

Коэффициент наномолярной экстинкции *n*-нитроанилина ( $K$ , л·нмоль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>) вычисляют по формуле:

$$K = \frac{A_{405} \cdot 138,12 \cdot 100 \cdot 100 \cdot P}{a \cdot 1\,000\,000\,000}$$

- где  $A_{405}$  – оптическая плотность раствора *n*-нитроанилина при длине волны 405 нм;
- $a$  – навеска нитроанилина, мг;
- 138,12 – молекулярная масса нитроанилина;
- 100, 100 – разведение навески нитроанилина;
- $P$  – дополнительное разведение раствора *n*-нитроанилина (если применялось);
- 1 000 000 000 – пересчёт моль в наномоль.

*Испытуемый раствор.* Около 20,0 мг (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 0,1 М трис-гидрохлорид буферном растворе рН 7,8 и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор субстрата.* 100 мг (точная навеска) гидрохлорида БАПНА растворяют при 35±2 °С в 10 мл диметилсульфоксида. При хранении при температуре от 2 до 10 °С раствор пригоден для использования в течение 3 суток

*Проведение анализа.* В три опытные пробирки вместимостью 10 мл и три контрольные пробирки вносят по 4,6 мл 0,1 М трис-гидрохлорида буферного раствора рН 7,8.

В контрольные пробирки прибавляют 1 мл 0,5 М уксусной кислоты, перемешивают и прибавляют 0,2 мл испытуемого раствора.

В опытные пробирки прибавляют по 0,2 мл испытуемого раствора.

Все пробирки термостатируют в течение 5 мин при 25,0±0,5 °С.

Во все пробирки в определённом порядке с интервалом 30 с прибавляют по 0,2 мл раствора субстрата и продолжают термостатирование при 25,0±0,5 °С в течение 900 с. Для остановки реакции, во все опытные пробирки в том же порядке с интервалом в 30 с прибавляют по 1,0 мл