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
2019

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

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

Сведения о стандарте

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

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

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 положения стандарта ISO 6800:1997 «Животные и растительные жиры и масла. Определение состава жирных кислот в положении 2 в молекулах триглицеридов» («Animal and vegetable fats and oils. Determination of the composition of fatty acids in the 2-position of the triglyceride molecules», NEQ).

Настоящий стандарт подготовлен на основе применения ГОСТ Р 51484—99[1)]

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

7 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Ноябрь 2019 г.

[1)] Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 28 июня 2013 г. № 348-ст ГОСТ Р 51484—99 отменен с 1 января 2014 г.

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© Стандартинформ, оформление, 2013, 2019

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 4
7 Выполнение измерения 4
8 Обработка результатов измерений 6
9 Метрологические характеристики метода 6
10 Требования безопасности при проведении работ 6
11 Требования к квалификации оператора 7
Приложение А (обязательное) Приготовление липазы и проверка ее активности 7

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

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.

Примечание — 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. Для датированных ссылок применяют только указанное издание ссылочного стандарта, для недатированных — последнее издание (включая все изменения).

ГОСТ 12.1.004 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность

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

ГОСТ 450 Кальций хлористый технический. Технические условия

ГОСТ 2603 Реактивы. Ацетон. Технические условия

ГОСТ 3118 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4328 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 5848 Реактивы. Кислота муравьиная. Технические условия

ГОСТ 6709 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 8285 Жиры животные топленые. Правила приемки и методы испытания

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

ГОСТ 9805 Спирт изопропиловый. Технические условия

ГОСТ 18270 Кислота уксусная особой чистоты. Технические условия

Издание официальное

ГОСТ 18300[1] Спирт этиловый ректификованный технический. Технические условия

ГОСТ 24104[2] Весы лабораторные. Общие технические требования

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

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

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

ГОСТ 32189 Маргарины, жиры для кулинарии, кондитерской, хлебопекарной и молочной промышленности. Правила приемки и методы контроля

ГОСТ 32190 Масла растительные. Правила приемки и методы отбора проб

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и классификаторов на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (gost.e-ecolog.ru казателям национальных стандартов, издаваемым в государствах, указанных в предисловии, или на официальных сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации. Если на документ дана недатированная ссылка, то следует использовать документ, действующий на текущий момент, с учетом всех внесенных в него изменений. Если заменен ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, то следует использовать указанную версию этого документа. Если после принятия настоящего стандарта в ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение применяется без учета данного изменения. Если ссылочный документ 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(NaOH) = 0,1 моль/дм^3 и c(NaOH) = 0,5 моль/дм^3.

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.

---

[1] В Российской Федерации по ГОСТ Р 55878—2013 «Спирт этиловый технический гидролизный ректификованный. Технические условия».

[2] В Российской Федерации по ГОСТ Р 53228—2008 «Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания».

Азот по ГОСТ 9293, ос. ч.

Эфир этиловый, не содержащий перекисей.

Кислота соляная по ГОСТ 3118 концентрации $c(HCl) = 6$ моль/дм^3.

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

Кальций хлористый по ГОСТ 450, раствор концентрации 220 г/дм^3.

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

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

Примечание — 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.

2^1, 7^1-Дихлорфлуоресцеин, спиртовой раствор индикатора массовой долей 0,2 %. Слабощелочная реакция достигается добавлением одной капли гидроокиси натрия молярной концентрации 1 моль/дм^3 на 100 см^3 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 ± 0,5) °С.

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

Испаритель ротационный с колбой вместимостью 250 см^3.

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 см^3 со шлифом.

Встряхиватель вибрационный электрический.

Шприц для подкожных инъекций вместимостью 1 см^3 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 мм^3.

Приспособление для опрыскивания пластинок раствором индикатора.

Микрошпатель.

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

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

Фильтр стеклянный пористый 16—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.

[1)] Синонимы: трис(гидроксиметил)метиламин, трис(гидроксиметил)аминометан.

