
Propolis d'abeille — Spécifications

Bee propolis — Specifications

iTeh Standards
(<https://standards.iteh.ai>)
Document Preview

[ISO 24381:2023](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ac9829da-0523-4ed8-8ba0-5b50f959b92d/iso-24381-2023)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ac9829da-0523-4ed8-8ba0-5b50f959b92d/iso-24381-2023>



iTeh Standards
(<https://standards.iteh.ai>)
Document Preview

[ISO 24381:2023](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ac9829da-0523-4ed8-8ba0-5b50f959b92d/iso-24381-2023)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ac9829da-0523-4ed8-8ba0-5b50f959b92d/iso-24381-2023>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2023

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en œuvre, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie, ou la diffusion sur l'internet ou sur un intranet, sans autorisation écrite préalable. Une autorisation peut être demandée à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 401 • Ch. de Blandonnet 8
CH-1214 Vernier, Genève
Tél.: +41 22 749 01 11
E-mail: copyright@iso.org
Web: www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos	iv
Introduction	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Exigences	3
4.1 Classification des types de propolis brute	3
4.1.1 Propolis brune, tempérée, méditerranéenne et boréale de <i>Populus spp</i>	3
4.1.2 Propolis verte, tropicale de <i>Baccharis dracunculifolia</i>	3
4.1.3 Propolis rouges, tropicales de <i>Dalbergia</i> et <i>Clusia</i>	3
4.1.4 Autres types de propolis	3
4.2 Exigences physiques et chimiques	4
4.3 Exigences de traçabilité	5
5 Méthodes d'analyse	5
5.1 Réactifs	5
5.2 Prélèvement des échantillons	5
5.3 Préparation des échantillons	5
5.4 Méthodes d'analyse pour les exigences physiques et chimiques	5
6 Emballage, marquage, étiquetage, stockage et transport	5
6.1 Emballage	5
6.2 Marquage (étiquette et/ou certificat)	5
6.3 Étiquetage	5
6.4 Stockage et transport	6
Annexe A (normative) Substances de la propolis brute extractibles à l'éthanol (sous forme de matière sèche)	7
Annexe B (normative) Détermination de la perte au séchage	9
Annexe C (normative) Teneur en cendres de la propolis brute	11
Annexe D (normative) Substances de la propolis brute extractibles à l'éther de pétrole (sous forme de matière sèche)	13
Annexe E (normative) Teneur totale en composés phénoliques	15
Annexe F (normative) Teneur totale en flavonoïdes (méthode au chlorure d'aluminium)	18
Annexe G (normative) Teneur totale en flavonoïdes (méthode sur polyamide)	20
Annexe H (normative) Caractérisation chimique des polyphénols présents dans la propolis de peuplier — HPLC/MS	24
Annexe I (normative) Caractérisation chimique des polyphénols présents dans la propolis verte — HPLC/PDA	38
Annexe J (normative) Caractérisation chimique des polyphénols présents dans la propolis rouge par HPLC-PDA et HPLC-MS	43
Annexe K (normative) Détermination du pouvoir antioxydant par l'intermédiaire du DPPH	47

Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (IEC) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/IEC, Partie 1. Il convient, en particulier, de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/IEC, Partie 2 (voir www.iso.org/directives).

L'ISO attire l'attention sur le fait que la mise en application du présent document peut entraîner l'utilisation d'un ou de plusieurs brevets. L'ISO ne prend pas position quant à la preuve, à la validité et à l'applicabilité de tout droit de propriété revendiqué à cet égard. À la date de publication du présent document, l'ISO n'avait pas reçu notification qu'un ou plusieurs brevets pouvaient être nécessaires à sa mise en application. Toutefois, il y a lieu d'avertir les responsables de la mise en application du présent document que des informations plus récentes sont susceptibles de figurer dans la base de données de brevets, disponible à l'adresse www.iso.org/brevets. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de brevets.

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de la nature volontaire des normes, la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir www.iso.org/avant-propos.

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 19, *Produits apicoles*.

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information ou toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve à l'adresse www.iso.org/fr/members.html.

