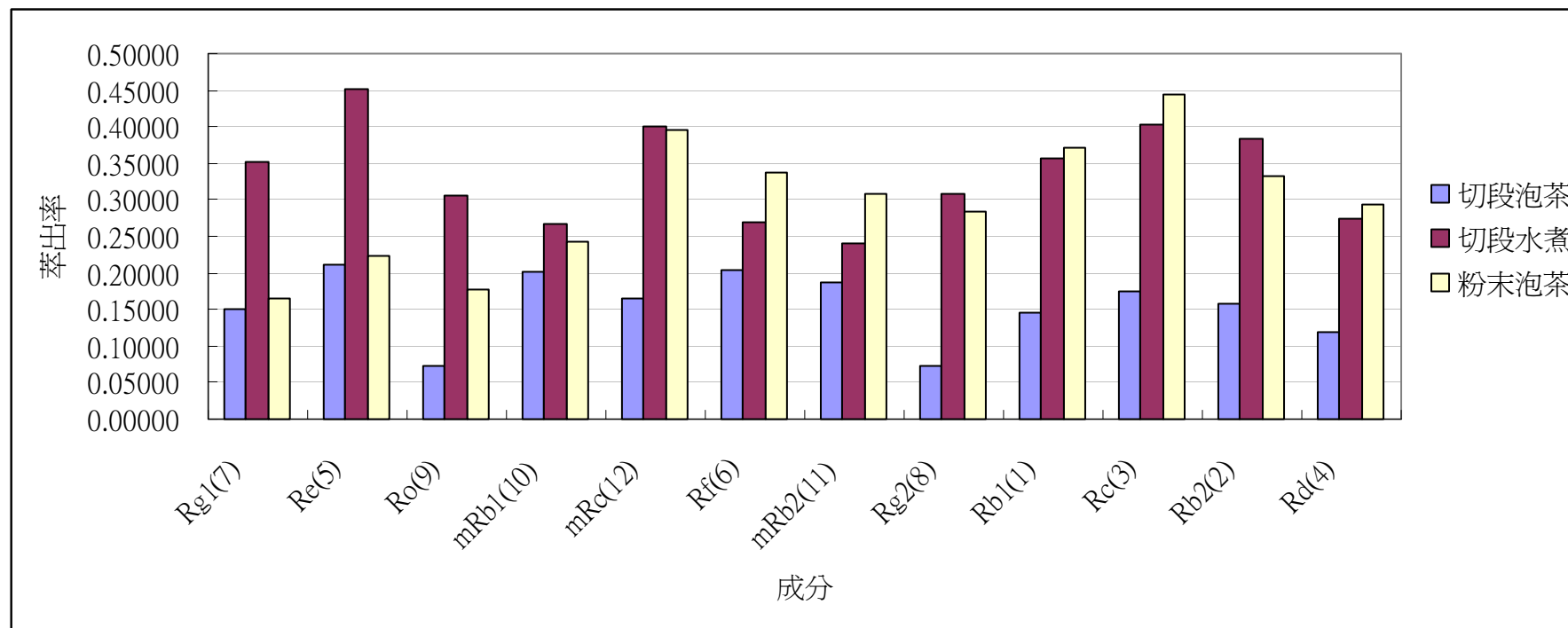


圖 38 人參茶製做方式萃出率比較

三、比較不同品種人參並以統計方式建立辨識依據

文獻[1]曾以人工識別的方式，爲人參品種建立辨識依據，包含 HPLC 指紋圖譜及雷達圖等。本研究以多變量統計軟體（SPSS），找出更爲客觀的辨識方法。

區分析主要目的是瞭解群體的差異，先利用區別變數建立區別規則（區別函數），再由區別規則對個體作分類，預測每個個體屬於各群組的可能機率。

線性區別方式

常用的線性區別有兩種，即線性區別函數（或稱分類函數），及典型區別（或稱費雪區別）等。

1. 線性區別函數（或稱分類函數）[7]

對 n 個群體，當選定一組區別變數後，首先要找出一種區別規則來判別給定的個體是屬於哪一個群體。建立區別規則最常用的原理，是依據此組資料在各群體可能發生的機率，將此個體區分在機率最大的群體中。當母體是常態分配且有相同的共變異數矩陣時，可導出區別函數（discriminant function），亦稱分類函數（classification function），此函數是區別變數的線性組合。當有 n 個群體時，每群各有一個區別函數，即共有 n 個區別函數。

