

**Масла растительные и жиры животные**

**МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОСТАВА ЖИРНЫХ  
КИСЛОТ В ПОЛОЖЕНИИ 2 В МОЛЕКУЛАХ  
ТРИГЛИЦЕРИДОВ**

Издание официальное

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Временным творческим коллективом, образованным в рамках договора № 9842002 Е 4075 между АФНОР и ВНИЦСМВ с участием членов Технического комитета по стандартизации ТК 238 «Масла растительные и продукты их переработки»

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 238 «Масла растительные и продукты их переработки»

3 ПРИНЯТ И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Госстандарта России от 22 декабря 1999 г. № 640-ст

3 Настоящий стандарт гармонизирован с международным стандартом ИСО 6800:1997 «Масла растительные и жиры животные. Метод определения состава жирных кислот в положении 2 в молекулах триглицеридов»

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

5 ПЕРЕИЗДАНИЕ

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Госстандарта России

## Масла растительные и жиры животные

## МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОСТАВА ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ПОЛОЖЕНИИ 2 В МОЛЕКУЛАХ ТРИГЛИЦЕРИДОВ

Vegetable oils and animal fats.

Method for determination of the composition of fatty acids in the 2-position in the triglyceride molecules

Дата введения 2001—01—01

## 1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на растительные масла и животные жиры и устанавливает метод определения состава жирных кислот, которые находятся в положении 2 (б или среднем положении) в молекулах триглицеридов в растительных маслах и животных жирах.

В силу природных свойств активности панкреатической липазы метод применим только для жиров температурой плавления ниже 45 °С.

Этот метод не может без ограничений применяться для всех жиров и масел, в частности, содержащих значительные количества:

- жирных кислот с 12 и менее атомами углерода (например кокосовое масло, пальмоядровое масло, молочные жиры, содержащие масляную кислоту);
- жирных кислот с 20 и более атомами углерода и высокой степенью иены (более четырех двойных связей) (например рыбные жиры и жиры морских млекопитающих);
- жирных кислот, имеющих вторичные группы, содержащие кислород.

Причина — Жирные кислоты с двойными связями в положении от (D — 16) до (D — 11) (например петрозелиновая кислота) лишь в слабой степени подвергаются воздействию панкреатической липазы. Это может привести к искажению результатов.

## 2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

- ГОСТ 61—75 Кислота уксусная. Технические условия
- ГОСТ 450—77 Кальций хлористый технический. Технические условия
- ГОСТ 2603—79 Ацетон. Технические условия
- ГОСТ 3118—77 Кислота соляная. Технические условия
- ГОСТ 4328—77 Натрия гидроокись. Технические условия
- ГОСТ 5471—83 Масла растительные. Правила приемки и методы отбора проб
- ГОСТ 5848—73 Кислота муравьиная. Технические условия
- ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия
- ГОСТ 6995—77 Метанол-яд. Технические условия
- ГОСТ 8285—91 Жиры животные топленые. Правила приемки и методы испытания
- ГОСТ 9293—74 Азот газообразный и жидккий. Технические условия
- ГОСТ 9805—84 Спирт изопропиловый. Технические условия
- ГОСТ 18300—87 Спирт этиловый ректифицированный технический. Технические условия
- ГОСТ 20015—88 Хлороформ. Технические условия
- ГОСТ 24104—88 Весы лабораторные общего назначения и образцовые. Общие технические условия
- ГОСТ 25336—82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры
- ГОСТ Р 51483—99 Масла растительные и жиры животные. Определение методом газовой хроматографии массовой доли метиловых эфиров индивидуальных жирных кислот к их сумме

ГОСТ Р 51486—99 Масла растительные и жиры животные. Получение метиловых эфиров жирных кислот

ИСО 661—89<sup>1)</sup> Масла и жиры животные и растительные. Подготовка испытуемой пробы

ИСО 5555—91<sup>1)</sup> Масла и жиры животные и растительные. Отбор проб

### 3 Сущность метода

Метод включает нейтрализацию свободных жирных кислот, очистку испытуемой пробы с помощью колоночной хроматографии, частичный энзиматический гидролиз глицеридов, отделение 2-моноглицеридов с помощью тонкослойной хроматографии и определение их жирнокислотного состава с помощью газовой хроматографии.

### 4 Правила приемки и методы отбора проб

4.1 Правила приемки и отбор проб:

- растительных масел — по ГОСТ 5471;
- животных жиров — по ГОСТ 8285.

При экспортно-импортных поставках — по ИСО 5555.

### 5 Реактивы

#### 5.1 Реактивы для очистки испытуемой пробы

5.1.1 Спирт изопропиловый по ГОСТ 9805 или спирт этиловый по ГОСТ 18300, 95 % (объемная доля).

5.1.2 Гексан по [1] или эфир легкий петролейный температурой кипения в пределах (30—60) °С.

5.1.3 Спирт изопропиловый по ГОСТ 9805 или спирт этиловый по ГОСТ 18300, 50 % (объемная доля).

5.1.4 Натрия гидроокись по ГОСТ 4328, раствор молярной концентрации  $c$  (NaOH) = 0,5 моль/дм<sup>3</sup>.

5.1.5 Фенолфталеин по [2], спиртовой раствор массовой долей 1 %.

5.1.6 Окись алюминия активированная нейтральная для хроматографии I степени активности, активированная перед использованием в течение 2 ч при 260 °С и хранящаяся в эксикаторе.

5.1.7 Азот по ГОСТ 9293, особой чистоты.

#### 5.2 Реактивы для гидролиза триглицеридов

5.2.1 Эфир диэтиловый по [3], не содержащий перекисей.

5.2.2 Кислота соляная по ГОСТ 3118 концентрации  $c$  (HCl) = 6 моль/дм<sup>3</sup>.

5.2.3 Натрия холат, раствор массовой долей 0,1 %, пригодный для энзимов.

5.2.4 Кальций хлористый по ГОСТ 450, раствор концентрации 220 г/дм<sup>3</sup>.

5.2.5 Раствор буферный, 2-амино-2-(гидроксиметил)пропан-1,3-диол<sup>2)</sup> молярной концентрации 1 моль/дм<sup>3</sup>; раствор доводят соляной кислотой (5.2.2) до pH 8 по pH-метру. Раствор хранят при температуре 0—4 °С и используют в течение 14 дней.

5.2.6 Липаза панкреатическая активностью 8—20 ед/мг. Липазу хранят сухой в холодильнике. Перед употреблением доводят порцию порошка до комнатной температуры.

П р и м е ч а н и е — Липаза необходимой активности имеется в продаже. При необходимости она может быть получена и испытана в соответствии с методикой, приведенной в приложении А.

#### 5.3 Реактивы для отделения 2-моноглицеридов

5.3.1 Спирт этиловый по ГОСТ 18300, 95 % (объемная доля).

5.3.2 Гексан по [1] и эфир легкий петролейный, температурой кипения в пределах 30—60 °С.

5.3.3 Ацетон по ГОСТ 2603.

5.3.4 Силикагель порошкообразный со связующим веществом для тонкослойной хроматографии.

5.3.5 Растворитель проявляющий

Готовят смесь, состоящую из 70 см<sup>3</sup> гексана или петролейного эфира (5.3.2), 30 см<sup>3</sup> диэтилового эфира и 1 см<sup>3</sup> муравьиной кислоты (5.3.7), не менее 98 % (объемная доля) или уксусной кислоты (5.3.7).

<sup>1)</sup> Действуют до введения в действие ГОСТ Р, разработанных на основе соответствующих ИСО.

<sup>2)</sup> Синонимы: три(гидроксиметил)метиламин, три(гидроксиметил)аминометан.

5.3.6 2<sup>1</sup>, 7<sup>1</sup>-Дихлорфлуоресцеин, спиртовой раствор индикатора массовой долей 0,2 %. Слабо-щелочная реакция достигается добавлением одной капли гидроокиси натрия молярной концентрации 1 моль/дм<sup>3</sup> на 100 см<sup>3</sup> раствора.

5.3.7 Кислота муравьиная по ГОСТ 5848 или уксусная по ГОСТ 61.

#### 5.4 Реактивы для анализа 2-моноглицеридов с помощью газовой хроматографии

Реактивы по ГОСТ Р 51486 и ГОСТ Р 51483.

## 6 Аппаратура

### 6.1 Установка для очистки испытуемой пробы

6.1.1 Баня водяная с терморегулятором, обеспечивающая нагрев до 40 °С.

6.1.2 Колонка стеклянная для хроматографии внутренним диаметром 13 мм и длиной 400 мм, снабженная стеклянным пористым фильтром и пробкой.

6.1.3 Испаритель ротационный с колбой вместимостью 250 см<sup>3</sup>.

6.1.4 Трубка для пробулькивания азота.

6.1.5 Воронка делительная ВД-1(3)-500 ХС по ГОСТ 25336.

6.1.6 Колба К-1-100-29/32 ТС по ГОСТ 25336.

### 6.2 Аппаратура для гидролиза триглицеридов

6.2.1 Центрифуга

6.2.2 Пробирки центрифужные стеклянные вместимостью 10 см<sup>3</sup> со шлифом.

6.2.3 Встряхиватель вибрационный электрический.

6.2.4 Баня водяная с терморегулятором, обеспечивающая температуру (40±0,5) °С.

6.2.5 Шприц для подкожных инъекций вместимостью 1 см<sup>3</sup> с тонкой иглой.

6.2.6 Секундомер.

### 6.3 Аппаратура для отделения 2-моноглицеридов

6.3.1 Камера хроматографическая для тонкослойной хроматографии с притертоей стеклянной крышкой, пригодная для размещения стеклянных пластинок размером (200×200) мм.

6.3.2 Устройство для нанесения адсорбента на стеклянные пластины и аппликатор.

6.3.3 Пластиинки стеклянные размером (200×200) мм.

6.3.4 Микрошприц, обеспечивающий нанесение капель объемом 3—4 мм<sup>3</sup>.

6.3.5 Приспособление для опрыскивания пластиинок раствором индикатора.

6.3.6 Микрошпатель.

6.3.7 Термостат, обеспечивающий температуру (103±2) °С.

6.3.8 Лампа ультрафиолетовая для определения положения пятен на хроматографических пластиинках, например, при длине волны 254 нм.

6.3.9 Колба К-1-25-14/23 ТС по ГОСТ 25336 с воздушным холодильником длиной приблизительно 1 м со шлифом.

6.3.10 Колба Кн-1-250-29/32 ТС по ГОСТ 25336.

6.3.11 Колба Кн-2-50-18(22) ТС по ГОСТ 25336.

6.3.12 Фильтр стеклянный пористый 16—40 мкм.

6.3.13 Эксикатор, содержащий эффективный осушитель.

### 6.4 Аппаратура для анализа 2-моноглицеридов с помощью газовой хроматографии:

Аппаратура — по ГОСТ Р 51483 и ГОСТ Р 51486.

6.5 Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104 3-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 500 г.

## 7 Подготовка к определению

### 7.1 Подготовка испытуемой пробы

Готовят испытуемую пробу из лабораторной пробы по ИСО 661.

Если кислотность пробы ниже или равна 3,0 %, пробу очищают, пропуская ее через окись алюминия по 8.2.

Если кислотность более 3,0 %, вначале нейтрализуют пробу гидроокисью натрия в присутствии растворителя по 8.1, затем очищают ее, пропуская через окись алюминия по 8.2.

## 8 Проведение определения

### 8.1 Нейтрализация пробы гидроокисью натрия

Растворяют  $(10\pm1)$  г испытуемой пробы в  $100\text{ cm}^3$  гексана или легкого петролейного эфира (5.1.2) и переносят раствор в делительную воронку (6.1.5). Приливают  $50\text{ cm}^3$  изопропилового или этилового спирта (5.1.1), несколько капель раствора фенолфталеина (5.1.5) и объем гидроокиси натрия (5.1.4), эквивалентный содержанию свободных жирных кислот жира или масла, с избытком  $0,5\%$ . Тщательно перемешивают в течение 1 мин и приливают  $50\text{ cm}^3$  воды, вновь перемешивают и дают отстояться. После разделения слоев сливают нижний слой, содержащий мыло, и промежуточные слои (слизистые и нерастворимые вещества). Промывают раствор нейтрализованного масла в гексане или легком петролейном эфире последовательными порциями по  $25\text{ cm}^3$  раствора изопропилового или этилового спирта (5.1.3) до тех пор, пока розовый цвет фенолфталеина не исчезнет.

Переносят раствор в колбу ротационного испарителя (6.1.3) и выпаривают большую часть растворителя под вакуумом. Высушивают масло при  $30\text{--}40\text{ }^{\circ}\text{C}$  под вакуумом в токе азота (5.1.7) до тех пор, пока растворитель не будет удален полностью.

### 8.2 Очистка пробы пропусканием через окись алюминия

Готовят суспензию из  $15$  г активированной окиси алюминия (5.1.6) в  $50\text{ cm}^3$  гексана или легкого петролейного эфира (5.1.2) и заполняют ею при постукивании хроматографическую колонку (6.1.2). Убеждаются, что окись алюминия ровно заполнила колонку, оставляют слой растворителя на  $1\text{--}2$  мм выше верхнего уровня адсорбента. Осторожно приливают в колонку приготовленный и нейтрализованный (если необходимо) раствор  $5$  г испытуемой пробы в  $25\text{ cm}^3$  гексана или легкого петролейного эфира (5.1.2) и собирают весь элюат в круглодонную колбу вместимостью  $100\text{ cm}^3$  (6.1.6).

Удаляют большую часть растворителя выпариванием в ротационном испарителе под вакуумом, затем высушивают масло при  $30\text{--}40\text{ }^{\circ}\text{C}$  под вакуумом в токе азота (5.1.7) до тех пор, пока растворитель не будет удален полностью.

### 8.3 Гидролиз триглицеридов

8.3.1 Взвешивают навеску продукта массой  $(0,1\pm0,01)$  г очищенной испытуемой пробы (8.2) в центрифужную пробирку вместимостью  $10\text{ cm}^3$  (6.2.2). Если эта навеска не жидккая при комнатной температуре, помещают пробирку в ячейку водяной бани при температуре  $60\text{--}65\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Если при этом навеска не расплывится полностью, ее продолжают выдерживать в бани, но не более  $10$  с.

Вынимают пробирку из водяной бани и продолжают выполнять в быстрой последовательности испытания в соответствии с 8.3.2—8.3.5.

8.3.2 Добавляют к жидкой навеске предварительно взвешенные  $20$  мг липазы (5.2.6) и  $2\text{ cm}^3$  буферного раствора (5.2.5). Осторожно встряхивают и добавляют последовательно  $0,5\text{ cm}^3$  раствора холата натрия (5.2.3) и  $0,2\text{ cm}^3$  раствора хлорида кальция (5.2.4). Закрывают пробирку пробкой, осторожно встряхивают и сразу же помещают пробирку в ячейку водяной бани при  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , выполняя ручное встряхивание в течение  $(60\pm2)$  с. Все операции до начала ручного встряхивания должны быть выполнены за  $30$  с.

8.3.3 Извлекают пробирку из водяной бани и интенсивно встряхивают при  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение  $(120\pm2)$  с, используя встряхиватель (6.2.3).

8.3.4 Незамедлительно приливают  $1\text{ cm}^3$  соляной кислоты (5.2.2) и  $1\text{ cm}^3$  диэтилового эфира (5.2.1). Закрывают пробкой и интенсивно встряхивают на встряхивателе (6.2.3).

8.3.5 Центрифугируют содержимое центрифужной пробирки и переносят органическую фазу в пробирку для испытания с помощью шприца (6.2.5). Если пробы была твердой при комнатной температуре, повторяют экстракцию с еще  $1\text{ cm}^3$  диэтилового эфира и объединяют экстракты в пробирке для испытания.

### 8.4 Отделение 2-моноглицеридов

#### 8.4.1 Подготовка пластинок

Тщательно очищают стеклянные пластиинки (6.3.3) этиловым спиртом (5.3.1), гексаном или легким петролейным эфиром (5.3.2) и ацетоном (5.3.3) до тех пор, пока жировые вещества не будут удалены полностью.

Взвешивают 30 г силикагеля (5.3.4) в коническую колбу вместимостью 250 см<sup>3</sup> (6.3.10). Присыпают 60 см<sup>3</sup> воды. Закрывают пробкой и интенсивно встряхивают в течение 1 мин. Сразу же вносят суспензию в аппликатор (6.3.2). Наносят на очищенные пластиинки слой толщиной 0,25 мм. Оставляют пластиинки высыхать не менее чем на 1 ч на воздухе.

В любом случае, подготовлены ли пластиинки способом, описанным выше, или приобретены готовыми, активируют пластиинки в термостате (6.3.7) при 103 °С в течение 1 ч. Перед использованием пластиинки охлаждают до комнатной температуры в эксикаторе (6.3.13).

Для уменьшения скорости продвижения кислот пластиинки с силикагелем должны быть пропитаны борной кислотой.

Испытуемая смесь должна быть разделена с помощью тонкослойной хроматографии как можно скорее.

В связи с тем, что некоторые силикагели содержат органические вещества, которые могут оказывать влияние на результаты в процессе хроматографического анализа, рекомендуется выполнить контрольное определение для того, чтобы убедиться, что силикагели не содержат таких веществ. В противном случае заранее очищают подготовленные пластиинки, помешав их в хроматографическую камеру с растворителем (5.3.5) и дают растворителю подняться до верха пластиинки.

Допускается применение других хроматографических пластиинок, по техническим характеристикам не хуже указанных.

#### 8.4.2 Отделение 2-моналициеридов

С помощью микрошприца (6.3.4) на подготовленную пластиинку (8.4.1) наносят экстракт (8.3.5) каплями в виде сплошной полосы, проходящей на расстоянии 15 мм от нижнего края пластиинки.

Устанавливают пластиинку в хроматографическую камеру (6.3.1), которая была предварительно насыщена парами разделяющего растворителя (5.3.5). Закрывают камеру крышкой и осуществляют хроматографирование веществ на пластиинке до тех пор, пока фронт растворителя не достигнет уровня на расстоянии 10 мм от верхнего края пластиинки.

Хроматографическое разделение проводят при температуре 20 °С. Высушивают пластиинку на воздухе при температуре 20 °С и опрыскивают ее раствором индикатора (5.3.6), используя приспособление для опрыскивания (6.3.5). Отмечают полосу моноглицеридов ( $R_f = 0.035$  приблизительно) в ультрафиолетовом свете (6.3.8) и сокрывают ее микрошпателем (6.3.6), избегая попадания в нее компонентов с линии старта.

Если очищенные испытуемые пробы (8.2) были жидкими при комнатной температуре, помешают собранный силикагель в колбу для метилирования вместимостью 25 см<sup>3</sup> (6.3.9) и выполняют операции, описанные в 8.5.

Если очищенные испытуемые пробы (8.2) были твердыми при комнатной температуре, переносят силикагель в коническую колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> (6.3.11), содержащую 15 см<sup>3</sup> дистиллового эфира. Интенсивно встряхивают и переносят содержимое на стеклянный пористый фильтр (6.3.12). Промывают фильтр троекратно, используя каждый раз порцию по 15 см<sup>3</sup> дистиллового эфира, и собирают фильтрат в колбу для выпаривания. Выпаривают эфирный раствор до объема 4—5 см<sup>3</sup> и переносят его в предварительно взвешенную круглодонную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup> (6.3.9). Затем выпаривают растворитель в токе азота. Взвешивают остаток. Полученное количество моноглицеридов должно колебаться от 10 до 30 % от массы испытуемой пробы. Если результат иной, повторяют гидролиз триглицеридов (8.2) или проверяют активность липазы (см. приложение А).

#### 8.5 Анализ 2-моналициеридов с помощью газовой хроматографии

Готовят метиловые эфиры жирных кислот из моноглицеридов, подвергая собранный силикагель (или экстракт моноглицеридов из силикагеля) процедуре, установленной ГОСТ Р 51486, используя метод, пригодный для нейтральных жиров и масел. Проводят газохроматографический анализ метиловых эфиров по ГОСТ Р 51483.

## 9 Обработка результатов

Рассчитывают отношение массы метилового эфира каждой жирной кислоты в положении 2, выраженное в процентах, к общей массе метиловых эфиров жирных кислот в 2-моналициеридах.

Результаты записывают с точностью до первого десятичного знака.

## 10 Повторяемость

Расхождение между результатами двух независимых единичных определений, выполненных при использовании одного метода, на идентичном испытуемом материале, в одной лаборатории, одним аналитиком, на одном оборудовании, в течение короткого промежутка времени, не должно превышать, при доверительной вероятности  $P = 0,95$ :

0,2 (абсолютное значение) — при содержании искомых веществ менее 5 %;

1 (абсолютное значение) и 3 (по отношению к среднему значению двух результатов) — при содержании искомых веществ, равном или более 5 %.

## 11 Воспроизводимость

Расхождение между результатами двух единичных определений, выполненных одним методом, на идентичном испытуемом материале, в разных лабораториях, разными аналитиками, на различном оборудовании, не должно превышать, при доверительной вероятности  $P = 0,95$ :

0,5 (абсолютное значение) — при содержании искомых веществ менее 5 %;

3 (абсолютное значение) и 10 (по отношению к среднему значению двух результатов) — при содержании искомых веществ, равном или более 5 %.

ПРИЛОЖЕНИЕ А  
(обязательное)

## Приготовление липазы и проверка активности

## А.1 Приготовление липазы

Охлаждают 5 кг свежей свиной поджелудочной железы до 0 °С. Удаляют твердый жир и соединительную ткань, ее окружающую, и измельчают железу до получения жидкой пасты. Перемешивают эту пасту с 2,5 дм<sup>3</sup> безводного ацетона в течение 4—6 ч на холода и затем центрифугируют.

Экстрагируют остаток еще три раза, используя тот же объем ацетона; дважды используют смесь одной объемной доли ацетона и одной объемной доли диэтилового эфира и дважды используют диэтиловый эфир.

Высушивают остаток в течение 48 ч под вакуумом до образования порошка. Порошок хранят в холодильнике.

## А.2 Проверка активности липазы

Готовят масляную эмульсию, встряхивая смесь 165 см<sup>3</sup> гуммиарабика концентрации 100 г/дм<sup>3</sup>, 15 г дробленого льда и 20 см<sup>3</sup> предварительно нейтрализованного масла в течение 10 мин на пригодном для этой цели миксере.

Наливают последовательно 10 см<sup>3</sup> эмульсии, 0,3 см<sup>3</sup> раствора хлората натрия (200 г/дм<sup>3</sup>) и 20 см<sup>3</sup> дистиллированной воды в стакан вместимостью 50 см<sup>3</sup>.

Помешают стакан в водяную баню при 37 °С (см. примечание).

В стакан опускают электроды pH-метра и пропеллерную мешалку и, используя бюретку вместимостью 5 см<sup>3</sup>, приливают по каплям раствор с (NaOH) = 0,1 моль/дм<sup>3</sup> до тех пор, пока не будет достигнуто значение pH 8,5.

Приливают соответствующий (см. примечание) и точно отмеренный объем 0,1 %-ной водной суспензии анализируемого порошка липазы. Как только pH достигнет значения 8,3 по шкале pH-метра, включают секундомер и добавляют раствор молярной концентрации с (NaOH) = 0,1 моль/дм<sup>3</sup> так, чтобы значение pH 8,3 сохранилось. Записывают объем раствора щелочи, приливающегося каждую минуту в течение 10 мин.

Наносят полученные данные на график, откладывая на оси X время в минутах и на оси Y объем в сантиметрах кубических растворов щелочи, использованного для поддержания постоянного значения pH. Результат должен выражаться в виде прямой линии.

## П р и м е ч а н и я

1 Когда используют жидкое масло, гидролиз проводят при 37 °С. Однако для испытания устанавливают температуру 40 °С, позволяющую проанализировать жиры, имеющие температуру плавления до 45 °С.

2 Для испытания образцов используют такое количество суспензии липазы, при котором потребляется 1 см<sup>3</sup> раствора щелочи за 4—5 мин. Такой результат обычно достигается при использовании 2—5 см<sup>3</sup> суспензии липазы, то есть от 1 до 5 мг порошка.

Единица липазы определяется как количество энзима, которое требуется для высвобождения 1 мкмоль кислоты в минуту при 37 °С и pH 8,3.

Активность A, выраженную в единицах липазы на миллиграмм испытуемого порошка, определяют по формуле

$$A = \frac{V \cdot c}{m},$$

где V — объем израсходованного раствора гидроокиси натрия, разделенный на время опыта, рассчитанный по графику, см<sup>3</sup>/мин;

m — масса испытуемой пробы порошка липазы; используемая липаза должна иметь активность от 8 до 20 единиц липазы на миллиграмм;

c — концентрация раствора гидроокиси натрия, ммоль/дм<sup>3</sup> — c = 100 ммоль/дм<sup>3</sup>.

ПРИЛОЖЕНИЕ Б  
(справочное)

Библиография

- [1] ТУ 6-09-3375—78 Гексан
- [2] ТУ 6-09-5360—87 Фенолфталеин
- [3] ТУ 75-06804—90 Эфир диэтиловый

---

ОКС 67.200.10

Н69

ОКСТУ 9109

---

Ключевые слова: сельскохозяйственные продукты, пищевые продукты, растительные масла, животные жиры, жирные кислоты, химический анализ, определение, химический состав, тонкослойная хроматография, газовая хроматография

---