ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 55488— 2013

ПРОПОЛИС

Метод определения полифенолов

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2014

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Обществом с ограниченной ответственностью Центр исследований и сертификации «Федерал» (ООО Центр «Федерал»)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 432 «Пчеловодство»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 28 июня 2013 г. № 368–ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Правила применения настоящего стандарта установлены в ГОСТ Р 1.0—2012 (раздел 8). Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячном формационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (gost.ru)

© Стандартинформ, 2014

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Поправка к ГОСТ Р 55488—2013 Прополис. Метод определения полифенолов

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Раздел 2	ГОСТ 12.1.019—2009	ГОСТ Р 12.1.019—2009

(ИУС № 5 2015 г.)

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ПРОПОЛИС
Метод определения полифенолов

Propolis. Method for the determination of polyphenols

Дата введения —2015—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на прополис и устанавливает метод определения суммарного содержания полифенольных соединений водно-спиртового экстракта прополиса модифицированным методом Фолина-Чокальтеу в пересчете на галловую кислоту.

Требования к контролируемому показателю установлены в ГОСТ 28886.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 12.1.004–91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования

ГОСТ 12.1.007–76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.019–2009 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 12.4.009–83 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание

ГОСТ 12.4.021–75 Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования

ГОСТ 83–79 Реактивы. Натрий углекислый. Технические условия

ГОСТ 1770–74 (ИСО 1042–83, ИСО 4788–80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 3118–77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 3309–84 Часы настольные и настенные балансовые механические. Общие технические условия

ГОСТ 4109–79 Реактивы. Бром. Технические условия

ГОСТ 6552–80 Реактивы. Кислота ортофосфорная. Технические условия

ГОСТ 6709–72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 10931–74 Реактивы. Натрий молибденовокислый 2-водный. Технические условия

ГОСТ 12026–76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 14919–83 Электроплиты, электроплитки и жарочные электрошкафы бытовые. Общие технические условия

ГОСТ 18289–78 Реактивы. Натрий вольфрамовокислый 2-водный. Технические условия

ГОСТ 25336–82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 27752–88 Часы электронно-механические кварцевые настольные, настен-ные и часы-будильники. Общие технические условия

ГОСТ 28886–90 Прополис. Технические условия

ГОСТ 29227–91 (ИСО 835-1–81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ Р ИСО 5725-1–2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения

ГОСТ Р ИСО 5725-6–2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

ГОСТ Р 51652–2000 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия

Издание официальное

ГОСТ Р 52001–2002 Пчеловодство. Термины и определения

ГОСТ Р 53228–2008 Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологичес-кие и технические требования. Испытания

Примечание – При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования – на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии по стандартизации в сети Интернет или по ежегодно издаваемому информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана недатированная ссылка, то рекомендуется использовать действующую версию этого стандарта с учетом всех внесенных в данную версию изменений. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, то рекомендуется использовать версию этого стандарта с указанным выше годом утверждения (принятия). Если после утверждения настоящего стандарта в ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение рекомендуется применять без учета данного изменения, Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, рекомендуется применять в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены термины по ГОСТ Р 52001, ГОСТ Р ИСО 5725-1.

4 Требования безопасности проведения работ

При проведении измерений необходимо соблюдать требования пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, требования безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009.

5 Отбор пробы

Отбор пробы – по ГОСТ 28886.

6 Сущность метода

Метод основан на реакции окисления полифенольных соединений водно-спиртового экстракта прополиса реактивом Фолина-Чокальтеу и последующим фотометрированием образующейся «сини» при длине волны 765 нм. В качестве внутреннего стандарта используют галловую кислоту.

7 Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы и реактивы

7.1 Спектрофотометр, снабженный светофильтром с максимумом пропускания при длине волны 800 нм и кюветами с четырьмя прозрачными стенками и длиной оптического пути 10 мм.

7.2 Весы по ГОСТ Р 53228 с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания не более ± 0,1 мг.

7.3 Термостат, водяная баня или другое устройство, позволяющее производить равномерный нагрев до температуры 100 °С.

7.4 Электроплитка по ГОСТ 14919.

7.5 Часы механические настенные 2-го класса точности по ГОСТ 3309 или электронно-механические по ГОСТ 27752.

7.6 Холодильник ХШ-1-400-29/32 ХС по ГОСТ 25336.

7.7 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

7.8 Цилиндры мерные 1-50(500, 1000)-2 по ГОСТ 1770.

7.9 Колбы мерные 1(2)-100(500, 1000)-2(ПМ) по ГОСТ 1770.

7.10 Пипетки 1-2-1-1(2, 5, 10, 25) по ГОСТ 29227.

7.11 Колбы Кн 1(2)-100(750)-14/23(29/32), К-1(2)-1000-29/32 ТХС по ГОСТ 25336.

7.12 Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.

7.13 Натрий вольфрамовокислый 2-водный по ГОСТ 18289, х. ч.
7.14 Натрий молибденовокислый 2-водный по ГОСТ 10931, х. ч.
7.15 Кислота соляная по ГОСТ 3118, х. ч.
7.16 Бром по ГОСТ 4109, х. ч.
7.17 Кислота ортофосфорная по ГОСТ 6552, х. ч.
7.18 Натрий углекислый по ГОСТ 83, х. ч.
7.19 Спирт этиловый ректификованный по ГОСТ Р 51652, «люкс».
7.20 Галловая кислота, безводная, с содержанием основного вещества не менее 98 %.
7.21 Склянка из темного стекла со шлифом.
7.22 Фолина-Чокальтеу фенольный реагент.
7.23 Литий сернокислый, х. ч.

Допускается использование других средств измерений, вспомогательного оборудования по метрологическим, техническим характеристикам не хуже указанных в настоящем стандарте.

Допускается использование других реактивов по качеству и чистоте не ниже вышеуказанных.

8 Подготовка к испытаниям

8.1 Приготовление водного раствора этилового спирта с массовой долей 70 %

В цилиндр вместимостью 1000 см^3 по ГОСТ 1770 вносят 730 см^3 этилового спирта по ГОСТ Р 51652. Объем раствора доводят дистиллированной водой по ГОСТ 6709 до 1000 см^3.

8.2 Приготовление водно-спиртового экстракта прополиса

В коническую колбу вместимостью 100 см^3 по ГОСТ 25336 вносят прополис массой (1,0 ± 0,1) г и 30 см^3 водного раствора этилового спирта, приготовленного по 8.1. Выдерживают при комнатной температуре в течение 24 ч. Содержимое колбы сливают с осадка и фильтруют через бумажный складчатый фильтр по 7.12 в мерную колбу вместимостью 100 см^3 по ГОСТ 1770. Процедуру экстракции прополиса повторяют еще раз с таким же объемом водного раствора этилового спирта. Осадок промывают 10 см^3 водного раствора этилового спирта. Фильтрат доводят до метки водным раствором этилового спирта.

Водно-спиртовый экстракт прополиса хранят в темном месте при температуре не выше 25 °С.

8.3 Приготовление реактива Фолина-Чокальтеу

В круглодонной колбе вместимостью 1000 см^3 по ГОСТ 25336 растворяют натрий вольфрамовокислый по ГОСТ 18289 массой (50,00 ± 0,01) г и натрий молибденовокислый по ГОСТ 10931 массой (12,25 ± 0,01) г в 350 см^3 дистиллированной воды. Добавляют 25 см^3 ортофосфорной кислоты по ГОСТ 6552 и 50 см^3 концентрированной соляной кислоты по ГОСТ 3118. Колбу соединяют с обратным холодильником по ГОСТ 25336 и кипятят на водяной бане по 7.3 в течение 10 ч. Затем добавляют (75,00 ± 0,01) г сернокислого лития по 7.23, 25 см^3 дистиллированной воды, перемешивают и добавляют 5 капель жидкого брома по ГОСТ 4109, перемешивают. Для удаления избытка брома кипятят 15 мин без холодильника и снова перемешивают. Охлаждают до комнатной температуры,

фильтруют через бумажный складчатый фильтр в мерную колбу вместимостью 500 см^3 и доводят до метки дистиллированной водой. Работу проводят под тягой!

Реактив хранят в склянке вместимостью 500 см^3 по 7.21 при температуре 4 °С не более 3 мес.

8.4 Приготовление раствора натрия углекислого с массовой долей 20 %

В конической колбе вместимостью 750 см^3 растворяют натрий углекислый безводный по ГОСТ 83 массой (100,00 ± 0,01) г в 400 см^3 дистиллированной воды и доводят до кипения на электрической плитке по ГОСТ 14919. Охлаждают, фильтруют через бумажный складчатый фильтр в мерную колбу вместимостью 500 см^3 и доводят до метки дистиллированной водой.

8.5 Приготовление основного раствора галловой кислоты с массовой концентрацией 5 мг/см^3

В мерной колбе вместимостью 100 см^3 растворяют галловую кислоту по 7.20 массой (0,500 ± 0,001) г в 10 см^3 этилового спирта. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают.

Основной раствор хранят при температуре 4 °С в течение 14 суток.

8.6 Приготовление рабочих растворов галловой кислоты

В пять мерных колб вместимостью 100 см^3 последовательно добавляют 1; 2; 3; 5; 10 см^3 основного раствора галловой кислоты, приготовленного по 8.5. Объем растворов в колбах доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают. Массовая концентрация галловой кислоты составляет 0,05; 0,1; 0,15; 0,25; 0,5 мг/см^3, соответственно.

Рабочие растворы хранению не подлежат.

8.7 Построение градуировочного графика

В шесть мерных колб вместимостью 50 см^3 вносят по 1 см^3 рабочих растворов галловой кислоты, приготовленных по 8.6, и 10 см^3 дистиллированной воды, в каждую колбу добавляют 4 см^3 реактива Фолина-Чокальтеу по 7.22 или приготовленного по 8.3, 6 см^3 раствора натрия углекислого, приготовленного по 8.4, перемешивают и доводят до метки дистиллированной водой; в шестую колбу – контрольный раствор, добавляют 1 см^3 дистиллированной воды. Через 2 ч измеряют оптическую плотность растворов на спектрофотометре по 7.1 при длине волны 765 нм по отношению к контрольному раствору.