各群所對應的區別函數象徵個體在各群體可能發生的機率，第 i 群的線性區別函數爲：

$$d_i = w_{i1}x_1 + w_{i2}x_2 + \cdots + w_{ip}x_p + c_i \quad i=1,2,\cdots,g$$

其中 x_j 爲區別變數， w_{ij} 爲第 i 個區別函數在第 j 個區別變數 x_j 的權重， c_i 爲常數項。將個體之各變數觀察值帶入各群體所對應的區別函數，所得值最大的，表示此個體屬於這個群體的機率最大，因此可區分爲此群。

2. 典型區別（或稱費雪區別）[8]

典型區別分析（Canonical Discriminant Analysis）是費雪（Fisher）所創，主要目的是將區別變數經線性組合變成典型變量（Canonical Variable），使維度降低。基本原理是將多變量的 $x = (x_1, \cdots, x_p)'$ ，經線性組合變成單變量的 y ， $y = b'x$ ，接著找出權重向量 b ，使單變量 y 對群體具有最大的分辨能力，亦即找出使群體間差異最大的線性組合。

由多個變數經線性組合所得的典型變量，可將個體散布維度降低，如以 p 個區別變數來區別 g 個個體，原先要呈現在 p 度空間的散佈圖，便可簡化爲 $\text{Min}(p, g-1)$ 個維度，或者在更少的維度時就已經可以累積達接近 1 的特徵值。通常繪製典型變量散佈圖時，使用特徵值最大的兩個典型變量，將所有個體呈現於 2 維的平面座標，使研究者易於瞭解及判斷個體與群體的關係。

逐步區別分析[8]

在區別變數的選取上，有兩種選擇，即強迫進入法（Enter independent together）與逐步選擇法（Use stepwise method）。強迫進入法為使用所有變數進行區別分析，而逐步選擇法每次只選擇一個變數，直到達到一定的顯著水準為止，使用逐步選擇法的區別分析，稱為逐步區別分析。

變數選取的方法，較常用的為 *Wilk' s lambda* 法，此為大部份統計軟體所內定的方法，*Wilk' s lambda* 為組內離均差平方和（ SS_{within} ）和與總離均差平方和（ SS_t ）的比，計算如下：

$$\Lambda = \frac{SS_{within}}{SS_t}$$

Λ 值小的變數，代表其組間差異性大且組內相似性高，即變異量大多來自組間而非組內，因此 Λ 值可作為變數區別能力的指標， Λ 值小的變數具有較高的區別能力。這種逐步區分析方法每一次選進的變數，是其整體的 Λ 值最小的，接著逐次選取具有最小 Λ 值的變數，直到達到一定的顯著水準才停止選取，完成區別分析，因此只有區別能力較強的變數，會參與區別分析，效果通常較使用所有變數時佳。

將人參各成分面積比代入SPSS之區別分析，選擇逐步區別方式，7個品種得7個分類函數，各分類函數係數、分類結果及統計量如下：

表6 人參區別分析分類函數係數
(1白參 2紅參 3石柱紅參 4紅參鬚 5野粉光 6栽培粉光 7三七人參)

Classification Function Coefficients

	V2						
	1	2	3	4	5	6	7
Rb1	-1.744	3.507	1.627	-9.363	6.225	-11.725	30.331
Rb2	11.648	12.234	8.350	61.725	-1.878	8.092	-32.013
Rd	1.696	-5.537	-1.977	16.625	-9.977	19.519	-36.124
Rg1	.745	2.162	1.108	-1.419	3.436	-5.678	22.389
mRb1	-1.934	-3.343	-1.726	-.666	1.618	22.757	-39.935
mRb2	14.709	10.611	3.232	24.932	-4.140	-43.968	113.985
mRc	19.968	-19.517	-9.019	63.531	-19.844	72.864	-143.475
(Constant)	-6.388	-7.739	-4.560	-75.439	-18.963	-42.502	-222.537

Fisher's linear discriminant functions

表 6 為各品種之分類函數，表中數值即為各品種分類函數係數，變數為成分，其計算結果可代表樣品屬於某類的機率。亦即只須將人參樣品之分析結果代入各分類函數，計算結果最大的，即表示此樣品屬於該品種的機率最高，可歸類為此品種。

各樣品分類結果如表 7 所示：

表 7 人參區別分析分類結果
(1白參 2紅參 3石柱紅參 4紅參鬚 5野粉光 6栽培粉光 7三七人參)

Classification Results ^a

Original	Count	V2	Predicted Group Membership							Total	
			1	2	3	4	5	6	7		
	1	10	10	0	0	0	0	0	0	0	10
	2	5	0	5	0	0	0	0	0	0	5
	3	3	0	0	3	0	0	0	0	0	3
	4	4	0	0	0	4	0	0	0	0	4
	5	4	0	0	0	0	4	0	0	0	4
	6	6	0	0	0	0	0	6	0	0	6
	7	5	0	0	0	0	0	0	5	0	5
	%		100.0	.0	.0	.0	.0	.0	.0	.0	100.0
		2	.0	100.0	.0	.0	.0	.0	.0	.0	100.0
		3	.0	.0	100.0	.0	.0	.0	.0	.0	100.0
		4	.0	.0	.0	100.0	.0	.0	.0	.0	100.0
		5	.0	.0	.0	.0	100.0	.0	.0	.0	100.0
		6	.0	.0	.0	.0	.0	100.0	.0	.0	100.0
		7	.0	.0	.0	.0	.0	.0	100.0	.0	100.0

a. 100.0% of original grouped cases correctly classified.

由表 3 可看出，以已知樣品做區別分析，分類結果正確率可達 100%。此方式是否可以廣泛用於任何人參藥材，甚至人參加工製品，有待進一步驗證。

此外，人參之區別分析，7 各品種得 6 個典型區別函數，各區別函數係數及特徵值如下：

表 8 人參典型區別函數係數

Canonical Discriminant Function Coefficients

	Function					
	1	2	3	4	5	6
Rb1	1.573	-.241	-.452	.784	.249	-.070
Rb2	-2.167	4.404	.409	3.271	.501	-.038
Rd	-2.046	.458	1.704	-1.381	-2.151	-.747
Rg1	1.024	.128	.236	-.069	.170	.049
mRb1	-2.048	-1.446	.831	.999	-.956	1.624
mRb2	5.093	4.776	.750	-4.846	2.472	4.834
mRc	-8.087	1.428	4.727	-5.170	4.274	-3.983
(Constant)	-1.748	-1.638	-2.925	-1.110	-.861	-.220

Unstandardized coefficients

表 9 人參典型區別函數特徵值

Eigenvalues

Function	Eigenvalue	% of Variance	Cumulative %	Canonical Correlation
1	78.230 ^a	78.8	78.8	.994
2	14.873 ^a	15.0	93.8	.968
3	4.340 ^a	4.4	98.2	.902
4	1.356 ^a	1.4	99.6	.759
5	.404 ^a	.4	100.0	.536
6	.014 ^a	.0	100.0	.119

a. First 6 canonical discriminant functions were used in the analysis.

結果顯示前兩個區別函數所累積的特徵值已達到 93.8% ，以函數 1 及函數 2 繪製各品種分布圖如下：

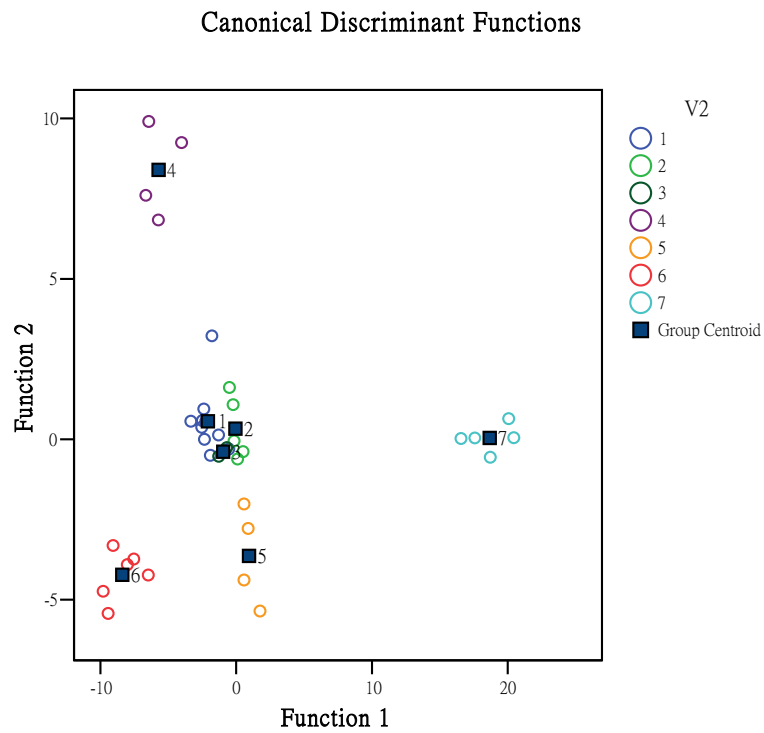


圖 39 各品種分布圖

(1 白參 2 紅參 3 石柱紅參 4 紅參鬚 5 野粉光 6 栽培粉光 7 三七人參)

由圖 39 之分布圖可看出分類效果良好，且同為 *Panax ginseng* C.A. Meyer 的白參(1)、紅參(2)、石柱紅參(3)在圖中分佈位置接近。因此本方式應可作為人參品種之辨識依據。

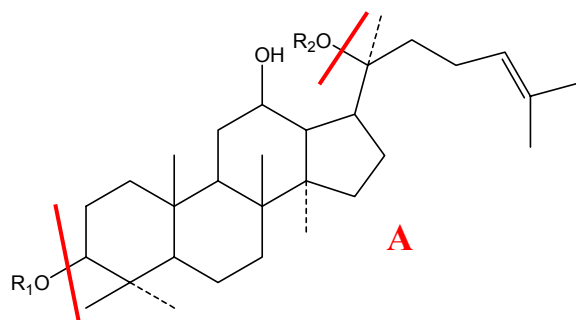
四、結論與應用

(一) 人參皂素分析方法建立及成分確認

1. 本研究參考莊武璋博士之論文，以其 HPLC 分析方法進行調整。使用磷酸鹽系統，流動相 A 為 20mM $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{CH}_3\text{CN}=80/20$ ，流動相 B 為 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}=80/20$ ，在 60 分鐘內可分離 12 種人參皂素，分離效果良好，可做為本研究之分析方法。
2. 由於本研究無標準品，因此使用對照文獻的方式，及以 LC-MS 之質譜圖來確認各成分。流動相 A 為 20mM $\text{CH}_3\text{COONH}_4/\text{CH}_3\text{CN}=80/20$ ，流動相 B 為 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}=80/20$ ，探討在此環境下各成分的質譜圖，可歸納出此類化合物的主要斷片：

(1) 20-*S*-Protopanaxadiol($R_1=R_2=H$)

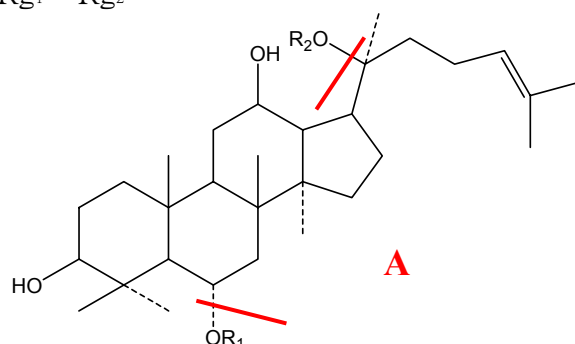
Rb₁、Rb₂、Rc、Rd



此類化合物在本實驗之條件下，質譜圖中的主要斷片來自 20-*S*-Protopanaxadiol 本體，即 $[\text{A}+\text{H}]^+$ (425)、 $[\text{A}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$ (407)。另有部份斷片來自-OR₁ 或-OR₂，常有 $[\text{ROH}+\text{NH}_4]^+$ 之斷片。

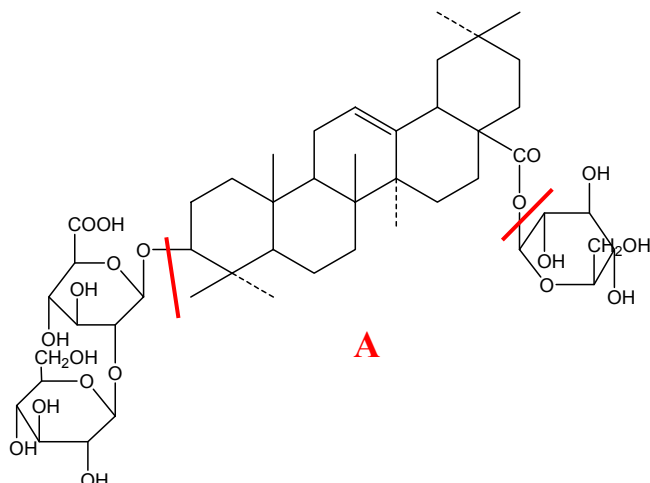
(2) 20-*S*-Protopanaxatriol($R_1=R_2=H$)

Re、Rf、Rg₁、Rg₂



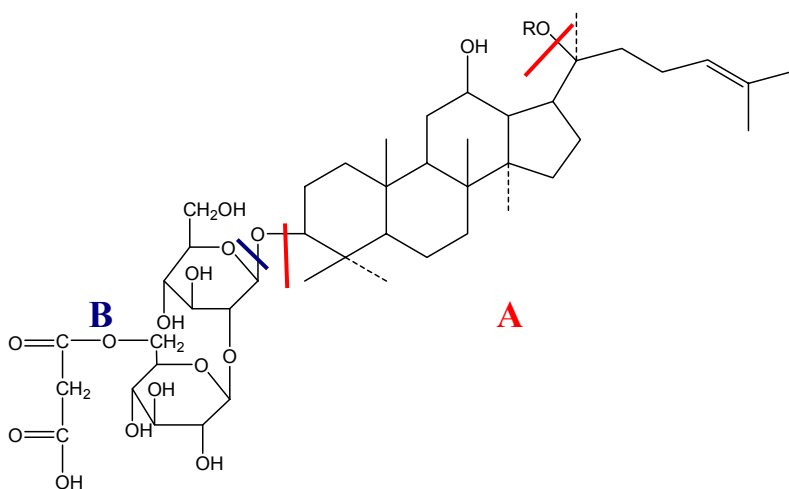
此類化合物在本實驗之條件下，質譜圖中的主要斷片來自 20-*S*-Protopanaxatriol 本體，即 $[\text{A}+\text{H}]^+$ (441)，及 $[\text{A}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$ (423)、 $[\text{A}-2\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$ (405)。另有部份斷片來自-OR₁ 或-OR₂，常有 $[\text{ROH}+\text{NH}_4]^+$ 之斷片。

(3) Oleanolic acid
Ro



此化合物在本實驗之條件下，質譜圖中的主要斷片來自即[A+H]⁺ (439)。

(4) Malonylginsenoside
mRb₁、mRb₂、mRc



此類化合物在本實驗之條件下，質譜圖中的主要斷片來自即[A+H]⁺ (425)，[A-H₂O+H]⁺ (407)，及[B+NH₄]⁺ (428)。另有部份斷片來自-OR，常有[ROH+H]⁺之斷片。

(二) 比較同批紅參參鬚經不同處理後之分析結果

1. 切段泡茶

以人參切段或人參飲片沖泡時，若不回沖至少應泡 30 分鐘。

2. 切段水煮

若要以加熱煮沸方式煮人參茶，煮滾後再煮 15-20 分鐘可得到較多的人參皂素。

3. 粉末泡茶

若以人參茶包沖泡人參茶時，不需浸泡太久即可飲用。

4. 切段酒浸

人參酒中之人參皂素比人參茶中多很多，浸泡越久含量越多。本研究最長時間為 4 週，人參皂素含量仍在持續增加。

5. 綜合比較

除人參酒中的人參皂素較人參茶中多出很多之外，若僅比較人參茶的不同製作方式，發現切段泡茶之萃出率明顯較低，而切段水煮及粉末泡茶萃出率相仿。

本研究目前僅完成上述之處理方式，將進一步探討其他不同處理方式之萃出率。如以不同酒精度之酒類製人參酒、以不同水溫沖泡人參茶、與其他常用藥材共煎煮，及與雞肉共同燉煮等等。

(三) 比較不同人參並建立辨識依據

本研究使用 SPSS 進行區別分析，將各品種人參之各成分面積比代入，進行統計，得到 7 個品種之分類函數。此分類函數之計算結果可代表某樣品屬於該品種之機率，因此只要將未知品種之人參樣品代入分類函數，即可判斷其品種。由已知樣品進行驗證，正確預測率為 100 %。

本研究目前僅計算出各品種之分類函數，並以已知品種之樣品進行驗證。此分類函數是否能廣泛用於各種人參藥材，甚至是各種人參加工製品或含有人參之製劑，將進行進一步確認。

五、參考文獻

- [1] 莊武璋，中藥成份高效能液相層析研究，台北，國立台灣師範大學化學研究所博士論文，pp.8-30，pp.83-100，**1996**。
- [2] 吳健三，高效液相層析儀實務篇，第一版，台北，建吾企業股份有限公司，pp.30-33，**1991**。
- [3] V. J. Iribarne and B. A. Thomasm, *J. Chem. Phy.*, **1976**, *64*, 2287.
- [4] G. J. V. Berkel, S. A. McLuckey and G. L. Glish, *Anal. Chem.*, **1992**, *64*, 1586.
- [5] 陳順宇，多變量分析，台南，華泰書局，第四章，p.9，**2004**。
- [6] 張紹勳、張紹評、林秀娟，SPSS for windows-多變量統計分析，台北，松崗電腦圖書資料股份有限公司，第七章，p.3，**2003**。
- [8] Einax, J. W., Zwanziger, H. W., Geib, S., *Chemometrics in environmental analysis*, Germany, Chapter 4, p. 78, Weinheim, **1997**.

評語

研究內容豐富且完整。使用統計方式區別不同人參與設計亦很有實用價值，唯應加強對統計軟體之了解及數據之呈現。