ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 55312— 2012

ПРОПОЛИС

Метод определения флавоноидных соединений

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2014

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Государственным научным учреждением «Научно-исследовательский институт пчеловодства» Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ НИИ пчеловодства Россельхозакадемии)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 432 «Пчеловодство»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 29 ноября 2012 г. № 1580-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 информационном 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

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ПРОПОЛИС

Метод определения флавоноидных соединений

Propolis. Method for determination of flavonoid compositions

Дата введения — 2014—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на прополис и устанавливает метод определения флавоноидных соединений.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

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

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

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

ГОСТ Р 52001—2002 Пчеловодство. Термины и определения

ГОСТ Р 53228—2008 Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования.

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

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

ГОСТ 12.4.103—83 Система стандартов безопасности труда. Одежда специальная защитная, средства индивидуальной защиты ног и рук. Классификация

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

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

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

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

ГОСТ 28886—90 Прополис. Технические условия

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

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 в сети Интернет или по ежегодно издаваемому информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и

Издание официальное

по соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

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

4 Отбор и подготовка пробы

4.1 Отбор проб — по ГОСТ 28886 (подраздел 3.1).

4.2 Прополис в комках, брикетах измельчают. Анализируемую пробу прополиса тщательно перемешивают не менее 3 мин.

5 Сущность метода

Метод основан на спектрофотометрическом определении оптической плотности комплексов, образующихся при взаимодействии флавоноидов, входящих в состав продуктов пчеловодства, с хлоридом алюминия. В качестве стандарта служит рутин. Определение массовой доли суммы флавоноидов в продуктах пчеловодства в пересчете на рутин следует проводить в интервале длин волн 408—420 нм.

6 Требования безопасности проведения работ

6.1 При проведении измерений необходимо соблюдать требования электробезопасности при работе с приборами по ГОСТ Р 12.1.019.

6.2 Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009.

6.3 При выполнении анализов необходимо выполнять требования безопасности при работе с реактивами по ГОСТ 12.4.103.

6.4 К проведению анализов допускаются лица, имеющие квалификацию не ниже среднего технического образования, владеющие навыками проведения анализов и изучившие инструкции по эксплуатации используемой аппаратуры.

7 Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы и реактивы

7.1 Весы лабораторные с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания ±0,001 г по ГОСТ Р 53228.

7.2 Спектрофотометр, позволяющий проводить измерение оптической плотности при длине волны 390—420 нм.

7.3 Кюветы кварцевые с толщиной слоя раствора, поглощающего свет, равной 1 см.

7.4 Горелка газовая, электроплитка или колбонагреватель по ГОСТ 14919.

7.5 Колбы мерные наливные 2-25-1, 2-50-1, 2-100-1 по ГОСТ 1770.

7.6 Колбы конические Кн-1-100-14/23, Кн-1-250-14/23 по ГОСТ 25336.

7.7 Воронки В-36-60 или В-36-80 по ГОСТ 25336.

7.8 Механические дозаторы 1-канальные с варьируемыми объемами дозирования 100-1000 мкл, 1—5 $см^3$ 1-го класса точности.

7.9 Пипетки 2-1-1-1, 2-2-25, 2-2-5 по ГОСТ 29227.

7.10 Баня водяная лабораторная с электрическим или огневым подогревом.

7.11 Цилиндры мерные 1-100 по ГОСТ 1770.

7.12 Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

7.13 Спирт этиловый ректификованный по ГОСТ Р 51652, с массовой долей 96 %.

7.14 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

7.15 Алюминий хлористый 6-водный [$AlCl_3 \cdot 6H_2O$], с содержанием основного вещества не ниже 99 %, Fluka, каталожный номер 7784-13-6.

7.16 Рутин, ГСО.

Допускается применение других средств измерения с метрологическими характеристиками и оборудования с техническими характеристиками не хуже, а также реактивов по качеству не ниже вышеуказанных.

8 Подготовка к выполнению измерений

8.1 Приготовление 5 % раствора хлористого алюминия в 60 %-ном этаноле

В коническую колбу вместимостью 250 см^3 по ГОСТ 25336 взвешивают (5,000 ± 0,001) г хлористого алюминия, растворяют в (50,0 ± 0,5) г 60 %-ного этанола, массу раствора доводят до (100,00 ± 0,01) г 60 %-ным этанолом и тщательно перемешивают. Срок хранения раствора — не более одного года.

8.2 Приготовление раствора ГСО рутина

(0,050 ± 0,001) г ГСО рутина взвешивают, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50 см^3 по ГОСТ 1770, добавляют 40 см^3 60 %-ного этанола, нагревают до 50 °С—60 °С и выдерживают до полного растворения рутина. Затем охлаждают до комнатной температуры, доводят до метки 60 %-ным этанолом и тщательно перемешивают.

8.3 Построение калибровочного графика

В две мерные колбы вместимостью 25 см^3 по ГОСТ 1770 дозатором вносят по 0,2 (0,4; 0,6; 0,8, 1,0 и 1,2) см^3 раствора рутина по 6.7.2.2 концентрацией 1 мг/см^3; в одну колбу добавляют 4 см^3 раствора хлористого алюминия по 6.7.2.1 (рабочий раствор), доводят до метки обе колбы 60 %-ным этанолом и тщательно перемешивают. Через 30 мин измеряют оптическую плотность рабочих растворов относительно растворов сравнения (рутин без хлористого алюминия) при длине волны максимума поглощения в интервале 390—420 нм в кюветах с толщиной оптического слоя 1 см.