Introduction

La propolis est une substance résineuse produite par les abeilles ouvrières qui combinent des résines végétales et/ou des fragments de bourgeons nouvellement formés avec les sécrétions de leurs glandes salivaires et cirières.

La composition chimique de la propolis est très complexe. Des centaines de composants naturels tels que des flavonoïdes et des acides phénoliques ont été identifiés dans la propolis. Les différentes origines géographiques et végétales, les espèces d'abeilles, les méthodes de production, etc., ont un impact significatif sur la composition chimique de la propolis.

Pour les besoins du présent document, la propolis est subdivisée entre les types *Populus* (brune), *Baccharis* (verte) et *Dalbergia* (rouge) (sources primaires), tout en conservant la possibilité de couvrir d'autres types à l'avenir, par exemple *Araucaria* spp., *Betula* spp., *Castanea* spp., *Clusia* spp., *Cupressus* spp., *Eucalyptus* spp., *Macaranga* spp., *Symphonia* spp., et la propolis issue d'un mélange de plantes (cette liste n'est pas exhaustive). Seule la propolis produite par les abeilles *Apis mellifera* est couverte par le présent document.

La littérature scientifique fait majoritairement référence aux trois principaux types de propolis (brune, verte et rouge) parmi lesquels la propolis brune (*Populus*) et la propolis verte (*Baccharis*) sont les plus commercialisées à l'échelle internationale. Le présent document considère la composition chimique complexe de la propolis, et l'impact que les variations géographiques et d'espèces végétales, ainsi que les sous-espèces d'abeilles mellifères, ont sur la composition en composés majeurs, flavonoïdes et phénoliques de la propolis. La propolis est riche en polyphénols, particulièrement en flavonoïdes, en acides phénoliques et en leurs dérivés, qui peuvent être impliqués dans les activités biologiques. Les décisions prises au sujet des types, des méthodologies et des exigences inclus dans le présent document s'appuient sur la littérature scientifique disponible au moment de son élaboration.

Le présent document définit les termes, les définitions, la classification, les exigences relatives à la qualité, les exigences en matière d'authenticité, les modes opératoires d'analyse, les conditions de transport et de stockage et le marquage sur l'emballage. Il a pour objectif d'établir un document relatif à la classification et au contrôle qualité pour le commerce international de la propolis brute.

[ISO 24381:2023](https://standards.iteh.ai/standards/sist/ac9829da-0523-4ed8-8ba0-5b50f959b92d/iso-24381-2023)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ac9829da-0523-4ed8-8ba0-5b50f959b92d/iso-24381-2023>

Propolis d'abeille — Spécifications

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie les exigences relatives à la qualité, les méthodes d'analyse, ainsi que les conditions d'emballage, de marquage, d'étiquetage, de stockage et de transport de la propolis d'abeille.

Le présent document est applicable à la propolis récoltée dans les ruches d'abeilles *Apis mellifera*, c'est-à-dire à la propolis brute.

2 Références normatives

Les documents suivants sont cités dans le texte de sorte qu'ils constituent, pour tout ou partie de leur contenu, des exigences du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

ISO 22005, *Traçabilité de la chaîne alimentaire — Principes généraux et exigences fondamentales s'appliquant à la conception du système et à sa mise en œuvre*

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes:

— ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse <https://www.iso.org/obp>

— IEC Electropedia: disponible à l'adresse <https://www.electropedia.org/>

3.1

pouvoir antioxydant

capacité d'une substance à ralentir la détérioration par oxydation

3.2

teneur en cendres

partie incombustible restant après la combustion complète d'un échantillon de *propolis brute* (3.17)

3.3

exigence d'authenticité

exigence stipulant qu'il est interdit d'ajouter des résines, des extraits ou d'autres composés et/ou substances bioactives à la propolis brute

3.4

balsamique

relatif à ou contenant du baume

3.5

cire d'abeille

sécrétions d'abeilles mellifères comportant des mélanges d'hydrocarbures aliphatiques à chaîne longue substituée, contenant des alcanes, des esters alkyliques, des acides gras, des alcools primaires et secondaires, des diols, des cétones et des aldéhydes

3.6

contaminant

substance qui n'est pas ajoutée de manière intentionnelle à la propolis, dont la présence est liée à un processus tel que la production, la récolte, la fabrication, la transformation, la préparation, le traitement, le conditionnement, l'emballage, le transport ou la conservation du produit, ou à une contamination environnementale

3.7

substances de la propolis extractibles à l'éthanol (sous forme de matière sèche)

matière obtenue après un processus d'extraction complet utilisant de l'éthanol (à 80 % en fraction volumique) comme solvant d'extraction

Note 1 à l'article: Également appelée extrait de propolis pur, brut, balsamique et sec.

3.8

substances de la propolis extractibles à l'éther de pétrole (sous forme de matière sèche)

matière obtenue après un processus d'extraction complet utilisant de l'éther de pétrole comme solvant d'extraction

3.9

flavonoïdes

classe de métabolites secondaires des plantes et des champignons, qui possède comme structure générale un squelette de 15 atomes de carbone (abrégé C6-C3-C6), composée de deux cycles phényle (A et B) et d'un hétérocycle (C), et qui comprend les sous-groupes des flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, flavanols ou catéchines, anthocyanes et chalcones

3.10

récolte

processus mécanique utilisé pour récupérer la propolis brute dans la ruche où elle est déposée par les abeilles *Apis mellifera*

3.11

perte au séchage

quantité de toutes les substances volatiles présentes dans l'échantillon de propolis, y compris l'humidité, qui sont perdues lors d'un séchage à 105 °C pendant 1 h

3.12

acides phénoliques

acides carboxyliques dérivés de structures d'acide benzoïque ou cinnamique

3.13

plantes sources de propolis

plantes de différentes origines géographiques et botaniques, qui produisent des exsudats balsamiques résineux récoltés et transformés en *propolis* (3.15) dans la ruche par les abeilles *Apis mellifera*

3.14

polyphénols

molécules organiques naturelles très répandues dans le règne végétal, qui sont les principaux ingrédients actifs de la propolis, et qui sont caractérisées par la présence de plusieurs groupes phénoliques associés en structures complexes, dont certaines de masse moléculaire élevée

3.15

propolis

mélange balsamique résineux, exclusivement d'origine naturelle et végétale, récolté par les abeilles ouvrières de l'espèce *Apis mellifera* à partir de bourgeons nouvellement formés, de bourgeons de fleurs et d'exsudats de *plantes sources de propolis* (3.13) spécifiques, auquel les abeilles ajoutent leurs propres sécrétions, provenant principalement de leurs glandes salivaires et cirières, et que celles-ci utilisent pour protéger la santé des abeilles mellifères et de la colonie

3.16**extrait de propolis**

composants solubles dans des solvants généralement reconnus comme sans danger (GRAS) pour la consommation humaine, dérivés de la *propolis brute* (3.17), exempts de substances étrangères

3.17**propolis brute**

propolis produite par les abeilles *Apis mellifera*, récoltée dans la ruche, sans autre intervention extérieure

3.18**teneur totale en composés phénoliques**

quantité totale de tout composé présentant un groupe hydroxyle directement lié à un cycle benzénique

3.19**traçabilité**

capacité à suivre le déplacement de la propolis à travers une ou plusieurs étapes spécifiées de la production, de la transformation et de la distribution

4 Exigences**4.1 Classification des types de propolis brute****4.1.1 Propolis brune, tempérée, méditerranéenne et boréale de *Populus spp***

La propolis de peuplier peut être de couleur brun-jaune, brun-rouge, brune, jaune-brun, gris-brun, vert-brun ou gris-noir. Sa principale source botanique est *Populus spp*. Cependant, plusieurs autres sources botaniques peuvent être présentes. À une température comprise entre 20 °C et 24 °C, elle se présente sous forme de morceaux ou de brisures, et devient souple, malléable et collante si la température augmente au-delà de 30 °C. La propolis de peuplier possède une odeur aromatique, balsamique et résineuse caractéristique. Son goût est légèrement amer, un peu astringent et très légèrement piquant.

4.1.2 Propolis verte, tropicale de *Baccharis dracunculifolia*

La propolis du *Baccharis* est de couleur jaune-vert, verte, verdâtre, vert-brun et brune. Sa principale source botanique est *Baccharis dracunculifolia*. À une température comprise entre 20 °C et 24 °C, elle se présente sous forme de bandes et de brisures, et devient malléable à environ 25 °C. Elle possède une odeur aromatique épicée, boisée, résineuse caractéristique, et un fort goût amer et épicé.

4.1.3 Propolis rouges, tropicales de *Dalbergia* et *Clusia*

Les propolis de *Dalbergia* et *Clusia* sont de couleur rouge, jaune-rouge et brun-rouge. Leurs principales sources botaniques sont *Dalbergia ecastaphyllum*, *Symphonia globulifera* et *Clusia spp*. À des températures supérieures à 20 °C, elles deviennent malléables. Ces propolis possèdent une odeur aromatique et résineuse. Leur goût est aromatique et légèrement amer.

4.1.4 Autres types de propolis

La littérature scientifique actuelle ne fournit pas de données exhaustives pour caractériser entièrement les propriétés chimiques et biologiques d'autres propolis d'origine végétale différente afin de les intégrer au présent document. *Araucaria spp.*, *Betula spp.*, *Castanea spp.*, la famille des Cupressacées, *Macaranga tanarius*, la famille des Salicacées, la famille des Pinacées, etc. (cette liste n'est pas exhaustive) sont des exemples d'autres types de propolis.

4.2 Exigences physiques et chimiques

Les exigences physiques et chimiques relatives à la propolis doivent être telles qu'indiquées dans le [Tableau 1](#), à l'exception des flavonoïdes totaux qui sont un paramètre normatif mais dont le mode opératoire correspondant est sélectionné entre l'[Annexe F](#) ou [G](#).

Tableau 1 — Exigences physiques et chimiques relatives à la propolis d'abeille et méthodes d'analyse pour déterminer chaque caractéristique

Caractéristique	Min. ou max.	Exigences (sur matière sèche)			Méthode d'analyse
		Propolis brune (4.1.1)	Propolis verte (4.1.2)	Propolis rouge (4.1.3)	
Substances de la propolis extractibles à l'éthanol (sous forme de matière sèche), en % de la fraction massique	min.	30,0	30,0	30,0	Annexe A
Perte au séchage, en % de la fraction massique	max.	10,0	10,0	10,0	Annexe B
Teneur en cendres, en % de la fraction massique	max.	5,0	5,0	5,0	Annexe C
Substances de la propolis extractibles à l'éther de pétrole (sous forme de matière sèche), en % de la fraction massique	max.	65,0	30,0	60,0	Annexe D
Composés phénoliques totaux (Folin), en % de la fraction massique, exprimés en acide gallique ^a	min.	10,0	7,0	7,0	Annexe E
Composés phénoliques totaux (Folin), en % de la fraction massique, exprimés en galangine ^a	min.	17,0	12,0	12,0	Annexe E
Flavonoïdes totaux (AlCl ₃), en % de la fraction massique, exprimés en quercétine	min.	3,0	1,0	0,5	Annexe F
Flavonoïdes totaux (méthode sur polyamide), en % de la fraction massique, exprimés en rutine	min.	6,0	2,0	1,0	Annexe G
Composés phénoliques totaux par chromatographie liquide haute performance (HPLC) (propolis de peuplier, verte et rouge)	—	Présence de: apigénine, acide caféique, CAPE, acide p-coumarique, chrysine, acide férulique, galangine, pinobanksine et pinocembrine	Présence de: acide caféique, acide p-coumarique, acide 3,5-dicaféoylquinique, acide 4,5-dicaféoylquinique, acide cinnamique, drupanine, artépilline C et baccharine	Présence de: calycosine, isoliquiritigénine, formononétine et biochanine	Annexe H Annexe I Annexe J
Pouvoir antioxydant total (DPPH) – CE50, en µg/ml	max.	25,0	40,0	50,0	Annexe K

^a Les composés phénoliques totaux peuvent être exprimés en équivalents d'acide gallique ou de galangine. Pour effectuer la conversion d'acide gallique en galangine, multiplier la valeur obtenue en utilisant le facteur de conversion de 1,7. Pour effectuer la conversion de galangine en acide gallique, multiplier la valeur par 0,59.

4.3 Exigences de traçabilité

L'ISO 22005 doit être suivie pour garantir la traçabilité de la propolis.

5 Méthodes d'analyse

5.1 Réactifs

Sauf spécification contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique. Il convient que l'eau distillée soit conforme à l'eau de première qualité ou à une eau de la même pureté telle qu'indiquée dans l'ISO 3696.

5.2 Prélèvement des échantillons

La propolis est un produit très hétérogène; par conséquent, au moins 1 % du lot (au moins 1 kg d'échantillon pour les lots inférieurs à 100 kg) doit être prélevé. Au moins 10 points représentatifs doivent être échantillonnés afin de tenir compte de la diversité de la propolis. Emballer les échantillons dans un récipient de qualité alimentaire et les conserver à une température inférieure à $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Les outils de prélèvement doivent être propres et ne doivent pas ajouter de matières étrangères ou de contaminants aux échantillons.

5.3 Préparation des échantillons

Regrouper les échantillons des points représentatifs et les broyer dans un pulvérisateur, alors qu'ils sont encore congelés, jusqu'à ce qu'ils passent à travers un tamis de 10 mesh (2 mm). Si des impuretés sont visibles avant la pulvérisation, elles doivent être éliminées. Transférer dans un récipient de qualité alimentaire et mélanger jusqu'à l'obtention d'une masse homogène. Prélever un sous-échantillon approprié suffisant pour les analyses, le transférer dans un récipient hermétique à l'air et le conserver à une température inférieure à $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, si nécessaire, jusqu'à l'analyse.

5.4 Méthodes d'analyse pour les exigences physiques et chimiques

Il convient d'analyser l'échantillon conformément aux méthodes d'analyse spécifiées dans les [Annexes A](#) à [K](#).

6 Emballage, marquage, étiquetage, stockage et transport

6.1 Emballage

Il convient que l'emballage de la propolis brute protège le produit de la lumière. La perte de propolis au séchage doit être inférieure à 10 %.

6.2 Marquage (étiquette et/ou certificat)

Les informations énumérées dans le [Tableau 2](#) doivent apparaître sur chaque emballage ou étiquette/certificat. Des informations supplémentaires peuvent être ajoutées.

6.3 Étiquetage

Les exigences relatives à l'étiquetage doivent être telles qu'indiquées dans le [Tableau 2](#).

Tableau 2 — Exigences relatives à l'étiquetage

Exigence	Apiculteur(trice)	Société B2B	Société B2C
Le nom et la marque (le cas échéant) du produit et/ou la marque commerciale	✓	✓	✓
Le nom, l'adresse complète du producteur et du conditionneur	✓	✓	✓
La masse nette	✓	✓	✓
Le ou les pays d'origine (par ordre proportionnel par rapport au contenu: du plus important au moins important)	✓	✓	✓
Le type de propolis conformément à 4.1 du présent document	✓	✓	✓
Les substances de la propolis ^a extractibles à l'éthanol	—	—	✓
Le moment de la récolte: mois/année(s)	✓	✓	—
La date de durabilité minimale ou la date limite de consommation	—	✓	✓
Les informations relatives à la conservation	—	✓	✓
Le numéro de lot	✓	✓	✓
Les composés phénoliques totaux ^b	—	—	✓
Les flavonoïdes totaux ^c	—	—	✓
Légende B2B: Business to Business, commerce inter-entreprises. B2C: Business to Consumers, commerce entre entreprise et consommateurs. ^a Propolis brute destinée aux consommateurs: l'information décrite sur l'étiquette ou accessible via un certificat d'analyse à l'aide d'un code QR, ou tout autre équivalent (voir l'Annexe A). ^b Dans le cas des composés phénoliques totaux, identifier le standard à utiliser, l'acide gallique ou la galangine (voir l'Annexe E). ^c Dans le cas des flavonoïdes totaux, identifier le standard à utiliser, quercétine (Annexe F, AlCl ₃) ou rutine (Annexe G, polyamide).			

6.4 Stockage et transport

Le stockage et le transport doivent tenir compte du type de propolis, de la protection contre la lumière, des températures élevées (maintenir à < 25 °C) et des conditions d'humidité du local afin d'éviter la dégradation des caractéristiques originales de la propolis et de prévenir la croissance de micro-organismes à la surface.

La propolis brute ne doit pas être stockée et expédiée avec des produits ayant une forte odeur, toxiques, corrosifs ou potentiellement polluants.

Annexe A (normative)

Substances de la propolis brute extractibles à l'éthanol (sous forme de matière sèche)

A.1 Principe

La propolis est partiellement soluble dans une solution éthanol/eau. La masse sèche de l'extrait éthanol/eau est calculée en pourcentage de la masse de l'échantillon, après élimination complète du solvant.

A.2 Réactifs et matériels

A.2.1 Éthanol, $\varphi(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}) = 80 \%$ (fraction volumique).

A.2.2 Chlorure de fer (III) dans du méthanol = 5 % (masse volumique).

A.3 Appareillage et équipement

A.3.1 Balance analytique, permettant de peser à 0,000 1 g près.

A.3.2 Séchoir sous vide ou étuve

A.3.3 Erlenmeyer ou bécher, 100 ml.

A.3.4 Agitateur magnétique

A.3.5 Entonnoir en verre, $\Phi = 60 \text{ mm}$.

A.3.6 Papier filtre quantitatif, $\Phi = 12,5 \text{ cm}$.

A.3.7 Tige magnétique

A.3.8 Fiole jaugée, 100 ml.

A.4 Mode opératoire

Mettre en œuvre le mode opératoire suivant:

- le mode opératoire d'extraction indiqué aux étapes b) à f) doit être répété trois fois;
- peser 1 g (à 0,001 g près) d'échantillon de propolis (m_1) dans un Erlenmeyer ou un bécher de 100 ml (A.3.3) et ajouter 30 ml d'éthanol à 80 %;
- maintenir le mélange sous agitation mécanique ou manuelle, à 50 °C, pendant 3 h, à l'abri de la lumière;
- ensuite, filtrer le mélange sur du papier filtre quantitatif;

- e) pour confirmer l'absence de composés phénoliques dans le résidu restant, ajouter quelques gouttes de FeCl_3 (à 5 % dans du méthanol). Si une coloration est observée, le résidu doit être ré-extrait (selon les étapes a) à c)) jusqu'à ce qu'aucune coloration ne soit observée (pas plus de trois extractions);
- f) regrouper tous les extraits dans une fiole jaugée de 100 ml et compléter au volume avec de l'éthanol à 80 % (fraction volumique);
- g) pour l'évaluation de l'extrait sec, peser une coupelle de séchage en verre (m_2), ajouter 2 ml de chaque solution d'extraction (3 x 2) ml dans la coupelle de séchage en verre et sécher jusqu'à obtenir une masse constante (m_3) dans une étuve réglée à 105 °C pendant 90 min. Placer la coupelle dans un dessiccateur à température ambiante (15 min) entre les pesées (2 mg de différence maximum entre deux pesées consécutives).

A.5 Calcul

La teneur en extrait éthanol/eau de l'échantillon (sous forme de matière sèche), E_E , exprimée en pourcentage de la masse, est donnée par la [Formule \(A.1\)](#):

$$E_E = \frac{m_3 - m_2}{m_1} \times \left(\frac{50}{3}\right) \times 100 \quad (\text{A.1})$$

où

m_1 est la masse moyenne de l'échantillon de propolis, en g;

m_2 est la masse de la coupelle de séchage en verre, en g;

m_3 est la masse de l'extrait sec et de la coupelle de séchage en verre, en g.

NOTE (50/3) est le facteur de dilution.

A.6 Fidélité

L'écart relatif entre expériences réalisées en parallèle ne doit pas dépasser 5 %.