6 Подготовка к измерению

6.1 Отбор проб

Отбор проб:

- растительного масла — по ГОСТ 32190;
- жиров животных топленых — по ГОСТ 8285;
- маргаринов, жиров для кулинарии, кондитерской и хлебопекарной промышленности, спредов и топленых смесей — по ГОСТ 32189.

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 $см^3$ гексана или петролейного эфира, 30 $см^3$ этилового эфира и 1 $см^3$ 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 $см^3$ гексана или легкого петролейного эфира и переносят раствор в делительную воронку. Добавляют 50 $см^3$ изопропилового или этилового спирта, несколько капель раствора фенолфталеина и объем раствора гидроокиси натрия $c(NaOH) = 0,5$ моль/$дм^3$, эквивалентный содержанию свободных жирных кислот жира или масла, с избытком 0,5 %. Тщательно перемешивают в течение 1 мин и добавляют 50 $см^3$ 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 $см^3$ 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 $см^3$ 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 $см^3$ гексана или легкого петролейного эфира, нейтрализуют раствор, если необходимо, и осторожно приливают его в колонку. Собирают весь элюат в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. 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 $см^3$. 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 $см^3$ буферного раствора. Осторожно встряхивают и добавляют последовательно 0,5 $см^3$ раствора холата натрия и 0,2 $см^3$ 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 см^3 соляной кислоты и 1 см^3 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 см^3 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 см^3. Добавляют 60 см^3 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 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 (см. 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 (см. 7.2) были жидкими при комнатной температуре, помещают собранный силикагель в колбу для метилирования вместимостью 25 см^3 и выполняют операции, описанные в 7.5. Если очищенные испытуемые пробы (см. 7.2) были твердыми при комнатной температуре, переносят силикагель в коническую колбу вместимостью 50 см^3, содержащую 15 см^3 этилового эфира. Интенсивно встряхивают и переносят содержимое на стеклянный пористый фильтр. Промывают фильтр троекратно, используя каждый раз порцию по 15 см^3 этилового эфира, и собирают фильтрат в колбу для выпаривания. Выпаривают эфирный раствор до объема 4—5 см^3 и переносят его в предварительно взвешенную круглодонную колбу вместимостью 25 см^3. 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 (см. 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 $дм^3$ 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 $см^3$ гуммиарабика концентрации 100 $г/дм^3$, 15 г дробленого льда и 20 $см^3$ предварительно нейтрализованной пробы в течение 10 мин на пригодном для этой цели миксере. Наливают последовательно 10 $см^3$ эмульсии, 0,3 $см^3$ раствора холата натрия (200 $г/дм^3$) и 20 $см^3$ дистиллированной воды в стакан вместимостью 50 $см^3$. Помещают стакан в водяную баню при 37 °С (см. примечание 1). В стакан опускают электроды pH-метра и пропеллерную мешалку и, используя бюретку вместимостью 5 $см^3$, приливают по каплям раствор гидроокиси натрия c(NaOH) = 0,1 $моль/дм^3$ до тех пор, пока не будет достигнуто значение pH 8,5. Приливают соответствующий (см. примечание 2) 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 NaOH так, чтобы значение pH 8,3 сохранялось. 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 раствора щелочи, использованного для поддержания постоянного значения pH. 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 $см^3$ раствора щелочи за 4—5 мин. Такой результат обычно достигается при использовании 2—5 $см^3$ 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 липазы A, выраженную в единицах липазы на миллиграмм использованного порошка, определяют по формуле

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

где V — объем израсходованного раствора гидроокиси натрия, разделенный на время, рассчитанный по графику, $см^3/мин$;

c — концентрация раствора гидроокиси натрия, $ммоль/дм^3$ (c = 100);

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

УДК 664.34.001.4:006.354 МКС 67.200.10

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

Редактор *Д.А. Кожемяк*
Технические редакторы *В.Н. Прусакова, И.Е. Черепкова*
Корректор *Е.Р. Ароян*
Компьютерная верстка *Л.В. Софейчук*

Сдано в набор 06.11.2019. Подписано в печать 21.11.2019. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,00.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru