



**NORMA PARA LOS PRODUCTOS A BASE DE GINSENG  
CODEX STAN 321-2015**

**Adoptado en 2015.**

Esta Norma sustituye la Norma regional CODEX STAN 295R-2009.

## 1. ÁMBITO DE APLICACIÓN

Esta Norma se aplica a los productos a base de ginseng según se definen en la sección 2, destinados al consumo directo, inclusive para fines de hostelería o para reenvasado en caso necesario. La presente norma se aplica a los productos a base de ginseng utilizados como alimentos o ingredientes alimentarios y no se aplica a los productos con fines medicinales<sup>1</sup>.

## 2. DESCRIPCIÓN

### 2.1 Definición del producto

Se entiende por producto a base de ginseng a aquel que está:

- (a) Elaborado de cualquier parte de las raíces frescas y sanas de ginseng, derivadas de las especies *Panax ginseng* C.A. Meyer o *P. quinquefolius* L., cultivadas con fines comerciales y utilizadas como alimentos.
- (b) Envasado de una forma que garantice la seguridad y las características nutricionales y de calidad de los productos.
- (c) Elaborado de forma correcta, sometido a operaciones tales como secado, cocción al vapor, cortado, pulverizado, extracción y concentración, de conformidad con lo estipulado en la sección 2.2.

### 2.2 Tipos de productos a base de ginseng

Los productos a los que se aplica la presente norma pueden ser como sigue:

#### 2.2.1 Ginseng desecado

El *ginseng desecado* se obtiene mediante un método apropiado de secado de las raíces de ginseng, como secado al sol, con aire caliente o mediante otros métodos de secado reconocidos, tal como se definen en la sección 2.1 (a). El producto se puede clasificar en distintos tipos, tales como el procedente de la raíz principal, el procedente de las raíces laterales, el que se presenta en polvo o en rodajas.

#### 2.2.2 Ginseng cocido al vapor desecado

El *ginseng cocido al vapor desecado* se obtiene cuando las raíces de ginseng definidas en la sección 2.1 (a) son preparadas mediante cocción al vapor y secadas según el método descrito en la sección 2.2.1. El producto se puede clasificar en distintos tipos, tales como el procedente de la raíz principal, el procedente de las raíces laterales, el que se presenta en polvo o en rodajas.

#### 2.2.3 Extracto de ginseng

El *extracto de ginseng* se obtiene extrayendo los componentes solubles de las raíces de ginseng tal como se define en la sección 2.1 (a) o el *ginseng desecado* tal como se define en la sección 2.2.1 con agua, etanol o la mezcla de ambos, filtrándolos y concentrándolos posteriormente. Este producto tiene un color pardo oscuro y una elevada viscosidad. El producto también se puede presentar en polvo obtenido mediante desecación por pulverización o por congelación.

#### 2.2.4 Extracto de ginseng cocido al vapor

El *extracto de ginseng cocido al vapor* se obtiene mediante extracción de los componentes solubles del *ginseng cocido al vapor desecado*, tal como se definen en la sección 2.2.2, utilizando agua, etanol o la mezcla de ambos, y filtrándolos y concentrándolos posteriormente. Este producto tiene un color pardo oscuro y una elevada viscosidad. El producto también se puede presentar en polvo obtenido mediante desecación por pulverización o por congelación.

## 2.3 Formas de presentación

Se permiten las formas de presentación siempre y cuando el producto cumpla con todos los requisitos pertinentes de la Norma y esté convenientemente descrito en la etiqueta para evitar inducir a error o engaño al consumidor.

## 3. FACTORES ESENCIALES DE COMPOSICIÓN Y CALIDAD

### 3.1 Composición

#### 3.1.1 Ingredientes básicos

Raíces de ginseng tal como se definen en la sección 2.1 (a).

---

<sup>1</sup> Algunos países también consideran al ginseng como un medicamento.

## 3.2 Criterios de calidad

### 3.2.1 Aroma, color y contenido de ginsenosido

Los productos a base de ginseng deberán tener un aroma, color y sabor normales y un contenido de ginsenosidos<sup>2</sup> característico de especies específicas de ginseng, así como estar exentos de materias extrañas.

### 3.2.2 Características químicas y físicas

#### 3.2.2.1 Ginseng desecado y ginseng cocido al vapor desecado

- (a) Contenido de humedad: 14,0% como máximo (en polvo: 9,0% como máximo).
- (b) Ceniza: 6,0% como máximo.
- (c) Extractos de n-butanol saturados de agua: 20 mg/g<sup>3</sup> como mínimo.
- (d) Ginsenosido Rb1: detectado cualitativamente.

Además, cuando se trate de productos fabricados a partir de *P. ginseng* C.A. Meyer, deberá también detectarse cualitativamente el ginsenosido Rf.

#### 3.2.2.2 Extracto de ginseng y extracto de ginseng cocido al vapor desecado

##### 3.2.2.2.1 Extracto de ginseng (líquido)

- (a) Materia seca: 60,0% como mínimo.
- (b) Materia seca no soluble en el agua: 3,0% como máximo.
- (c) Extractos de n-butanol saturados de agua: 40 mg/g<sup>3</sup> como mínimo.
- (d) Ginsenosido Rb1: detectado cualitativamente.

Además, cuando se trate de productos fabricados a partir de *P. ginseng* C.A. Meyer, deberá también detectarse cualitativamente el ginsenosido Rf.

##### 3.2.2.2.2 Extracto de ginseng (en polvo)

- (a) Contenido de humedad: 8,0% como máximo.
- (b) Materia seca no soluble en el agua: 3,0% como máximo.
- (c) Extractos de n-butanol saturados de agua: 60 mg/g<sup>3</sup> como mínimo.
- (d) Ginsenosido Rb1: detectado cualitativamente.

Además, cuando se trate de productos fabricados a partir de *P. ginseng* C.A. Meyer, deberá también detectarse cualitativamente el ginsenosido Rf.

## 3.3 Definición de defectos

Deberán aplicarse los siguientes defectos al ginseng desecado y al ginseng cocido al vapor desecado.

- (a) **Ginseng dañado por insectos:** Ginseng visiblemente dañado por insectos o que contenga insectos muertos.
- (b) **Ginseng mohoso:** Ginseng visiblemente afectado por moho.

## 3.4 Clasificación de envases “Defectuosos”

Los envases que no cumplan uno o más de los requisitos pertinentes de calidad que se establecen en las secciones 3.2 y 3.3 se considerarán “defectuosos”.

## 3.5 Aceptación del lote

Se considerará que un lote cumple los requisitos pertinentes de calidad a los que se hace referencia en las secciones 3.2 y 3.3 cuando el número de envases “defectuosos” tal como se definen en la sección 3.4 no sea mayor que el número de aceptación (c) del correspondiente plan de muestreo con un NCA de 6,5.

<sup>2</sup> El material constitutivo característico del ginseng es una mezcla compleja de saponinas, que suele denominarse ginsenosidos; se conocen más de 30 ginsenosidos. Uno de los ginsenosidos principales es el ginsenosido Rb1 o el ginsenosido Rf. El ginsenosido Rb1 se detecta en todas las especies de ginseng en grandes cantidades, mientras que el ginsenosido Rf se encuentra principalmente en *Panax ginseng* C.A. Meyer.

<sup>3</sup> Indicando el contenido de saponina bruta.

#### 4. ADITIVOS ALIMENTARIOS

No se permite el uso de aditivos en los productos a los que se aplica la presente norma.

#### 5. CONTAMINANTES

5.1 Los productos a los que se aplican las disposiciones de la presente Norma deberán cumplir con los niveles máximos de la *Norma General para los Contaminantes y las Toxinas presentes en los Alimentos y Piensos* (CODEX STAN 193-1995).

5.2 Los productos a los que se aplican las disposiciones de la presente Norma deberán cumplir con los límites máximos de plaguicidas establecidos por la Comisión del Codex Alimentarius.

#### 6. HIGIENE

6.1 Se recomienda que los productos regulados por las disposiciones de la presente Norma se preparen y manipulen de conformidad con las secciones apropiadas de los *Principios Generales de Higiene de los Alimentos* (CAC/RCP 1-1969) y otros textos pertinentes del Codex, tales como códigos de prácticas y códigos de prácticas de higiene.

6.2 El producto deberá ajustarse a los criterios microbiológicos establecidos de conformidad con los *Principios y directrices para el establecimiento y la aplicación de criterios microbiológicos relativos a los alimentos* (CAC/GL 21-1997).

#### 7. ETIQUETADO

Los productos regulados por las disposiciones de la presente Norma deberán etiquetarse de conformidad con la *Norma general para el etiquetado de los alimentos preenvasados* (CODEX STAN 1-1985). Todas las declaraciones de propiedades saludables deberán cumplir con las *Directrices para el uso de declaraciones nutricionales y saludables* (CAC/GL 23-1997), si fuera necesario.

Además, se aplicarán las siguientes disposiciones específicas:

##### 7.1 Denominación del producto

7.1.1 La denominación de los productos definidos en las secciones 2.2.1, 2.2.2, 2.2.3 y 2.2.4 será *ginseng desecado, ginseng cocido al vapor desecado, extracto de ginseng crudo y extracto de ginseng cocido al vapor*, respectivamente. En este caso, los productos fabricados con *P. ginseng* C.A. Meyer pueden denominarse *ginseng blanco, ginseng rojo, extracto de ginseng blanco y extracto de ginseng rojo*.

7.1.2 La forma de presentación deberá figurar en la etiqueta junto a, o muy cerca del, nombre del producto, para evitar inducir a error o que se engañe al consumidor.

##### 7.2 Nombre de la especie de ginseng

Todos los productos a base de ginseng deberán etiquetarse con el nombre científico o común del ginseng utilizado como materia de los mismos. Los nombres comunes de la especie de ginseng deberán declararse de conformidad con la legislación y costumbres del país donde se consume el producto, de manera que no se induzca a engaño al consumidor.

##### 7.3 País de origen

Deberá indicarse el país de origen del producto y/o de la materia prima, cuando su omisión pueda resultar engañosa o equívoca para el consumidor.

##### 7.4 Etiquetado de los envases no destinados a la venta al por menor

La información relativa a los envases no destinados a la venta al por menor deberá figurar en el envase o en los documentos que lo acompañen, excepto que el nombre del producto, la identificación del lote y el nombre y dirección del fabricante, el envasador, el distribuidor o el importador, así como las instrucciones para el almacenamiento, deberán aparecer en el envase. Sin embargo, la identificación del lote y el nombre y dirección del fabricante, el envasador, el distribuidor o el importador podrán sustituirse por una marca de identificación, a condición de que dicha marca sea claramente identificable en los documentos que lo acompañan.

##### 7.5 Etiquetado facultativo

Los productos deberán llevar en la etiqueta una indicación clara de que no están destinados a un uso medicinal, además de otros requisitos de etiquetado que estipule cualquier país en el que se distribuyan los productos a base de ginseng.

**8. MÉTODOS DE ANÁLISIS Y MUESTREO****8.1 Métodos de análisis**

DISPOSICIÓN	MÉTODO	PRINCIPIO	TIPO
Humedad	AOAC 925.45 B (Ginseng desecado) Cantidad de la muestra: 2 g AOAC 925.45 D (Extracto de ginseng) Cantidad de la muestra: 1,5 g (mezclado con 20 g de arena de mar)	Gravimetría	I
Materia seca	AOAC 925.45 B (Ginseng desecado) - calculado sustrayendo el contenido de agua del 100% Cantidad de la muestra: 2 g AOAC 925.45 D (Extracto de ginseng) - calculado sustrayendo el contenido de agua del 100% Cantidad de la muestra: 1,5 g (mezclado con 20 g de arena de mar)	Cálculo	I
Ceniza	AOAC 923.03	Gravimetría	I
Materia seca no soluble en el agua	descrito en el Anexo III	Gravimetría	I
Extractos de n-butanol saturados de agua	descrito en el Anexo IV	Gravimetría	I
Identificación de los ginsenosidos Rb1, [Rg1] y Rf	descrito en el Anexo V	TLC o HPLC	IV

**Referencias**

1. Procedimiento operativo normalizado (PON) para la determinación del contenido de humedad (adjuntada a la norma).
2. Procedimiento operativo normalizado (PON) para la determinación del contenido de ceniza (adjuntada a la norma).

## **ANEXO I**

### **Determinación del contenido de materia seca no soluble en el agua**

#### **1. ÁMBITO DE APLICACIÓN**

Este método se puede aplicar para el análisis del extracto de ginseng (forma líquida y en polvo).

#### **2. Principios**

Las muestras se disuelven en agua destilada y se centrifugan. Se retira el sobrenadante y el resto de la materia sólida se precipita y se seca. Su peso es el contenido de materia seca no soluble en agua.

#### **3. EQUIPOS Y APARATOS**

- 3.1 Centrífuga (con temperatura regulable).
- 3.2 Tubos de centrifuga para centrifugado.
- 3.3 Tubo separador de suero o micropipeta.
- 3.4 Estufa de secado con termostato (control de temperatura de  $\pm 1^\circ \text{C}$ )
- 3.5 Balanza electrónica (con una precisión de 0,1 mg).
- 3.6 Desecador (gel de sílice).
- 3.7 Pinzas.

#### **4. PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES**

- 4.1 Secar un tubo de centrifuga en una estufa de secado a  $105^\circ \text{C}$  durante 3 horas. Después del secado, colocar el tubo de centrifuga en un desecador, dejarlo a temperatura ambiente durante 30 minutos y luego registrar su peso.
- 4.2 Repetir el paso 4.1 del procedimiento hasta obtener un peso constante del tubo de centrifuga. Tener presente, sin embargo, que el tiempo de secado deberá ser de 1-2 horas.
- 4.3 Pesar con precisión aproximadamente 1 g de muestra y colocarla en el tubo de centrifuga de peso constante conocido<sup>4</sup>.
- 4.4 Agregar 15 ml de agua destilada al tubo de centrifuga que contiene la muestra para disolverla.
- 4.5 Centrifugar el tubo a temperatura ambiente a  $1.000 \times g$ <sup>5</sup> durante 15 minutos y a continuación quitar inmediatamente el sobrenadante usando un tubo separador de suero evitando tocar el precipitado separado. Es posible que no se pueda quitar por completo el sobrenadante, ya que es necesario dejar una pequeña cantidad para evitar la pérdida de materia seca en suspensión.
- 4.6 Repetir los pasos 4.4 y 4.5 del procedimiento otras dos veces con la materia seca que queda en el tubo de centrifuga.
- 4.7 Secar el tubo de centrifuga con la muestra remanente en una estufa de secado a  $105^\circ \text{C}$  durante 5 horas.
- 4.8 Después del secado, colocar el tubo de centrifuga en un desecador, dejarlo a temperatura ambiente durante 30 minutos y pesarlo a continuación.
- 4.9 Repetir los pasos 4.7 y 4.8 del procedimiento hasta obtener un peso constante del tubo de centrifuga que contiene la muestra. Tener presente, sin embargo, que el tiempo de secado deberá ser de 1-2 horas.
- 4.10 El contenido de materia seca no soluble en el agua se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Contenido de materia seca no soluble en el agua (\%)} = \frac{W_1 - W_0}{S}$$

$W_0$ : Peso del tubo de centrifuga (g)

$W_1$ : Peso del tubo de centrifuga con el residuo de materia seca después del secado (g)

S: Peso de la muestra (g)

<sup>4</sup> El peso constante es el menor valor de los pesos medidos sucesivamente cuando la diferencia de peso entre la medición actual del peso y la medición previa es menor de 2 mg.

<sup>5</sup>  $g = G \frac{M}{R^2}$  (g: aceleración de la gravedad, G: constante de gravedad, R: radio, M: masa)

## **ANEXO II**

### **Determinación del contenido de extractos de n-butanol saturados de agua**

#### **1. ÁMBITO DE APLICACIÓN**

Este método se puede aplicar para el análisis de ginseng desecado y de extractos de ginseng (formas líquidas y en polvo).

#### **2. PRINCIPIOS**

La saponina bruta se extrae de los productos de ginseng usando n-butanol saturado de agua como disolvente después de quitar los lípidos y carbohidratos no polares usando éter dietílico y agua destilada.

#### **3. EQUIPO Y APARATOS**

- 3.1 Embudo de decantación (250 ml).
- 3.2 Matraz redondo de fondo plano (200-300 ml).
- 3.3 Matraz Erlenmeyer (200-300 ml).
- 3.4 Tamiz estándar (Nº 80).
- 3.5 Papel de filtro (Nº 2).
- 3.6 Embudo de vidrio.
- 3.7 Agitador de embudos.
- 3.8 Evaporador rotatorio.
- 3.9 Baño de agua a temperatura constante.
- 3.10 Balanza electrónica (con una precisión de 0,1 mg).
- 3.11 Estufa de secado con termostato (control de temperatura  $\pm 1^{\circ}$  C).
- 3.12 Desecador (gel de sílice).
- 3.13 Triturador.
- 3.14 Pinzas.

#### **4. REACTIVOS**

- 4.1 n-butanol (superior a grado EP).
- 4.2 Éter dietílico (superior a grado EP).
- 4.3 Agua destilada.

#### **5. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE N-BUTANOL SATURADA DE AGUA**

- 5.1 Mezclar n-butanol y agua destilada en una proporción de 70:30.
- 5.2 Agitar suficientemente la mezcla y dejarla reposar hasta que la capa superior (capa de n-butanol saturado de agua) y la inferior (capa de agua) se separen por completo.
- 5.3 Después de alcanzada la separación completa, la capa de n-butanol saturado de agua se almacena en un envase con tapa para su uso posterior.

#### **6. PRETRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS**

Las muestras de ginseng desecado se pulverizan con un triturador y se pasan por un tamiz de malla 80 para uso en laboratorio. El extracto de ginseng se usa en el experimento en el estado en que se encuentre.

#### **7. PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES PARA EL GINSENG DESECADO**

- 7.1 Pesar con precisión aproximadamente 5 g de muestra y colocarla en un matraz redondo de fondo plano (A). Agregar luego 50 ml de la solución de n-butanol saturada de agua. Extraer por reflujo en un baño de agua a temperatura constante de 75-80° C durante 1 hora y dejar reposar durante 30 minutos.
- 7.2 Transferir la solución obtenida en el paso 7.1 a un embudo de decantación después de pasarla por papel de filtro.
- 7.3 Repetir los pasos 7.1 y 7.2 del procedimiento otras dos veces más para los restos sólidos en el matraz redondo de fondo plano (A).

- 7.4** Añadir 50 ml de agua destilada a la solución mezclada obtenida en los pasos 7.2-7.3 y luego agitar la solución con un agitador de embudos (durante aproximadamente 15 minutos). Dejar reposar hasta que la capa superior (capa de n-butanol saturado de agua) y la inferior (capa de agua) se separen por completo.
- 7.5** Transferir la capa superior (capa de n-butanol saturado de agua) a un matraz de fondo plano previamente pesado (B) y concentrar al vacío y secar (60° C) la muestra hasta eliminar el líquido por completo.
- 7.6** Añadir 50 ml de éter dietílico al matraz redondo de fondo plano (B) que contiene los precipitados y refluir nuevamente la muestra en un baño de agua a temperatura constante de 46° C durante 30 minutos.
- 7.7** Descartar el éter dietílico del matraz de fondo plano (B) haciendo pasar la muestra por papel de filtro y luego recolectar los precipitados del papel de filtro en un matraz de fondo plano (B) disolviéndolos con metanol.
- 7.8** Concentrar el contenido del matraz de fondo plano (B) hasta que desaparezca el olor del éter dietílico y del metanol.
- 7.9** Después de secar el matraz de fondo plano (B) en una estufa de secado a 105° C durante 1 hora, colocarlo en un desecador a temperatura ambiente, dejarlo reposar durante 1 hora y después pesarlo.
- 7.10** El contenido de n-butanol saturado de agua del ginseng desecado se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Extracto de n-butanol saturado de agua (mg/g)} = \frac{W_1 - W_0}{S}$$

$W_0$ : Peso del matraz (mg)

$W_1$ : Peso del matraz después de la concentración y el secado (mg)

S: Peso de la muestra (g)

## **8. PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES PARA EXTRACTOS DE GINSENG**

- 8.1** Pesar con precisión aproximadamente 2 g de muestra en un matraz Erlenmeyer, añadir 60 ml de agua destilada para disolver la muestra y luego transferirla a un embudo de decantación (A).
- 8.2** Añadir 60 ml de éter dietílico, agitar varias veces el embudo y, a continuación, eliminar el gas abriendo el tapón. Repetir 2-3 veces este paso 8.2.
- 8.3** Agitar el embudo de decantación lo suficiente en un agitador de embudos (aproximadamente 15 minutos) y luego dejar reposar hasta que la capa superior (capa de éter dietílico) y la capa inferior (capa de agua) se separen por completo.
- 8.4** Transferir la porción inferior (capa de agua) a otro embudo de decantación (B), añadir 60 ml de la solución de n-butanol saturada de agua, agitar el embudo bajo las mismas condiciones descritas en el paso 8.3, y dejar reposar hasta que las capas se separen por completo. El sobrenadante (capa de n-butanol saturado de agua) se recolecta (se recolecta de arriba de la superficie de límite) y se transfiere a otro matraz.
- \* En este momento, la capa inferior (capa de agua) se considera la capa de emulsión en los próximos dos pasos de separación, pero no en el paso final.
- 8.5** Repetir el paso 8.4 otras dos veces sobre la capa inferior (capa de agua) que quedó en el embudo de decantación (B). En el paso final de separación, el sobrenadante que incluye la emulsión se elimina lentamente, dejando sólo la capa superior, abriendo el pico del embudo de decantación.
- 8.6** Recolectar la solución (sobrenadantes de cada paso de separación) obtenida con los pasos 8.4-8.6 en el embudo de decantación (B), añadir 50 ml de agua destilada y agitar el embudo bajo las mismas condiciones descritas en (c). Dejar reposar luego hasta que la capa superior (capa de n-butanol) y la inferior (capa de agua) se separen por completo.
- 8.7** Transferir el sobrenadante (capa de n-butanol) al matraz de fondo plano previamente pesado y concentrarlo al vacío (60° C) hasta eliminar completamente el líquido.
- 8.8** Secar el matraz de fondo plano en una estufa de secado a 105 C durante 1 hora y luego colocarlo en un desecador a temperatura ambiente. Dejarlo reposar durante 1 hora y pesarlo a continuación.
- 8.9** Calcular el contenido de n-butanol saturado de agua en el extracto de ginseng usando el mismo método descrito en el paso 7.10.



**ANEXO III****Identificación de ginsenosidos Rb<sub>1</sub> y Rf**

Los ginsenosidos en productos a base de ginseng pueden identificarse mediante cromatografía en capa fina (TLC) o cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC).

**1. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE MUESTRA**

El extracto seco de 1-butanol obtenido de acuerdo con el método para medir el extracto de n-butanol saturado de agua en el Anexo IV se disuelve por completo en 10 ml de metanol y luego se pasa por un filtro de membrana de 0,45 µm.

**2. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN ESTÁNDAR**

Las sustancias de referencia de ginsenosido Rb<sub>1</sub> y ginsenosido Rf se disuelven en metanol a concentraciones del 0,2% y, a continuación, se filtran las soluciones a través de un filtro de membrana de 0,45 µm.

**3. IDENTIFICACIÓN****3.1 Cromatografía en capa fina (TLC)****3.1.1 Preparación del disolvente para revelado**

- (a) Mezclar n-butanol:etilacetato:agua en una proporción de 50:10:40 (A), o cloroformo:metanol:agua en una proporción de 65:35:10 (B) en un embudo de decantación.
- (b) Agitar suficientemente el embudo y dejarlo reposar hasta que el disolvente se separe por completo.
- (c) Recolectar sólo la capa superior cuando se use el disolvente (A) como disolvente para revelado y sólo la capa inferior cuando se use el disolvente (B) y almacenar las capas para su uso posterior. Recolectar de arriba (A) o de abajo (B) de la superficie límite del disolvente pertinente cuando cada disolvente quede separado y almacenado para aumentar la pureza del disolvente para revelado.

**3.1.2. Cámara para revelado**

- (a) Usar una cámara para revelado con tapa (la cámara para revelado queda completamente sellada aplicando glicerina, etc.).
- (b) Fijar papel de filtro en los lados y la parte posterior del interior de la cámara para revelado y embeberlo con el disolvente para revelado.
- (c) Colocar lentamente el disolvente para revelado en la cámara para revelado (aproximadamente hasta la mitad de la línea de comienzo de la placa de TLC).
- (d) Colocar la tapa y dejarla hasta que el interior de la cámara para revelado quede suficientemente saturada (30 minutos).

**3.1.3 Preparación de la TLC**

- (a) La placa de TLC se corta en trozos adecuados de más de 10 cm de largo y con el ancho suficiente para que pueda alojar el número de muestras necesario para identificar los ginsenosidos.
- (b) Colocar la placa en una estufa de secado limpia y secarla a 110° C durante 10-15 minutos antes de usar.
- (c) Trazar una línea (línea de comienzo) a 1 cm de la base de la placa de TLC y marcar los puntos para colocar las muestras. A continuación, trazar una línea (línea de terminación) exactamente a 8 cm de la línea de comienzo.

**3.1.4. Identificación mediante TLC**

- (a) Se colocan muestras de cinco microlitros de las referencias de ginsenosidos y las soluciones de muestra preparadas en la forma antes descrita mientras se las seca con un secador. Cada muestra de 5 µl se coloca dividiéndola cuidadosamente en varias gotas sin raspar el gel de sílice de la placa de TLC y no en una sola gota.
- (b) Después de completar el goteo, secar la placa de TLC con un secador.
- (c) Colocar la placa de TLC en una cámara para revelado con su línea de comienzo en la base y revelar las muestras.
- (d) Cuando el disolvente para revelado alcanza la línea de terminación, se retira la placa de TLC y se la seca con un secador.

- (e) Pulverizar uniformemente una solución de ácido sulfúrico al 10% sobre la placa de TLC.
- (f) Colocar la placa en un secador a 110° C durante 5-10 minutos para el revelado de los colores.
- (g) Comparar los valores  $R_f$  y los colores de las sustancias separadas de la muestra con los de las referencias de ginsenosidos para identificar los ginsenosidos pertinentes en los productos a base de ginseng.

$$R_f = \frac{\text{distancia recorrida por la solución de muestra}}{\text{distancia recorrida por el disolvente}}$$

### 3.2 Cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC)

La solución de muestra preparada de acuerdo con la descripción precedente y las referencias de ginsenosidos se analizan usando HPLC bajo las condiciones que se describen a continuación. Los ginsenosidos en las soluciones de muestra se pueden identificar comparando sus tiempos de retención con los picos exhibidos por los ginsenosidos en las sustancias de referencia.

<Condiciones operativas>

- (a) Columna: columna ODS
  - (b) Detector: UV (203 nm) o ELSD
  - (c) Eluente
    - UV: acetonitrilo:agua (30:70, v/v)-
    - ELSD: acetonitrilo:agua:isopropanol (94.9:5.0:0.1, v/v/v)
  - (d) Velocidad de flujo: 1,0 ml/min~2,0 ml/min
- ※ Las condiciones analíticas se pueden ajustar de acuerdo con las condiciones del laboratorio, pero los picos de  $R_{b1}$  y  $R_f$  en el cromatograma NO deben localizarse en los primeros 5 minutos NI en los últimos 5 minutos del tiempo de retención.

**Referencia 1****Procedimiento operativo estándar para la determinación de humedad****1. ALCANCE DE LA APLICACIÓN**

Este método se puede aplicar para el análisis de ginseng desecado y de extracto de ginseng.

**2. PRINCIPIOS**

Se asume que la humedad es el único componente volátil en los alimentos. Cuando la presión del vapor de agua en el alimento aumenta por calentamiento, la de las áreas vecinas se reduce en relación con la del alimento. La humedad en una muestra de alimento se puede evaporar por completo durante el calentamiento a 105° C sin que se produzca cambio químico alguno.

**3. EQUIPO Y APARATOS**

**3.1** Frasco de pesada con tapón.

**3.2** Varilla de vidrio (Debe sobresalir por lo menos 1,5 cm de la superficie de la arena de mar cuando se la inserta en un ángulo de 45° en un frasco de pesada que contiene 20 g de arena de mar).

**3.3** Estufa de secado con termostato (control de temperatura  $\pm 1^{\circ}$  C).

**3.4** Balanza electrónica (con una precisión de 0,1 mg).

**3.5** Arena de mar (malla 20-35).

**3.6** Desecador (gel de sílice).

**3.7** Triturador.

**3.8** Pinzas.

**4. PRETRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS**

Las muestras de ginseng desecado se pulverizan con un triturador para obtener partículas de aproximadamente 3 mm para el experimento. El extracto de ginseng se usa en el experimento en el estado en que se encuentra.

**5. PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES - GINSENG DESECADO Y EXTRACTO DE GINSENG (EN POLVO)**

**5.1** Secar por separado un frasco de pesada y el tapón en una estufa de secado a 105° C durante 5 horas. Posteriormente, colocar el frasco firmemente cerrado con el tapón en un desecador, dejar reposar a temperatura ambiente durante 30 minutos y pesarlo a continuación.

**5.2** Repetir el paso 5.1 hasta obtener un peso constante del frasco y el tapón. Tener presente, sin embargo, que el tiempo de secado deberá ser de 1-2 horas.

**5.3** Pesar con exactitud aproximadamente 2 g de muestra y colocarla en el frasco de pesada con peso constante conocido.

**5.4** Secar el frasco de pesada con la muestra en una estufa de secado a 105° C durante 3 horas. El tapón se coloca ligeramente abierto para secar la muestra en el frasco de pesada.

**5.5** Colocar el frasco de pesada firmemente cerrado con el tapón en un desecador, dejarlo reposar a temperatura ambiente durante 30 minutos y pesarlo a continuación.

**5.6** Repetir los procedimientos 5.4 y 5.5 hasta obtener un peso constante del frasco que contiene la muestra. Tener presente, sin embargo, que el tiempo de secado deberá ser de 1-2 horas.

**5.7** El contenido de humedad se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Contenido de humedad en la muestra (\%)} = \frac{S - (W_1 - W_0)}{S} \times 100$$

$W_0$ :: Peso del frasco de pesada (g)

$W_1$ : Peso del frasco de pesada con la muestra después del secado (g)

S: Peso de la muestra (g)

**6. PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES – EXTRACTO DE GINSENG (LÍQUIDO)**

- 6.1** Secar el frasco de pesada que contiene 20 g de arena de mar y una varilla de vidrio en una estufa de secado a 105° C durante 5 horas.
- 6.2** Después del secado, colocar el frasco de pesada en un desecador, dejar reposar a temperatura ambiente durante 30 minutos y luego registrar el peso.
- 6.3** Repetir los procedimientos 6.1 y 6.2 hasta obtener un peso constante del frasco de pesada que contiene la sal de mar y la varilla de vidrio. Tener presente, sin embargo, que el tiempo de secado deberá ser de 1-2 horas.
- 6.4** Pesar con precisión aproximadamente 1,5 g de muestra y colocarla en el frasco de pesada de peso constante conocido. Luego mezclar bien la muestra con la arena de mar y distribuir uniformemente la mezcla en las paredes del frasco de pesada usando la varilla de vidrio.
- 6.5** El resto de los pasos analíticos y cálculos son los mismos que en los pasos 5.4 y 5.5 de la sección 5 anterior.

**Referencia 2****Procedimiento operativo estándar para la determinación del contenido de ceniza****1. ÁMBITO DE APLICACIÓN**

Este método se puede aplicar al análisis de muestras de ginseng desecado.

**2. PRINCIPIOS**

Las muestras se recolectan en un recipiente (crisol) para análisis del contenido de ceniza y se calcinan a 525-600° C para eliminar las sustancias orgánicas. El peso total mineral de la muestra remanente se considera el contenido de ceniza.

**3. EQUIPO Y APARATOS**

- 3.1** Crisol de porcelana con tapa.
- 3.2** Placa calentadora eléctrica.
- 3.3** Horno eléctrico con termostato (control de temperatura  $\pm 1^\circ$  C).
- 3.4** Balanza electrónica (con una precisión de 0,1 mg).
- 3.5** Desecador (gel de sílice).
- 3.6** Triturador.
- 3.7** Pinzas.

**4. PRETRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS**

Las muestras de ginseng desecado se pulverizan con un triturador para obtener partículas de aproximadamente 3 mm para el experimento.

**5. PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES**

- 5.1** Calentar un crisol de porcelana limpio en un horno eléctrico a 550° C durante 3 horas. Dejarlo reposar a temperatura ambiente durante 1 hora y pesarlo a continuación.
- 5.2** Repetir el paso 5.1 hasta obtener un peso constante. Tener presente, sin embargo, que el tiempo de incineración deberá ser de 1-2 horas.
- 5.3** Pesar con precisión aproximadamente 3 g de muestra en el crisol de porcelana de peso constante conocido.
- 5.4** Colocar el crisol de porcelana con la muestra en un horno eléctrico a 550° C e incinerar la muestra calentando el crisol con la tapa colocada hasta que se formen cenizas de color blanco o blanco grisáceo brillante.
- 5.5** Una vez finalizado el proceso de incineración, colocar el crisol de porcelana con la muestra en un desecador, dejarlo reposar a temperatura ambiente durante 1 hora y pesarlo a continuación.
- 5.6** Repetir los pasos 5.4 a 5.5 hasta obtener un peso constante del crisol que contiene la muestra. Tener presente, sin embargo, que el tiempo para la incineración deberá ser de 1-2 horas.
- 5.7** El contenido de ceniza se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Contenido de cenizas en la muestra (\%)} = \frac{W_2 - W_1}{S} \times 100$$

$W_1$ : Peso del crisol de porcelana antes de la incineración (g)

$W_2$ : Peso del crisol de porcelana después de la incineración (g)

S: Peso de la muestra (g)