При построении калибровочного графика на оси абсцисс откладывают количество рутина в миллиграммах, содержащегося в 25 см^3 рабочего раствора, а по оси ординат — максимальное значение оптической плотности в указанном диапазоне.

Калибровочный график должен быть линейным и проходить через начало координат.

9 Проведение измерений

9.1 Подготовка пробы

(1,000 ± 0,001) г прополиса взвешивают в конической колбе вместимостью 10 см^3 по ГОСТ 25336, добавляют (30,0 ± 0,5) см^3 60 %-ного этанола, колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин, периодически встряхивая для смывания частиц прополиса со стенок. Надосадочную жидкость фильтруют в мерную колбу вместимостью 100 см^3 так, чтобы частицы прополиса не попали на фильтр.

Экстракцию флавоноидов повторяют еще дважды в описанных выше условиях, прибавляя к остатку по (30,0 ± 0,1) см^3 60 %-ного этанола. Фильтраты объединяют, охлаждают до (20 ± 3) °С и доводят до метки (100,00 ± 0,01) см^3 60 %-ным этанолом.

9.2 Проведение испытания

В две мерные колбы вместимостью 25 см^3 дозатором вносят по (5,00 ± 0,01) см^3 экстракта по 6.7.2.4. В одну колбу (анализируемый раствор) добавляют (4,0 ± 0,1) см^3 раствора хлористого алюминия по 6.7.2.1, обе колбы доводят до метки 60 %-ным этанолом и тщательно перемешивают. Через 30 мин измеряют оптическую плотность анализируемого раствора относительно раствора сравнения (экстракт без хлористого алюминия) при длине волны максимума поглощения в интервале 390—420 нм в кюветах с толщиной оптического слоя 1 см.

По калибровочному графику, зная оптическую плотность анализируемого раствора, находят количество рутина в мг в 25 см^3 раствора.

10 Обработка и представление результатов испытаний

10.1 Массовую долю флавоноидных соединений (в пересчете на рутин) X_1, %, вычисляют по формуле

$$X_1 = C \cdot 100 \cdot 100 \cdot m \cdot 5, \quad (1)$$

где C — количество рутина в 25 см^3, найденное по калибровочному графику, мг;

100 — объем экстракта, см^3;
100 — пересчет в проценты, %;
m — масса прополиса, взятого для анализа, г;
5 — объем экстракта, взятого для анализа, см^3.

10.2 За окончательный результат определения флавоноидных соединений принимают среднеарифметическое значение двух параллельных измерений, полученных в условиях повторяемости, если выполняется условие приемлемости, рассчитанное по формуле

$$|X_1 - X_2| \le r, \quad (2)$$

где X_1 и X_2 — результаты двух параллельных определений флавоноидных соединений кислот, полученных в условиях повторяемости, %;
$r_{отн}$ — значение предела повторяемости, приведенное в таблице 1,%.

10.3 Расхождение между результатами определения флавоноидных соединений, полученными в двух лабораториях в условиях воспроизводимости, должно соответствовать условию приемлемости по формуле

$$|X_1 - X_2| \le R, \quad (3)$$

где X_1 и X_2 — результаты двух определений флавоноидных соединений, полученных в условиях воспроизводимости, %;
$R_{отн}$ — значение предела воспроизводимости, приведенное в таблице 1, %.

Таблица 1 — Диапазоны измерений, показатели точности и прецизионности метода определения флавоноидных соединений при доверительной вероятности $P = 0,95$

Наименование показателя	Диапазон измерений	Предел повторяемости $r_{отн}$, %	Предел воспроизводимости $R_{отн}$, %	Показатель точности (границы относительной погрешности) ± δ, %
Массовая доля флавоноидных соединений (в пересчете на рутин)	0,1 до 10	2	8	6

10.4 Форма представления результатов

Результат содержания флавоноидных соединений (в пересчете на рутин) в документах, предусматривающих его использование, представляют в виде

$$(X_{ср} \pm \Delta)\ \%, \quad \text{при } P = 0,95,$$

где Δ — абсолютная погрешность результатов измерений, %, вычисляемая по формуле

$$\Delta = \delta \cdot X_{ср} \cdot 0,01 \text{ или } \Delta = \delta \cdot K_{ср} \cdot 0,01, \quad (4)$$

где δ — относительная погрешность измерений флавоноидных соединений по таблице 1, %.

10.5 Результаты испытаний оформляют протоколом.

УДК 638.178:006.354 ОКС 65.140 С52

Ключевые слова: прополис, флавоноидные соединения, в пересчете на рутин, метрологические характеристики

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *Е.В. Беспрозванная*
Корректор *Р.А. Ментова*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 20.06.2014. Подписано в печать 04.07.2014. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 0,93. Уч.-изд. л. 0,60. Тираж 106 экз. Зак. 2509.

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru