
МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

ГОСТ
31664—
2012

МАСЛА РАСТИТЕЛЬНЫЕ И ЖИРЫ ЖИВОТНЫЕ

Метод определения состава жирных кислот в положении 2 в молекулах триглицеридов

(ISO 6800:1997, NEQ)

Издание официальное



Москва
Стандартинформ
2013

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Государственным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт жиров» Российской Академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИЖ Россельхозакадемии)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии (Росстандарт)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 20 июля 2012 г. № 50-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 28 июня 2013 г. № 348-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 31664—2012 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2014 г.

5 В настоящем стандарте учтены основные нормативные положения международного стандарта ISO 6800:97 Animal and vegetable fats and oils. Determination of the composition of fatty acids in the 2-position of the triglyceride molecules (Животные и растительные жиры и масла. Определение состава жирных кислот в положении 2 в молекулах триглицеридов).

Перевод с английского языка (en).

Степень соответствия — неэквивалентная (NEQ).

Настоящий стандарт подготовлен на основе применения ГОСТ Р 51484—99

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «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

© Стандартиформ, 2013

В Российской Федерации 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

Содержание

1 Область применения	1
2 Нормативные ссылки	1
3 Сущность метода.	2
4 Условия проведения измерений.	2
5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы и материалы	2
6 Подготовка к измерению	3
7 Выполнение измерения	4
8 Обработка результатов измерений.	5
9 Метрологические характеристики метода.	5
10 Требования безопасности при проведении работ	6
11 Требования к квалификации оператора	6
Приложение А (обязательное) Приготовление липазы и проверка ее активности	7

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 position 2 of the triglyceride molecules

Дата введения — 2014—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 (β или среднем положении) в молекулах триглицеридов в растительных маслах и животных жирах.

В силу природных свойств активности панкреатической липазы метод применим только для жиров с 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, молочный жир);
- 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.

П р и м е ч а н и е — Жирные кислоты с двойными связями в положении от (Δ -16) до (Δ -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 нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 12.1.004—91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность

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

ГОСТ 450—77 Кальций хлористый технический. Технические условия

ГОСТ 976—81 Маргарин, жиры для кулинарии, кондитерской и хлебопекарной промышленности.

Правила приемки и методы испытаний

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 8285—91 Жиры животные топленые. Правила приемки и методы испытания

ГОСТ 9293—74 (ИСО 2435—73) Азот газообразный и жидкий. Технические условия

ГОСТ 9805—84 Спирт изопропиловый. Технические условия

ГОСТ 18270—72 Кислота уксусная особой чистоты. Технические условия

ГОСТ 18300—87 Спирт этиловый ректификованный технический. Технические условия

ГОСТ 24104—2001 Весы лабораторные. Общие технические требования

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

ГОСТ 31663—2012 Масла растительные и жиры животные. Определение методом газовой хроматографии массовой доли метиловых эфиров жирных кислот

ГОСТ 31665—2012 Масла растительные и жиры животные. Получение метиловых эфиров жирных кислот

П р и м е ч а н и е — 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 ежегодному 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 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 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 Условия проведения измерений

При подготовке и выполнении измерений в помещении лаборатории должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающей среды, °С от 15 до 30;
- относительная влажность воздуха, % не более 80;
- напряжение питающей сети, В 220 ± 15;
- частота переменного тока, Гц 50 ± 2.

5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы и материалы

Спирт изопропиловый по ГОСТ 9805, с объемной массой 95 % и 50 %.

Спирт этиловый по ГОСТ 18300, с объемной массой 95 % и 50 %.

Гексан по нормативному документу, действующему на территории государства, принявшего стандарт.

Эфир петролейный с температурой кипения 30 °С—60 °С.

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328, раствор молярной концентрации $c(\text{NaOH}) = 0,1$ моль/дм³ и $c(\text{NaOH}) = 0,5$ моль/дм³.

Фенолфталеин, спиртовой раствор массовой долей 1 %.

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

Азот по ГОСТ 9293, ос. ч.

Эфир этиловый, не содержащий перекисей.

Кислота соляная по ГОСТ 3118 концентрации $c(\text{HCl}) = 6$ моль/дм³.

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

Кальций хлористый по ГОСТ 450, раствор концентрации 220 г/дм³.

Раствор буферный, 2-амино-2-(гидроксиметил)пропан-1,3-диол* молярной концентрации 1 моль/дм³; раствор доводят соляной кислотой до pH 8 по pH-метру. Раствор хранят при температуре 0 °С—4 °С и используют в течение 14 дней.

* Синонимы: трис(гидроксиметил)метиламин, трис(гидроксиметил)аминометан.

Липаза панкреатическая активностью 8—20 ед/мг. Липазу хранят сухой в холодильнике. Перед использованием 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.

Ацетон по ГОСТ 2603.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Силикагель порошкообразный со связующим веществом для тонкослойной хроматографии.

2¹, 7¹— Дихлорфлуоресцеин, спиртовой раствор индикатора массовой долей 0,2 %. Слабощелочная реакция достигается добавлением одной капли гидроксида натрия молярной концентрации 1 моль/дм³ на 100 см³ раствора.

Кислота муравьиная по ГОСТ 5848 или

Кислота уксусная по ГОСТ 18270.

Реактивы по ГОСТ 31663 и ГОСТ 31665.

Весы лабораторные по ГОСТ 24104.

Баня водяная с терморегулятором, обеспечивающая нагрев до $(40 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$.

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

Испаритель ротационный с колбой вместимостью 250 см³.

Трубка для пробулькивания азота.

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

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

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

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

Колба К-1—100—29/32 ТС по ГОСТ 25336.

Центрифуга.

Пробирки центрифужные стеклянные вместимостью 10 см³ со шлифом.

Встряхиватель вибрационный электрический.

Шприц для подкожных инъекций вместимостью 1 см³ с тонкой иглой.

Секундомер.

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

Устройство для нанесения адсорбента на стеклянные пластинки и аппликатор.

Пластинки стеклянные размером (200×200) мм.

Микрошприц, обеспечивающий нанесение капель объемом 3—4 мм³.

Приспособление для опрыскивания пластинок раствором индикатора.

Микрошпатель.

Термостат, обеспечивающий температуру $(103 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

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

Фильтр стеклянный пористый 16 мкм—40 мкм.

Эксикатор, содержащий эффективный осушитель.

Аппаратура по ГОСТ 31663 и ГОСТ 31665.

Допускается применение другой аппаратуры и реактивов, по качеству и техническим характеристикам не уступающих перечисленным выше.

6 Подготовка к измерению

6.1 Отбор проб

Отбор проб

- растительного масла — по ГОСТ 5471;

- жиров животных топленых — по ГОСТ 8285;

- маргаринов, жиров для кулинарии, кондитерской и хлебопекарной промышленности, спредов и топленых смесей — по ГОСТ 976.

6.2 Подготовка испытуемой пробы

Если кислотность пробы не более 3,0 %, пробу очищают, пропуская ее через окись алюминия по 7.2. Если кислотность более 3,0 %, вначале нейтрализуют пробу гидроокисью натрия в присутствии растворителя по 7.1, затем очищают ее, пропуская через окись алюминия.

6.3 Приготовление проявляющего растворителя

Готовят смесь, состоящую из 70 см³ гексана или петролейного эфира, 30 см³ этилового эфира и 1 см³ муравьиной кислоты с объемной массой не менее 98 % или уксусной кислоты.

7 Выполнение измерения

7.1 Нейтрализация пробы гидроокисью натрия

Растворяют (10 ± 1) г испытуемой пробы в 100 см³ гексана или легкого петролейного эфира и переносят раствор в делительную воронку. Добавляют 50 см³ изопропилового или этилового спирта, несколько капель раствора фенолфталеина и объем раствора гидроокиси натрия $c(\text{NaOH}) = 0,5$ моль/дм³, эквивалентный содержанию свободных жирных кислот жира или масла, с избытком 0,5 %. Тщательно перемешивают в течение 1 мин и добавляют 50 см³ воды, вновь перемешивают и дают отстояться. После разделения слоев сливают нижний слой, содержащий мыло, и промежуточные слои (слизистые и нерастворимые вещества). Нейтрализованный раствор в воронке промывают последовательными порциями по 25 см³ 50 %-ного раствора изопропилового или этилового спирта до тех пор, пока розовый цвет фенолфталеина не исчезнет. Переносят раствор в колбу ротационного испарителя и выпаривают большую часть растворителя под вакуумом. Высушивают масло при 30 °С—40 °С под вакуумом в токе азота до тех пор, пока растворитель не будет удален полностью.

7.2 Очистка пробы пропусканием через окись алюминия

Готовят суспензию 15 г активированной окиси алюминия в 50 см³ гексана или легкого петролейного эфира и заполняют ею при постукивании хроматографическую колонку. Убедившись, что окись алюминия ровно заполнила колонку, оставляют слой растворителя на 1—2 мм выше верхнего уровня адсорбента. Растворяют 5 г испытуемой пробы в 25 см³ гексана или легкого петролейного эфира, нейтрализуют раствор, если необходимо, и осторожно приливают его в колонку. Собирают весь элюат в круглодонную колбу вместимостью 100 см³. Удаляют большую часть растворителя выпариванием в ротационном испарителе под вакуумом, затем высушивают остаток при 30 °С—40 °С под вакуумом в токе азота до тех пор, пока растворитель не будет удален полностью.

7.3 Гидролиз триглицеридов

7.3.1 Взвешивают (0,1 ± 0,01) г очищенной испытуемой пробы в пробирке для центрифугирования вместимостью 10 см³. Если проба не является жидкой при комнатной температуре, помещают пробирку в ячейку водяной бани при температуре 60 °С—65 °С. Если при этом проба не расплавится полностью, ее продолжают выдерживать в бане, но не более 10 с. Вынимают пробирку из водяной бани и продолжают выполнять в быстрой последовательности испытания в соответствии с 7.3.2—7.3.5.

7.3.2 Добавляют к жидкой пробе предварительно взвешенные 20 мг липазы и 2 см³ буферного раствора. Осторожно встряхивают и добавляют последовательно 0,5 см³ раствора холата натрия и 0,2 см³ раствора хлорида кальция.

Закрывают пробирку пробкой, осторожно встряхивают и сразу же помещают пробирку в ячейку водяной бани при 40 °С, выполняя ручное встряхивание в течение (60 ± 2) с. Все операции до начала ручного встряхивания должны быть выполнены за 30 с.

7.3.3 Извлекают пробирку из водяной бани и интенсивно встряхивают при 40 °С в течение (120 ± 2) с, используя встряхиватель.

7.3.4 Немедленно после встряхивания приливают 1 см³ соляной кислоты и 1 см³ этилового эфира. Закрывают пробкой и интенсивно встряхивают на встряхивателе.

7.3.5 Центрифугируют содержимое пробирки и переносят органическую фазу в пробирку для испытания с помощью шприца. Если проба была твердой при комнатной температуре, повторяют экстракцию с еще 1 см³ этилового эфира и объединяют экстракты в пробирке для испытания.

7.4 Отделение 2-моноглицеридов

7.4.1 Подготовка пластинок

Тщательно очищают стеклянные пластинки 95 %-ным этиловым спиртом, гексаном или легким петролейным эфиром и ацетоном до тех пор, пока жировые вещества не будут удалены полностью.

Взвешивают 30 г силикагеля в конической колбе вместимостью 250 см³. Добавляют 60 см³ дистиллированной воды. Закрывают пробкой и интенсивно встряхивают в течение 1 мин. Сразу же вносят суспензию в аппликатор. 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 при 103 °С в течение 1 ч. Перед использованием пластинки охлаждают до комнатной температуры в эксикаторе. Для уменьшения скорости продвижения кислот пластинки с силикагелем пропитывают борной кислотой. Испытуемую смесь разделяют 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, очищают подготовленные пластинки. Для этого пластинки помещают в хроматографическую камеру с растворителем и дают растворителю подняться до верха пластинки. Допускается применение других хроматографических пластинок, по техническим характеристикам не хуже указанных.

7.4.2 Отделение 2-моноглицеридов

С помощью микрошприца на подготовленную пластинку наносят экстракт (7.3.5) каплями в виде сплошной полосы, проходящей на расстоянии 15 мм от нижнего края пластинки. Устанавливают пластинку в хроматографическую камеру, которую предварительно насыщают парами разделяющего растворителя. 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 приблизительно 20 °С. Высушивают пластинку на воздухе при температуре 20 °С и опрыскивают ее раствором индикатора, используя приспособление для опрыскивания. Отмечают полосу моноглицеридов ($R_f = 0,035$ приблизительно) в ультрафиолетовом свете и соскребают ее микрошпателем, избегая попадания в нее компонентов с линии старта. Если очищенные испытуемые пробы (7.2) были жидкими при комнатной температуре, помещают собранный силикагель в колбу для метилирования вместимостью 25 см³ и выполняют операцию, описанную в 7.5. Если очищенные испытуемые пробы (7.2) были твердыми при комнатной температуре, переносят силикагель в коническую колбу вместимостью 50 см³, содержащую 15 см³ этилового эфира. Интенсивно встряхивают и переносят содержимое на стеклянный пористый фильтр. Промывают фильтр трехкратно, используя каждый раз порцию по 15 см³ этилового эфира, и собирают фильтрат в колбу для выпаривания. Выпаривают эфирный раствор до объема 4 см³—5 см³ и переносят его в предварительно взвешенную круглодонную колбу вместимостью 25 см³. 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 (7.3) или проверяют активность липазы (см. приложение А).

7.5 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 31665, используя метод, пригодный для нейтральных жиров и масел. Проводят газохроматографический анализ метиловых эфиров по ГОСТ 31663.

8 Обработка результатов измерений

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.

9 Метрологические характеристики метода

9.1 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, за короткий промежуток времени, не должно превышать при доверительной вероятности 0,95:

- 0,2 % (абс.) — при содержании определяемых компонентов менее 5 %;
- 3 % (отн.) от полученного значения, но не более 1 % (абс.) — при содержании определяемых компонентов, равном или более 5 %.

9.2 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 0,95:

- 0,5 % (абс.) — при содержании определяемых компонентов менее 5 %;
- 10 % (отн.) от полученного значения, но не более 3 % (абс.) — при содержании определяемых компонентов, равном или более 5 %.

10 Требования безопасности при проведении работ

Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.004 и быть оснащено средствами пожаротушения в соответствии с ГОСТ 12.4.009.

11 Требования к квалификации оператора

Выполнение измерений, обработку и оформление результатов должен проводить специалист, имеющий высшее или среднее специальное образование, навыки работы на хроматографе и освоивший настоящий метод.

**Приложение А
(обязательное)**

Приготовление липазы и проверка ее 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 дм³ безводного ацетона в течение 4—6 ч на холоде и затем центрифугируют. Экстрагируют остаток еще трижды таким же объемом ацетона; дважды — смесью ацетона и этилового эфира в соотношении 1 : 1 по объему и дважды — этиловым эфиром. 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 см³ гуммиарабика концентрации 100 г/дм³, 15 г дробленого льда и 20 см³ предварительно нейтрализованной пробы в течение 10 мин на пригодном для этой цели миксере. Наливают последовательно 10 см³ эмульсии, 0,3 см³ раствора холата натрия (200 г/дм³) и 20 см³ дистиллированной воды в стакан вместимостью 50 см³. Помещают стакан в водяную баню при 37 °С (см. примечание 1). В стакан опускают электроды рН-метра и пропеллерную мешалку и, используя бюретку вместимостью 5 см³, приливают по каплям раствор гидроокиси натрия с (NaOH) = 0,1 моль/дм³ до тех пор, пока не будет достигнуто значение рН 8,5. Приливают соответствующий (см. примечание 2) и точно отмеренный объем 0,1 %-ной водной суспензии анализируемого порошка липазы. Как только рН достигнет значения 8,3 по шкале рН-метра, включают секундомер и добавляют раствор NaOH так, чтобы значение рН 8,3 сохранялось. Записывают объем раствора щелочи, приливаемого каждую минуту в течение 10 мин. Наносят полученные данные на график, откладывая на оси Х время в минутах и на оси Y объем в сантиметрах кубических раствора щелочи, использованного для поддержания постоянного значения рН. Результат должен выражаться в виде прямой линии.

Примечания

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 см³ раствора щелочи за 4—5 мин. Такой результат обычно достигается при использовании 2 см³—5 см³ 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 рН 8,3.

Активность липазы А, выраженную в единицах липазы на миллиграмм использованного порошка, определяют по формуле

$$A = \frac{V \cdot c}{m}, \quad (\text{А.1})$$

где V — объем израсходованного раствора гидроокиси натрия, разделенный на время, рассчитанный по графику, см³/мин;

c — концентрация раствора гидроокиси натрия, ммоль/дм³ (c = 100);

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

Ключевые слова: масла растительные, жиры животные, газовая хроматография, метод испытания, условия определения, обработка результатов

Редактор *М.И. Максимова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *В.Е. Нестерова*
Компьютерная верстка *А.Н. Золотаревой*

Сдано в набор 22.11.2013. Подписано в печать 27.11.2013. Формат 60×84%. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,00. Тираж 113 экз. Зак. 1407.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
www.gostinfo.ru info@gostinfo.ru

Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.

Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.