Выполняют два параллельных определения.

Для построения градуировочного графика берут среднеарифметическое значение результатов трех измерений оптической плотности каждого рабочего раствора галловой кислоты. Строят градуировочный график, откладывая на оси ординат значение массовой концентрации галловой кислоты, а на оси абсцисс – оптическую плотность.

Градуировочный график должен быть линейным.

Градуировочный график строят каждый раз перед проведением измерений.

9 Проведение испытаний

9.1 Условия измерений

Помещение лаборатории должно соответствовать санитарным правилам проектирования, оборудования, эксплуатации и содержания производственных и лабораторных помещений, предназначенных для проведения работ с веществами 1-го и 2-го классов опасности, органическими растворителями.

Аналитическая лаборатория должна быть оснащена вентиляционной системой согласно ГОСТ 12.4.021.

При выполнении измерений следует соблюдать следующие условия:

- температура окружающей среды .... от 15 ºС до 25 ºС;
- относительная влажность воздуха при температуре 25 °С.... не более 80 %;
- атмосферное давление .730 – 760 мм рт. ст.

9.2 В мерную колбу вместимостью 50 см^3 вносят 1 см^3 водно-спиртового экстракта прополиса, объем раствора в колбе доводят до метки этиловым спиртом.

9.3 В мерную колбу вместимостью 50 см^3 вносят 1 см^3 пробы, приготовленной по 9.2, и далее проводят испытания по 8.7.

10 Обработка и представление результатов испытаний

10.1 По градуировочному графику находят значение массовой концентрации галловой кислоты в растворе прополиса (C), мг/см^3.

10.2 Массовую концентрацию полифенолов X, г/кг в прополисе в пересчете на галловую кислоту, вычисляют по формуле

$$X = \frac{C \cdot 100 \cdot 50}{1 \cdot 1} \cdot 1000, \qquad (1)$$

где C – массовая концентрация галловой кислоты, найденная по градуировочному графику, мг/см^3;

100 – объем разведения, см^3;

50 – объем разведения, см^3;

1 – масса пробы прополиса, г;

1 – аликвота пробы, см^3;

1000 – коэффициент пересчета г в кг.

10.3 За результат испытаний принимают среднеарифметическое значение двух параллельных определений, полученных в условиях повторяемости, если абсолютное расхождение между параллельными определениями не превышает предела повторяемости r по ГОСТ Р ИСО 5725-6. Значение предела повторяемости r приведено в таблице 1.

Таблица 1

Диапазон измерений массовой концентрации $\overline{X}$, г/кг	Предел повторяемости r при P = 0,95, г/кг	Критический диапазон при трех измерениях $CR_{0,95}(3)$, г/кг	Предел воспроизводимости R при P = 0,95, г/кг	Границы абсолютной погрешности при P = 0,95 ±Δ, г/кг
От 1,0 до 10,0 включ.	$0,10\overline{X}$	$0,12\overline{X}$	$0,16\overline{X}$	$0,25\overline{X}$

10.4 При превышении предела повторяемости r целесообразно провести дополнительное определение и получить еще один результат. Если при этом абсолютное расхождение ($X_{макс} - X_{мин}$) результатов трех определений не превышает значения критического диапазона $CR_{0,95}(3)$, то в качестве окончательного результата принимают среднеарифметическое значение результатов трех определений. Значение критического диапазона $CR_{0,95}(3)$ приведено в таблице 1.

При невыполнении этого условия проводят повторные испытания.

10.5 Абсолютное расхождение между результатами испытаний, полученными в двух лабораториях в условиях воспроизводимости, не должно превышать предела воспроизводимости R по ГОСТ Р ИСО 5725-6. При выполнении этого условия приемлемы оба результата испытания, и в качестве окончательного результата может быть использовано их среднеарифметическое значение. Значение предела воспроизводимости R приведено в таблице 1.

10.6 Результат испытаний, округленный до первого десятичного знака, в документах, предусматривающих его использование, представляют в виде:

$$(\overline{X} \pm \Delta),\ \text{г/кг, при } P = 0,95,$$

где $\overline{X}$ – среднеарифметическое значение содержания полифенолов, г/кг;

±Δ – границы абсолютной погрешности результатов определений, г/кг.

10.7 Границы абсолютной погрешности результатов испытаний, полученных согласно данному методу, при доверительной вероятности P = 0,95 $\Delta = \pm 0,25\overline{X}$ г/кг.

УДК 638.135:006.354 ОКС 65.140

Ключевые слова: прополис, полифенольные соединения, 70%–ный водно-спиртовый экстракт прополиса, метрологические характеристики

Подписано в печать 01.10.2014. Форм ат 60х84 1/8.

Усл. печ. л. 0,93. Тираж 45 экз. Зак. 3829.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»

123995 Москва, Гранатный пер., 4.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru