

0713 脂肪与脂肪油测定法

本法适用于供药用或药用辅料的脂类物质及类似物(不包括挥发油)的测定。

液体供试品如因析出硬脂发生浑浊时,应先置 50℃的水浴上加热,使完全熔化成澄清液体;加热后如仍显浑浊,可离心沉降或用干燥的保温滤器滤过使澄清;将得到的澄清液体搅匀,趁其尚未凝固,用附有滴管的称量瓶或附有玻勺的称量杯,分别称取下述各项检验所需的供试品。固体供试品应先在不高于其熔点 10℃的温度下熔化,离心沉降或滤过,再依法称取。

相对密度的测定 照相对密度测定法(通则 0601)测定。

折光率的测定 照折光率测定法(通则 0622)测定。

熔点的测定 照熔点测定法(通则 0612 第二法)测定。

酸值的测定 酸值系指中和脂肪、脂肪油或其他类似物质供试品 1g 中含有的游离脂肪酸所需氢氧化钾的重量(mg),但在测定时可采用氢氧化钠滴定液(0.1mol/L)进行滴定。

酸值	称重/g	酸值	称重/g
0.5	10	100	1
1	5	200	0.5
10	4	300	0.4
50	2		

除另有规定外,按表中规定的重量,精密称取供试品,置 250ml 锥形瓶中,加乙醇-乙醚(1:1)混合液[临用前加酚酞指示液 1.0 ml,用氢氧化钠滴定液(0.1mol/L)调至微显粉红色]50ml,振摇使完全溶解(如不易溶解,再缓慢加热回流使溶解),用氢氧化钠滴定液(0.1mol/L)滴定,至粉红色持续 30 秒不褪。以供试品消耗氢氧化钠滴定液(0.1mol/L)的体积(ml)为 A ,供试品的重量(g)为 W ,照下式计算酸值:

$$\text{供试品的酸值} = \frac{A \times 5.61}{W}$$

滴定酸值在 10 以下的油脂供试品时,可用 10ml 的半微量滴定管。

羟值的测定 羟值系指供试品 1g 中含有的羟基,经用以下方法酰化后,所需氢氧化钾的重量(mg)。

羟值	称重/g	羟值	称重/g
10~100	2.0	200~250	0.75
100~150	1.5	250~300	0.60
150~200	1.0		

除另有规定外，按表中规定的重量，精密称取供试品，置干燥的 250ml 具塞锥形瓶中 250ml 的干燥碘瓶中，精密加入酰化剂（取对甲苯磺酸 14.4g，置 500ml 锥形瓶碘瓶中，加乙酸乙酯 360ml，振摇溶解后，缓缓加入醋酐 120ml，摇匀，放置 3 日后备用）5ml，用吡啶少许湿润瓶塞，稍拧紧，轻轻摇动使完全溶解，置 50℃±1℃ 水浴中 25 分钟（每 10 分钟轻轻摇动）后，放冷，加吡啶-水（3：5）20ml，5 分钟后加甲酚红-麝香草酚蓝混合指示液 8~10 滴，用氢氧化钾（或氢氧化钠）滴定液（1mol/L）滴定至溶液显灰蓝色或蓝色；同时做空白试验。以供试品消耗的氢氧化钾（或氢氧化钠）滴定液（1mol/L）的体积（ml）为 A，空白试验消耗的体积（ml）为 B，供试品的重量（g）为 W，供试品的酸值为 D，照下式计算羟值：

$$\text{供试品的羟值} = \frac{(B - A) \times 56.1}{W} + D$$

碘值的测定 碘值系指脂肪、脂肪油或其他类似物质 100g，当供试品 100g 充分卤化时所需的碘量（g）。

除另有规定外，取供试品适量[其重量(g)约相当于 25/供试品的最大碘值]，精密称定，置 250ml 的干燥碘瓶中，加三氯甲烷 10 ml，溶解后，精密加入溴化碘溶液 25ml，密塞，摇匀，在暗处放置 30 钟。加入新制的碘化钾试液 10ml 与水 100ml，摇匀，用硫代硫酸钠滴定液（0.1mol/L）滴定剩余的碘，滴定时注意充分振摇，待混合液的棕色变为淡黄色，加淀粉指示液 1ml，继续滴定至蓝色消失；同时做空白试验。以供试品消耗硫代硫酸钠滴定液（0.1mol/L）的体积（ml）为 A，空白试验消耗的体积（ml）为 B，供试品的重量（g）为 W，照下式计算碘值：

$$\text{供试品的碘值} = \frac{(B - A) \times 1.269}{W}$$

过氧化值的测定 过氧化值系指每 1000g 供试品 1000g 中含有的其氧化能力与一定量的氧相当的过氧化物量。

除另有规定外，取供试品 5g，精密称定，置 250ml 碘瓶中，加三氯甲烷-冰

醋酸 (2:3) 混合液 30ml, 振摇溶解后, 加入碘化钾试液 0.5ml, 准确振摇萃取 1 分钟, 然后加水 30ml, 用硫代硫酸钠滴定液 (0.01mol/L) 滴定, 滴定时, 注意缓慢加入滴定液, 并充分振摇直至黄色几乎消失, 加淀粉指示液 5ml, 继续滴定并充分振摇至蓝色消失, 同时做空白试验。空白试验中硫代硫酸钠滴定液 (0.01mol/L) 的消耗量不得过 0.1ml。以供试品消耗硫代硫酸钠滴定液 (0.01mol/L) 的体积 (ml) 为 A , 空白试验消耗硫代硫酸钠滴定液 (0.01mol/L) 的体积 (ml) 为 B , 供试品的重量 (g) 为 W , 照下式计算过氧化值:

$$\text{供试品的过氧化值} = \frac{10 \times (A - B)}{W}$$

皂化值的测定 皂化值系指中和并皂化~~脂肪、脂肪油或其他类似物质~~供试品 1g 中含有的游离酸类和酯类所需氢氧化钾的重量 (mg)。

除另有规定外, 取供试品适量[其重量 (g) 约相当于 250/供试品的最大皂化值], 精密称定, 置 250ml 回流瓶中, 精密加入 0.5mol/L 氢氧化钾乙醇溶液 25ml, 加热回流 30 分钟, 然后用乙醇 10ml 冲洗冷凝器的内壁和塞的下部, 加酚酞指示液 1.0ml, 用盐酸滴定液 (0.5mol/L) 滴定剩余的氢氧化钾, 至溶液的粉红色刚好褪去, 加热至沸, 如溶液又出现粉红色, 再滴定至粉红色刚好褪去; 同时做空白试验。以供试品消耗的盐酸滴定液 (0.5mol/L) 的体积 (ml) 为 A , 空白试验消耗的体积 (ml) 为 B , 供试品的重量 (g) 为 W , 照下式计算皂化值:

$$\text{供试品的皂化值} = \frac{(B - A) \times 28.05}{W}$$

不皂化物 除另有规定外, 取供试品约 5g, 精密称定, 置 250ml 回流瓶中, 加氢氧化钾乙醇溶液 (取氢氧化钾 12g, 加水 10ml 溶解, 用乙醇稀释至 100ml, 摇匀) 50ml, 水浴加热回流 1 小时, 放冷至 25℃ 以下, 移至带有聚四氟乙烯活塞的分液漏斗中, 用水洗涤回流瓶 2 次, 每次 50ml, 洗液并入分液漏斗中。用乙醚提取 3 次, 每次 100ml; 合并乙醚提取液, 用水洗涤乙醚提取液 3 次, 每次 40ml, 静置分层, 弃去水层; 依次用 3% 氢氧化钾溶液与水洗涤乙醚层各 3 次, 每次 40ml, 再用水 40ml 反复洗涤乙醚层直至最后洗液上加酚酞指示液 2 滴不显红色。转移乙醚提取液至已恒重的蒸发皿中, 并用乙醚 10ml 洗涤分液漏斗, 洗液并入蒸发皿中, 置 50℃ 水浴上蒸去乙醚, 用丙酮 6ml 溶解残渣, 空气流下挥去丙酮。在 105℃ 干燥至连续两次称重之差不超过 1mg, 计算不皂化物。

取干燥后的残渣, 用中性乙醇 20ml 溶解残渣, 加酚酞指示液数滴, 用乙醇

浅橙色底纹标注的部分为第二次征求意见稿修订内容

制氢氧化钠滴定液 (0.1mol/L) 滴定至粉红色持续 30 秒不褪色, 如果消耗乙醇制氢氧化钠滴定液 (0.1mol/L) 超过 0.2ml, 残渣总量不能当作不皂化物重量, 试验必须重做。

甾醇组成 取不皂化物项下经乙醇制氢氧化钠滴定液 (0.1mol/L) 滴定至终点且满足要求的溶液, 水浴蒸干, 残渣加丙酮 6ml 溶解, 室温挥发至干, 残渣在 105℃干燥约 15 分钟, 作为供试品。另取葵花籽油, 同法制备不皂化物并同法处理, 作为对照。

甾醇的分离 取供试品, 用乙醚溶解 3 次, 每次 4ml, 转移至试管中, 氮气流下挥发至干, 加流动相适量溶解残渣 (必要时, 可加异丙醇 1~3 滴以促溶), 制成每 1ml 中约含残渣 40mg 的溶液, 用 0.45 μ m 滤膜滤过, 取续滤液作为供试品溶液; 另取上述对照, 同法操作, 作为对照溶液; 取胆甾醇和 β -谷甾醇各适量, 分别加流动相溶解并稀释制成每 1ml 中约含 40mg 的溶液, 作为胆甾醇和 β -谷甾醇定位用溶液。照高效液相色谱法 (通则 0512) 试验, 用硅胶为填充剂 (250mm \times 4.6mm, 5 μ m; 预柱 5mm \times 4.6mm, 5 μ m), 以异丙醇-正己烷 (1: 99) 为流动相, 流速为每分钟 1.0ml, 检测波长为 210nm。取对照溶液、供试品溶液、胆甾醇和 β -谷甾醇定位用溶液各 50 μ l, 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图, 对照溶液应在 23 分钟~32 分钟显示两个主要的色谱峰, 收集对照溶液、供试品溶液、胆甾醇和 β -谷甾醇定位用溶液约 20 分钟至 32 分钟间的洗脱液 (注: 收集起始时间以胆甾醇的出峰时间为准), 分别置试管中, 每个试管收集两次进样所得的洗脱液, 氮气流下挥发至干。

甾醇的测定 避免潮湿。取甾醇的分离项下供试品溶液制得残渣, 加无水吡啶 0.2ml, 加 N, O-双(三甲基硅烷)三氟乙酰胺(BSTFA)-三甲基氯硅烷(TMCS) (99:1) 混合液 0.2ml, 密封, 混匀, 80℃加热 20 分钟, 取出, 放冷, 取液体层作为供试品衍生化溶液。另取甾醇的分离项下对照溶液、胆甾醇与 β -谷甾醇定位用溶液制得残渣, 分别自“加无水吡啶 0.2ml”起同法操作, 取液体层分别作为对照衍生化溶液、胆甾醇衍生化溶液和 β -谷甾醇衍生化溶液。照气相色谱法 (通则 0521) 测定, 采用以 5%苯基-95%甲基聚硅氧烷为固定液的毛细管色谱柱 (30m \times 0.25mm, 0.25 μ m), 以氦气为载气, 起始温度为 260℃, 维持 50 分钟, 以每分钟 5℃的速率升温至 290℃, 维持 5 分钟, 进样口温度为 290℃, 检测器

温度为 290℃。取对照衍生化溶液 1~3 μ l (视甾醇量而选择), 注入气相色谱仪, 记录的色谱图中, 应显示 4 个主要的色谱峰, 分别为菜油甾醇峰、豆甾醇峰、 β -谷甾醇峰和 Δ 7-豆甾醇峰, 菜油甾醇峰与豆甾醇峰的分度应不小于 4.0。另取与对照衍生化溶液相同进样体积的胆甾醇衍生化溶液、 β -谷甾醇衍生化溶液和供试品衍生化溶液, 分别注入气相色谱仪, 记录色谱图, 按下表所附的相对 β -谷甾醇峰的保留时间鉴别各甾醇峰, 计算从胆甾醇到 Δ 7-燕麦甾醇 15 个峰的总峰面积, 按峰面积归一化法计算供试品中各甾醇的含量。

编号	英文名称	中文名称	相对保留时间
1	cholesterol	胆甾醇	0.63
2	brassicasterol	菜籽甾醇	0.71
3	24-methylenecholesterol	24-亚甲基胆甾醇	0.80
4	campesterol	菜油甾醇	0.81
5	campestanol	菜油甾烷醇	0.82
6	stigmasterol	豆甾醇	0.87
7	Δ 7-campesterol	Δ 7-菜油甾醇	0.92
8	Δ 5,23-stigmastadienol	Δ 5, 23-豆甾二烯醇	0.95
9	cleroesterol	赤桐甾醇	0.96
10	β -sitosterol	β -谷甾醇	1
11	sitostanol	谷甾烷醇	1.02
12	Δ 5-avenasterol	Δ 5-燕麦甾醇	1.03
13	Δ 5,24-stigmastadienol	Δ 5, 24-豆甾二烯醇	1.08
14	Δ 7-stigmastenol	Δ 7-豆甾醇	1.12
15	Δ 7-avenasterol	Δ 7-燕麦甾醇	1.16
16	betulin	桦木醇	1.4

脂肪酸凝点的测定 (1) 脂肪酸的提取 取 20% (g/g) 氢氧化钾的甘油溶液 75g, 置 800ml 烧杯中, 加供试品 50g, 于 150℃ 在不断搅拌下皂化 15 分钟, 放冷至约 100℃, 加入新沸的水 500ml, 搅匀, 缓缓加入硫酸溶液 (1 \rightarrow 4) 50ml, 加热至脂肪酸明显分离为一个透明层; 趁热将脂肪酸移入另一烧杯中, 用新煮沸的水反复洗涤, 至洗液加入甲基橙指示液显黄色, 趁热将澄清的脂肪酸放入干燥

的小烧杯中，加无水乙醇 5ml，搅匀，用小火加热至无小气泡逸出，即得。

(2)凝点的测定 取按上法制得的干燥脂肪酸，照凝点测定法(通则 0613)测定。

脂肪酸组成 除另有规定外，取供试品 0.1g，置 50ml 回流瓶中，加 0.5mol/L 氢氧化钠甲醇溶液 4ml，在水浴中加热回流直至油滴消失(通常约 10 分钟)，放冷，加 14%三氟化硼甲醇溶液 5ml，再在水浴中加热回流 2 分钟，放冷，加正庚烷 4ml，继续在水浴中加热回流 1 分钟后，放冷，加饱和氯化钠溶液 10ml，摇匀，静置使分层，取上层液，经无水硫酸钠干燥，作为供试品溶液；分别取硬脂酸甲酯、棕榈酸甲酯和油酸甲酯适量，用正庚烷溶解并稀释制成每 1ml 中各约含 0.1mg 的溶液，作为系统适用性溶液。照气相色谱法(通则 0521)试验，采用以聚乙二醇(或极性相近)为固定液的毛细管色谱柱(30m×0.53mm, 1.0μm)，起始温度为 70℃，维持 2 分钟，以每分钟 5℃的速率升温至 240℃，维持 24 分钟；进样口温度为 220℃；检测器温度为 260℃。取系统适用性溶液 1μl 注入气相色谱仪，记录色谱图，棕榈酸甲酯峰和硬脂酸甲酯峰相对于油酸甲酯峰的保留时间分别约为 0.87 和 0.99，理论板数按油酸甲酯峰计算不低于 10000，各色谱峰的分离度应符合要求。取供试品溶液 1μl，注入气相色谱仪，记录色谱图，按峰面积归一化法计算各脂肪酸甲酯的含量。

加热试验 取供试品约 50ml，置烧杯中，在砂浴上加热至 280℃，升温速率为每分钟上升 10℃，观察油的颜色和其他性状的变化。

杂质 取供试品约 20g，精密称定，置锥形瓶中，加石油醚(沸程 60~90℃) 20ml 使溶解，用干燥至恒重的垂熔玻璃坩埚滤过(如溶液不易滤过，可添加石油醚适量)，用石油醚洗净残渣和滤器，在 105℃干燥至恒重；精密称定，增加的重量即为供试品中杂质的重量。

水分与挥发物 取供试品约 5g，置干燥至恒重的扁形称量瓶中，精密称定，在 105℃干燥 40 分钟取出，置干燥器内放冷，精密称定重量；再在 105℃干燥 20 分钟，放冷，精密称定重量，至连续两次干燥后称重的差异不超过 0.001g，如遇重量增加的情况，则以增重前的一次重量为恒重。减失的重量，即为供试品中含有水分与挥发物的重量。

碱性杂质 取新蒸馏的丙酮 10ml、水 0.3ml 和 0.04%溴酚蓝乙醇溶液 1 滴，

用 0.01mol/L 盐酸溶液或 0.01mol/L 氢氧化钠溶液调节至中性，精密加供试品 10ml，摇匀，静置，用盐酸滴定液（0.01mol/L）滴定至上层液显黄色，计算消耗的盐酸滴定液（0.01mol/L）体积。

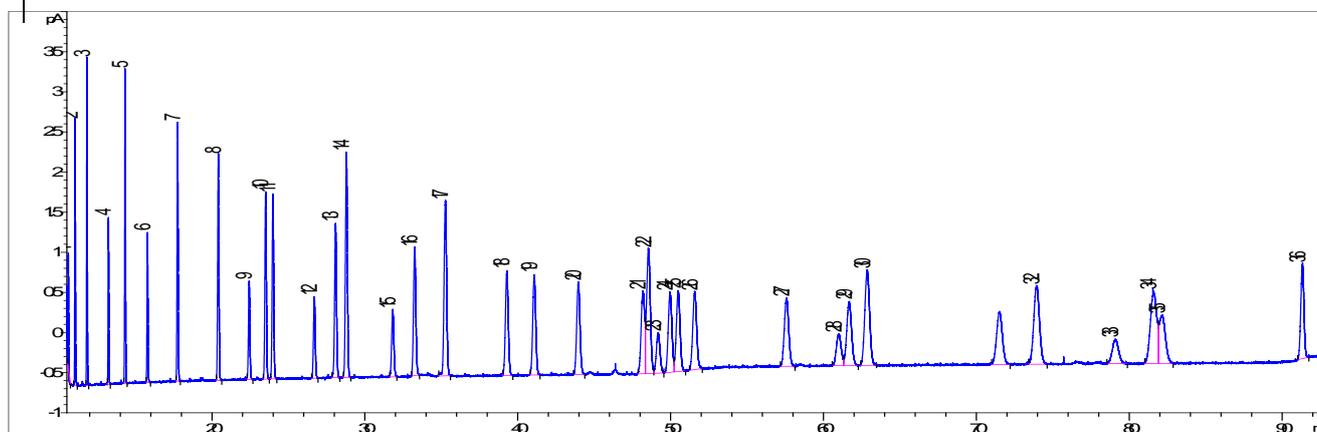
甲氧基苯胺值 避光快速操作。除另有规定外，取供试品 0.5g，精密称定（*W*），置 25ml 量瓶中，加异辛烷溶解并稀释至刻度，作为供试品溶液，照紫外-可见分光光度法（通则 0401），以异辛烷为空白，在 350nm 的波长处测定吸光度（*A*₁）；另取 10ml 具塞试管 2 支，供试品管加供试品溶液 5.0ml，空白管加异辛烷 5.0ml，再各加 0.25% 的 4-甲氧基苯胺的冰醋酸溶液 1.0ml，振摇，暗处放置 10 分钟，以空白管溶液作为空白，在 350nm 的波长处测定供试品管溶液的吸光度（*A*₂）。照下式计算甲氧基苯胺值：

$$\text{供试品的甲氧基苯胺值} = \frac{25 \times (1.2 \times A_2 - A_1)}{W}$$

反式脂肪酸 除另有规定外，取供试品 100mg，置 50ml 回流瓶中，加 0.5mol/L 氢氧化钠甲醇溶液 4ml，在水浴中加热回流直至油滴消失（通常约 10 分钟），放冷，加 14% 三氟化硼甲醇溶液 5 ml，再在水浴中加热回流 5 分钟，放冷，加异辛烷 2ml，继续在水浴中加热回流 1 分钟，放冷，加饱和氯化钠溶液 10ml，摇匀，静置使分层，取上层液，经无水硫酸钠干燥，作为供试品溶液。分别取油酸甲酯、反式油酸甲酯、亚油酸甲酯顺反异构体混合溶液和亚麻酸甲酯顺反异构体混合溶液适量，加异辛烷溶解并稀释制成每 1ml 中约含油酸甲酯 1mg、反式油酸甲酯 1mg、亚油酸甲酯顺反异构体 2.5mg、亚麻酸甲酯顺反异构体 2.5mg 的溶液，作为系统适用性溶液（脂肪酸甲酯分类信息和反式脂肪酸甲酯的参考保留时间见下表）。照气相色谱法（通则 0521）试验，采用以聚二氰丙基硅氧烷（或极性相近）为固定液的毛细管色谱柱（100m×0.25mm，0.2μm），起始温度为 163℃，维持 85 分钟，以每分钟 30℃ 的速率升温至 240℃，维持 13 分钟；分流比 45:1；载气流速：恒压 40psi；进样口温度为 250℃；检测器温度为 250℃。取系统适用性溶液 1μl 注入气相色谱仪，记录色谱图，顺-9,12-反-15-十八碳三烯酸甲酯（C18:3c9c12t15）和亚麻酸甲酯（C18:3c9c12c15）的分离度应不小于 1.0（必要时可适当调整色谱系统参数满足上述系统适用性要求，并确保供试品中相应顺反脂肪酸甲酯峰的分离度均不小于 1.0；36 种脂肪酸甲酯混合标准溶液和典型反式脂肪酸甲酯混合标准溶液的气相色谱图见下）。取供试品溶液 1μl 注入气相色谱

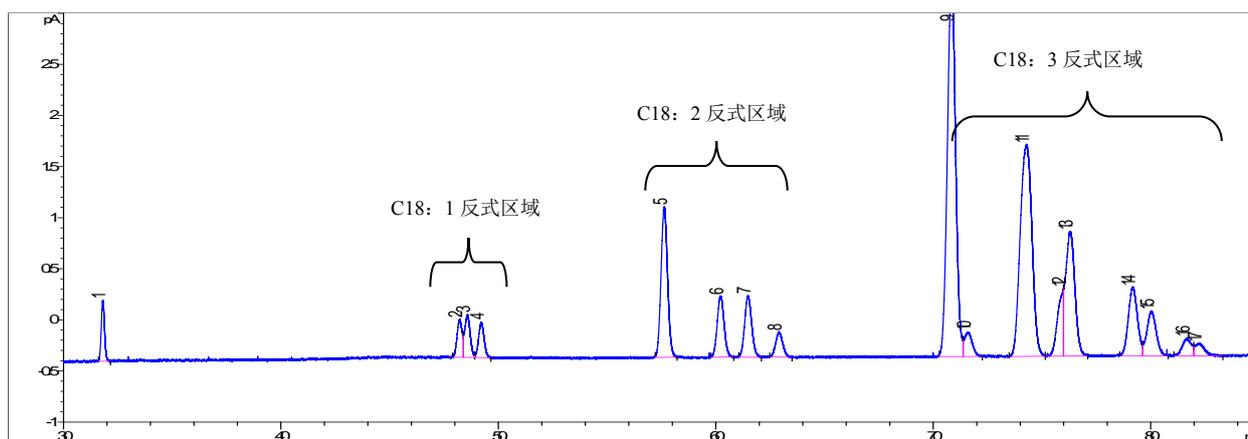
浅橙色底纹标注的部分为第二次征求意见稿修订内容

仪，记录色谱图，按峰面积归一化法计算供试品中各反式脂肪酸甲酯峰占有所有脂肪酸甲酯总峰面积的百分含量。



36 种脂肪酸甲酯混合标准溶液气相色谱图 (C4:0~C22:1 13t)

编号	脂肪酸甲酯	参考保留时间/min	编号	脂肪酸甲酯	参考保留时间/min
1	C4:0	10.605	19	C17:1c10	41.079
2	C6:0	11.046	20	C18:0	43.967
3	C8:0	11.823	21	C18:1 t6	48.190
4	C10:0	13.230	22	C18:1t9	48.550
5	C11:0	14.318	23	C18:1t11	49.187
6	C12:0	15.782	24	C18:1c6	49.964
7	C13:0	17.753	25	C18:1c9	50.500
8	C14:0	20.406	26	C18:1c11	51.577
9	C14:1 t9	22.423	27	C18:2t9t12	57.587
10	C14:1 c9	23.501	28	C19:1T7	61.001
11	C15:0	23.978	29	C19:1T10	61.681
12	C15:1t10	26.685	30	C18:2c9c12	62.857
13	C15:1c10	28.075	31	C20:0	71.517
14	C16:0	28.786	32	C18:3c6c9c12	73.943
15	C16:1c9	31.815	33	C20:1t11	79.082
16	C16:1t9	33.250	34	C18:3c9c12c15	81.577
17	C17:0	35.258	35	C20:1c11	82.147
18	C17:1t10	39.279	36	C22:1t13	91.323



典型反式脂肪酸甲酯混合标准溶液气相色谱图

编号	反式脂肪酸甲酯	参考保留时间/min
1	C16:1t9	31.750
2	C18:1 t6	48.128
3	C18:1t9	48.489
4	C18:1t11	19.114
5	C18:2t9t12	57.675
6	C18:2c9t12	60.197
7	C18:2t9c12	61.461
8	C18:2c9c12	62.847
9	C18:3t9t12t15	70.814
10	C20:0	71.452
11	C18:3t9t12c15/t9c12t15	74.241
12	C18:3t9c12c15	75.926
13	C18:3c9t12t15	76.224
14	C18:3c9t12c15	79.009
15	C18:3c9c12t15	79.063
16	C18:3c9c12c15	81.527
17	C20:1c	81.996

【附注】

1. 溴化碘溶液 取研细的碘 13.0g, 置干燥的具塞玻璃瓶中, 加冰醋酸 1000ml, 微温使碘完全溶解; 另用吸管插入法量取溴 2.5ml (或在通风橱中称取 7.8g), 加入上述碘溶液中, 摇匀, 即得。为了确定加溴量是否合适, 可在加溴前精密取出 20ml, 用硫代硫酸钠滴定液 (0.1mol/L) 滴定, 记录消耗的体积 (ml); 加溴后, 摇匀, 再精密取出 20ml, 加新制的碘化钾试液 10ml, 再用硫代硫酸钠滴定液 (0.1mol/L) 滴定, 消耗的体积 (ml) 应略小于加溴前的 2 倍。

本液应置具塞玻璃瓶内, 密塞, 在暗处保存。

浅橙色底纹标注的部分为第二次征求意见稿修订内容

2. 乙醇制氢氧化钠滴定液（0.1mol/L） 取 50%氢氧化钠溶液 2ml，加乙醇 250ml，摇匀，即得（如溶液浑浊，配制后放置过夜，取上清液）。取在五氧化二磷干燥器中减压干燥至恒重的基准苯甲酸约 0.2g，精密称定，加乙醇 10ml 与水 2ml 溶解，加酚酞指示液 2 滴，用上述滴定液滴定至溶液显持续浅粉红色。每 1ml 乙醇制氢氧化钠滴定液（0.1mol/L）相当于 12.21mg 的苯甲酸。

本液应置具橡皮塞的棕色玻璃瓶中，密闭保存，临用前应标定浓度。