

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

---

**Масла растительные и жиры животные**

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

Издание официальное

ГОССТАНДАРТ РОССИИ  
Москва

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

4 ВВЕДЕНО В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Госстандарта России от 22 декабря 1999 г. № 640-ст

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 ненасыщенности (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 экскаторе.

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.

При мечаниe — 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 %. Слабощелочная 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 притертой стеклянной крышкой, пригодная для размещения стеклянных пластинок размером (200×200) мм.

6.3.2 Устройство для нанесения адсорбента на стеклянные пластиинки 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  $100 \text{ см}^3$  гексана или легкого петролейного эфира (5.1.2) и переносят раствор в делительную воронку (6.1.5). Приливают  $50 \text{ см}^3$  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  $50 \text{ см}^3$  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  $25 \text{ см}^3$  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  $30\text{--}40^\circ\text{C}$  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  $50 \text{ см}^3$  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 1–2 мм выше верхнего уровня адсорбента. Осторожно приливают в колонку подготовленный и нейтрализованный (если необходимо) раствор 5 г испытуемой пробы в  $25 \text{ см}^3$  гексана или легкого петролейного эфира (5.1.2) и собирают весь элюат в круглодонную колбу вместимостью  $100 \text{ см}^3$  (6.1.6).

Удаляют большую часть растворителя выпариванием в ротационном испарителе под вакуумом, затем высушивают масло при  $30\text{--}40^\circ\text{C}$  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  $10 \text{ см}^3$  (6.2.2). Если эта навеска не жидккая при комнатной температуре, помещают пробирку в ячейку водянной бани при температуре  $60\text{--}65^\circ\text{C}$ . Если при этом навеска не расплавится полностью, ее продолжают выдерживать в бане, но не более 10 с.

Вынимают пробирку из водянной 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  $2 \text{ см}^3$  буферного раствора (5.2.5). Осторожно встряхивают и добавляют последовательно  $0,5 \text{ см}^3$  раствора холата натрия (5.2.3) и  $0,2 \text{ см}^3$  раствора хлорида кальция (5.2.4). Закрывают пробирку пробкой, осторожно встряхивают и сразу же помещают пробирку в ячейку водянной бани при  $40^\circ\text{C}$ , 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 водянной бани и интенсивно встряхивают при  $40^\circ\text{C}$  в течение ( $120\pm2$ ) с, используя встряхиватель (6.2.3).

8.3.4 Незамедлительно приливают  $1 \text{ см}^3$  соляной кислоты (5.2.2) и  $1 \text{ см}^3$  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 fazу в пробирку для испытания с помощью шприца (6.2.5). Если пробы была твердой при комнатной температуре, повторяют экстракцию с еще  $1 \text{ см}^3$  диэтилового эфира и объединяют экстракти 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). Приливают 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 пластинки слой толщиной 0,25 мм. Оставляют пластинки высыхать не менее чем на 1 ч на воздухе.

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

Для уменьшения скорости продвижения кислот пластинки 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 выполнять контрольное определение для того, чтобы убедиться, что силикагели не содержат таких веществ. В противном случае заранее очищают подготовленные пластинки, помещая их в хроматографическую камеру с растворителем (5.3.5) и дают растворителю подняться до верха пластинки.

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

#### 8.4.2 Отделение 2-моноглицеридов

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

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

Хроматографическое разделение проводят при температуре 20 °С. Высушивают пластинку 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 соскребают ее микрошпателем (6.3.6), избегая попадания в нее компонентов с линии старта.

Если очищенные испытуемые пробы (8.2) были жидкими при комнатной температуре, помещают 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> диэтилового 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> диэтилового 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-моноглицеридов 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-моноглицеридах.

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**

**A.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 жидкотекущей пасты. Перемешивают эту пасту с 2,5 дм<sup>3</sup> безводного ацетона в течение 4—6 ч на холодае и затем центрифицируют.

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.

**A.2 Проверка активности липазы**

Готовят маслянную 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.

Надевают 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 *c* (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 *c* (NaOH) = 0,1 моль/дм<sup>3</sup> так, чтобы значение pH 8,3 сохранилось. Записывают объем раствора щелочи, приливаемого 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 миллиграммм использованного 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 миллиграммм;

*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

---

OKC 67.200.10

H69

OKCTU 9109

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

---