

第八章 脂类的测定

第一节 概述

一、食品中的脂类物质和脂肪含量

脂类是食品的重要组成部分,包括一些具有共同性质和相似组成的物质。食品中的脂类主要包括脂肪(甘油三酸酯)和一些类脂质,如脂肪酸、磷脂、糖脂、甾醇、固醇等,大多数动物性食品及某些植物性食品(如种子、果实、果仁)都含有天然脂肪或类脂化合物。各种食品含脂量各不相同,其中植物性或动物性油脂中脂肪含量最高,而水果蔬菜中脂肪含量很低。不同食品的脂肪含量如表 8-1。

表 8-1 不同食品中的脂肪含量

食品项目	脂肪含量/(质量分数)	食品项目	脂肪含量/(质量分数)
谷物食品、面包、通心粉		水果和蔬菜	
大米	0.7	苹果(带皮)	0.4
高粱	3.3	橙子	0.1
小麦胚芽	2.0	黑莓(带皮)	0.4
黑麦	2.5	鳄梨(美国产)	15.3
天然小麦粉	9.7	芦笋	0.2
黑麦面包	3.3	利马豆	0.8
小麦面包	3.9	甜玉米(黄色)	1.2
干通心粉	1.6	豆类	
乳制品		成熟的生大豆	19.9
液体全脂牛乳	3.3	成熟的生黑豆	1.4
液体脱脂牛乳	0.2	肉、家禽和鱼	
干酪	33.1	牛肉	10.7
酸奶	3.2	焙烤或油炸的鸡肉	1.2
脂肪和油脂		腌制的咸猪肉	57.5
猪脂	100	新鲜的生猪肉	12.6
黄油(含盐)	81.1	大西洋和太平洋的生比目鱼	2.3
人造奶油	80.5	大西洋生鳕鱼	0.7
色拉调味料		坚果类	
意大利产品	48.3	生椰子	33.5
千岛产品	35.7	干杏仁	52.2
法国产品	41.0	干核桃	56.6
蛋黄酱(豆油制)	79.4	新鲜全蛋	10.0

二、脂类物质的测定意义

脂肪是食品中重要的营养成分之一,可为人体提供必需脂肪酸;脂肪是一种富含热能的营养素,是人体热能的主要来源,每克脂肪在体内可提供 37.62 kJ (9kcal)热能,比碳水化合物和蛋白质高一倍以上;脂肪还是脂溶性维生素的良好溶剂,有助于脂溶性维生素的吸收;脂肪与蛋白质结合生成的脂蛋白,在调节人体生理机能和完成体内生化反应方面都起着十分重要的作用。但过量摄入脂肪对人体健康也是不利的。

在食品加工生产过程中,原料、半成品、成品的脂类含量对产品的风味、组织结构、品质、外观、口感等都有直接的影响。蔬菜本身的脂肪含量较低,在生产蔬菜罐头时,添加适量的脂肪可以改善产品的风味,对于面包之类的焙烤食品,脂肪含量特别是卵磷脂等组分,对面包心的柔软度、面包的体积及其结构都有影响。因此,在含脂肪的食品中,其含量都有一定的规定,是食品质量管理中的一项重要指标。测定食品的脂肪含量,可以用来评价食品的品质,衡量食品的营养价值,而且对实行工艺监督,生产过程的质量管理,研究食品的储藏方式是否恰当等方面都有重要的意义。

三、脂类的测定

食品中脂肪的存在形式有游离态的,如动物性脂肪及植物性油脂;也有结合态的,如天然存在的磷脂、糖脂、脂蛋白及某些加工食品(如焙烤食品及麦乳精等)中的脂肪,与蛋白质或碳水化合物等成分形成结合态。大多数食品中所含的脂肪为游离脂肪,结合态脂肪含量较少。

脂类不溶于水,易溶于有机溶剂。测定脂类大多采用低沸点的有机溶剂萃取的方法。常用的溶剂有乙醚,石油醚、氯仿-甲醇混合溶剂等。其中乙醚溶解脂肪的能力强,应用最多。但它沸点低(34.6℃),易燃,且可饱和约2%的水分。含水乙醚会同时抽提出糖分等非脂成分,所以实用时,必须采用无水乙醚做提取剂,且要求样品必须预先烘干。石油醚溶解脂肪的能力比乙醚弱些,但吸收水分比乙醚少,没有乙醚易燃,使用时允许样品含有微量水分,这两种溶剂只能直接提取游离的脂肪,对于结合态脂类,必须预先用酸或碱破坏脂类和非脂成分的结合后才能提取。因二者各有特点,故常常混合使用。氯仿-甲醇是另一种有效的溶剂,它对于脂蛋白、磷脂的提取效率较高,特别适用于水产品、家禽、蛋制品等食品脂肪的提取。

用溶剂提取食品中的脂类时,要根据食品种类、性状及所选取的分析方法,在测定之前对样品进行预处理。有时需将样品粉碎、切碎、碾磨等;有时需将样品烘干;有的样品易结块,可加入4~6倍量的海砂;有的样品含水量较高,可加入适量无水硫酸钠,使样品成粒状。以上处理的目的是为了增加样品的表面积,减少样品含水量,使有机溶剂更有效地提取出脂类。

食品的种类不同,其中脂肪的含量及其存在形式就不相同,测定脂肪的方法也就不同。常用的测定脂类的方法有:索氏提取法、酸分解法、罗紫-哥特里法、巴布科克氏法、盖勃氏法和氯仿-甲醇提取法等。过去普遍采用的是索氏提取法,此法至今仍被认为是测定多种食品脂类含量的有代表性的方法,但对于某些样品测定结果往往偏低。酸水解法能对包括结合态脂类在内的全部脂类进行定量。而罗紫-哥特里法主要用于乳及乳制品中脂类的测定。本章将分别介绍以上各种方法。此外,对于食用植物油脂的几项化学特性,也介绍其测定原理和方法。

第二节 脂类的测定方法

一、索氏提取法

索氏提取法测定脂肪含量是普遍采用的经典方法,是国标的方法之一,也是美国AOAC法920.39、960.39中脂肪含量测定方法(半连续溶剂萃取法)。随着科学技术的发展,该法也在不断改进和完善,如目前已有改进的直滴式抽提法和脂肪自动测定仪法。

(一) 原理

将经前处理的样品用无水乙醚或石油醚回流提取,使样品中的脂肪进入溶剂中,蒸去溶剂后所得到的残留物,即为脂肪(或粗脂肪)。

本法提取的脂溶性物质为脂肪类物质的混合物,除含有脂肪外还含有磷脂、色素、树脂、固醇、芳香油等醚溶性物质。因此,用索氏提取法测得的脂肪也称为粗脂肪。

(二) 适应范围与特点

此法适用于脂类含量较高,结合态的脂类含量较少,能烘干磨细,不易吸湿结块的样品的测定。食品中的游离脂肪一般都能直接被乙醚、石油醚等有机溶剂抽提,而结合态脂肪不

能直接被乙醚、石油醚提取，需在一定条件下进行水解等处理，使之转变为游离脂肪后方能提取，故索氏提取法测得的只是游离态脂肪，而结合态脂肪测不出来。此法是经典方法，对大多数样品结果比较可靠，但费时间，溶剂用量大，且需专门的索氏抽提器(图 8-1)。

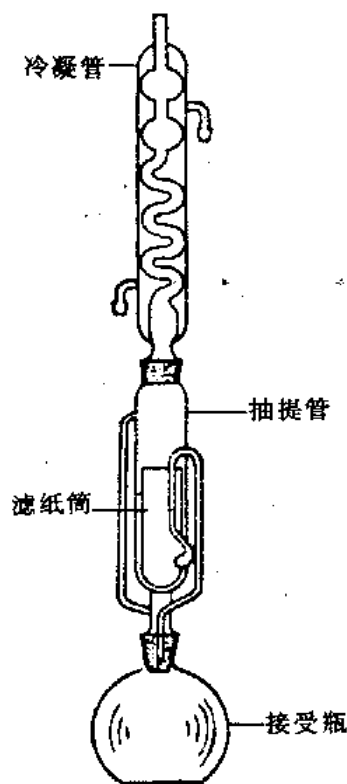


图 8-1 索氏抽提器

(三) 测定方法

1. 滤纸筒的制备

将大小 8cm×15cm 的滤纸，用直径约 2cm 的试管为模型，将滤纸以试管壁为基础，叠折成底端封口的滤纸筒，筒内底部放一小片脱脂棉。在 105℃ 中烘至恒重，置于干燥器中备用。

2. 样品处理.

(1) 固体样品：精密称取干燥并研细的样品 2~5g (可取测定水分后的样品)，必要时拌以海砂，无损地移入滤纸筒内。

(2) 半固体或液体样品：称取 5.0~10.0g 于蒸发皿中，加入海砂约 20g，于沸水浴上蒸干后，再于 95~105℃ 烘干、研细，全部移入滤纸筒内，蒸发皿及粘附有样品的玻璃棒都用沾有乙醚的脱脂棉擦净，将脱脂棉一同放在滤纸筒上面，再用脱脂棉线封捆滤纸筒口。

3. 抽提

将滤纸筒放入索氏抽提器内，连接已干燥至恒重的脂肪接受瓶，由冷凝管上端加入无水乙醚或石油醚，加量为接受瓶的 2/3 体积，于水浴上 (夏天 65℃，冬天 80℃ 左右) 加热使乙醚或石油醚不断的回流提取，一般提取 6~12h，至抽提完全为止。

4. 称重

取下接受瓶，回收乙醚或石油醚，待接受瓶内乙醚剩 1~2 mL 时，在水浴上蒸干，再于 100~105℃ 干燥 2h，取出放干燥器内冷却 30min，称重，并重复操作至恒重。

(四) 结果计算

$$\text{脂肪}(\%) = \frac{m_2 - m_1}{m} \times 100$$

式中： m_2 — 接受瓶和脂肪的质量，g；

m_1 — 接受瓶的质量，g；

m — 样品的质量（如为测定水分后的样品，以测定水分前的质量计），g。

(五) 注意及说明

1. 样品应干燥后研细，样品含水分会影响溶剂提取效果，而且溶剂会吸收样品中的水分造成非脂成分溶出。装样品的滤纸筒一定要严密，不能往外漏样品，但也不要包得太紧影响溶剂渗透。放入滤纸筒时高度不要超过回流弯管，否则超过弯管样品中的脂肪不能抽提，造成误差。

2. 对含多量糖及糊精的样品，要先以冷水使糖及糊精溶解，经过滤除去，将残渣连同滤纸一起烘干，放入抽提管中。

3. 抽提用的乙醚或石油醚要求无水、无醇、无过氧化物，挥发残渣含量低。

4. 过氧化物的检查方法：取 6 mL 乙醚，加 2 mL 10% 碘化钾溶液，用力振摇，放置 1 min 后，若出现黄色，则证明有过氧化物存在，应另选乙醚或处理后再用。

5. 提取时水浴温度不可过高，以每分钟从冷凝管滴下 80 滴左右，每小时回流 6~12 次为宜，提取过程应注意防火。

6. 在抽提时，冷凝管上端最好连接一支氯化钙干燥管，如无此装置可塞一团干燥的脱脂棉球。这样，可防止空气中水分进入，也可避免乙醚在空气中挥发。

7. 抽提是否完全可凭经验，也可用滤纸或毛玻璃检查，由抽提管下口滴下的乙醚滴在滤纸或毛玻璃上，挥发后不留油迹表明已抽提完全，若留下油迹说明抽提不完全。

8. 在挥发乙醚或石油醚时，切忌用直接火加热。烘前应驱除全部残余的乙醚，因乙醚稍有残留，放入烘箱时，有发生爆炸的危险。

(六) 改良直滴式抽提法

改进型直滴式抽提法的原理、试剂、结果计算与索氏抽提法一样，只有操作方法上略有不同。主要是使用直滴式抽提器或改进型直滴式抽提器一套，见图 8-2。

直滴式抽提器将索氏抽提器抽提筒旁边的虹吸管和支管除去，并将筒底打通，筒底附近加三个支点，可将盛有试样的滤纸筒放入玻璃漏斗后，置于抽提筒内的三个玻璃支点上，抽提时烧瓶中乙醚蒸气通过抽提筒至冷凝器内被冷却，液化后滴入滤纸筒，抽提试样中脂肪后，滴入烧瓶中，这样始终不断地有新乙醚来抽提试样中脂肪，使乙醚与试样之间始终保持最大的浓度差，处于最佳抽提效率。

测定方法：

将盛有试样滤纸筒置入抽提筒，用乙醚抽提脂肪，脂肪抽净后，取出滤纸筒，关上玻璃活塞，继续加热即可回收乙醚，其他操作同索氏抽提法。

直滴式抽提器虽然比索氏抽提器效率高，速度快，但抽提仍需 6~8 h。现在有不少改进型直滴式抽提器在直滴式基础上又进行以下几方面的改进：

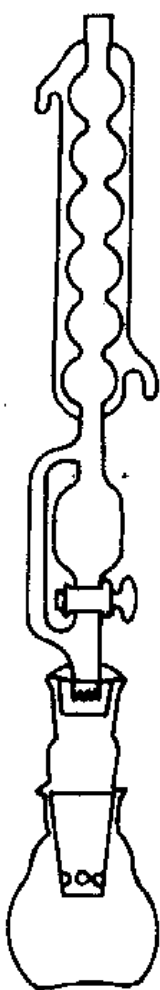


图 8—2 改进型直滴式抽提器

- ① 加大仪器的容量，增大滤纸筒内径，使溶剂与试样接触面积增大；
- ② 冷凝器液滴口制成锯齿形，既可增加回滴速度，又可使液滴均匀分布滴入试样中；
- ③ 抽提筒置于烧瓶中，使抽提在较高温度中进行，提高抽提效率；
- ④ 烧瓶口口径加大，可使烘干时间缩短，使测定时间减少。

(七) Tecator 脂肪自动测定仪

1. 仪器构造

特卡托脂肪自动测定仪由主机（抽提单元）和辅助单元两部分构成。

辅助单元主要是为主机提供热循环介质，使溶剂气化，热介质由泵进行强制循环，与主机用管子连接。辅机上有一空气泵，其作用是在分析结束时，吸走抽提杯中残留的微量溶剂气体。

抽提杯一般为铝制（也有玻璃制），每套 6 个，可放入抽提杯安放架中，便于插入主机内。抽提套可固定在抽提套安放架上，抽提套支撑圈每套为 7 个，其中 6 个插入主机内，另 1 个同天平配套使用，以简化称量程序。

2. 工作原理

将试样先浸泡在沸腾的溶剂中，提取出大部分脂肪，再把试样提出至溶剂液面上，用溶

剂淋洗,提取试样中残余的脂肪,提取完成后,蒸去溶剂,将抽提杯烘干,称重,计算试样的粗脂肪。

3. 测定方法

Tecator 脂肪自动测定仪操作流程如下: ①试样制备 (粉碎均匀); ②称样 (m_1); ③样品干燥; ④抽提杯放入主机; ⑤在沸腾位置抽提; ⑥在淋洗位置抽提; ⑦取出抽提杯; ⑧干燥; ⑨称重 (m_3)。

(1) 向辅助单元添加水至离水箱边缘以下几厘米处,并加入 50mL 左右润滑油(保护泵)。若使用油作热介质,应使用油浴 (Tecator both oil),不可使用硅油,因为硅油能损坏橡皮部件。

按电源开关 (maing),将水浴加热到工作温度 (75℃),一般约需 15min。

(2) 把抽提筒 (滤纸筒)与金属接头联结,并放在支撑圈内,向圆筒内装入粉碎试样进行称样。脂肪含量小于 10%的,称样约 3g,大于 10%,称样约 2g (m_1)。

(3) 用圆筒手柄把抽提筒取出,置于抽提筒架上,在 95~100℃烘箱中干燥 2h。

(4) 在装有试样的抽提筒中盖上脱脂棉,用圆筒手柄将抽提筒插入主机的夹具孔内 (有 6 个夹孔,可夹在 6 个抽提筒座内)。

(5) 将抽提单元上球形按钮置淋洗 (Rinsing)位置,磁铁立即吸住抽提筒接头,拉下抽提筒座与夹具,抽提筒恰好在冷凝器隔板下。

(6) 将配有干净沸石的已称重的 6 个抽提杯 (m_2),各加入 50mL 乙醚 (无过氧化物),使带有手柄的杯架,一起插入抽提单元中,降低左边把手,使抽提杯卡紧在加热板上紧贴着冷凝器上的密封垫 (抽提单元放在通风橱内进行或后接排气管到室外)。

(7) 打开冷凝水开关 (流速 1~2 L/min)。

(8) 把球形开关调至沸腾 (boling) 位置,抽提筒浸入溶剂中,把冷凝器上的旋钮反时针方向转到较高的位置,以便使冷凝器的溶剂能全部回到杯中,打开加热 (Heating) 阀,使热水循环,沸腾浸提。

(9) 沸腾抽提 10~15 min (时间取决于样品和溶剂类型)把球形按钮转到淋洗 (Rinsing) 位置,抽提残余的脂肪。

(10) 淋洗后,顺时针转动冷凝器上旋钮到较低位置,避免冷凝的溶剂回流到抽提瓶内,使溶剂收集在冷凝管内 (3~4 min),按下辅助单元上的空气 (Air) 按钮,并打开抽提单元上的蒸发 (Evaporation) 阀,最后的残余溶剂也被收集到冷凝管中。

(11) 关掉加热 (Heating) 阀和蒸发 (Evaporation) 阀,抬起左边把手,取出 6 个抽提杯,放至 95~100℃烘箱中干燥 30 min,取出置于干燥器中冷却,称取抽提杯和油质量(m_3)。

(12) 把抽提筒架上的抽提筒放到电热器上,压低左边把手,拉动球形旋钮到沸腾 (boling)位置,使抽提筒进入抽提筒座,抬高把手,取出抽提筒。

(13) 放入插有短柄漏斗的矮烧杯或瓶子,反时针旋转冷凝器上面旋钮,回收溶剂。如若需接着进行另一组试样测定,则按步骤(5)~(11)进行操作,并打开冷凝器的阀门。使用乙醚时,回收的乙醚在重用之前要进行过氧化物检验;通过在冷凝器的顶部添加溶剂,可调节回收溶液的体积。

(14) 关掉电源开关 (Maing),关紧冷却水龙头,检查所有冷凝器是否排空溶剂。

4. 结果计算

$$\text{粗脂肪 (\%)} = \frac{m_3 - m_2}{m_1} \times 100\%$$

式中： m_1 — 样品的质量，g；

m_2 — 抽提杯的质量，g；

m_3 — 抽提杯和脂肪总质量，g。

说明：试样粒度对测定结果的影响，为了保证测定结果的准确性，一般要求试样的粒度应在1mm以下。

二、酸水解法

(一) 原理

将试样与盐酸溶液一同加热进行水解，使结合或包藏在组织里的脂肪游离出来，再用乙醚和石油醚提取脂肪，回收溶剂，干燥后称量，提取物的重量即为脂肪含量。

(二) 适用范围与特点

本法适用于各类食品中脂肪的测定，对固体、半固体、粘稠液体或液体食品，特别是加工后的混合食品，容易吸湿、结块，不易烘干的食品，不能采用索氏提取法时，用此法效果较好。此法不适于含糖高的食品，因糖类遇强酸易碳化而影响测定结果。

酸水解法测定的是食品中的总脂肪，包括游离脂肪和结合脂肪。

(三) 测定方法

1. 样品处理

(1) 固体样品：精密称取约2.0g，置于50 mL大试管中，加8 mL水，混匀后再加10 mL盐酸。

(2) 液体样品：称取10.0g置于50 mL大试管中，加10 mL盐酸。

2. 水解

将试管放入70~80℃水浴中，每5~10min用玻璃棒搅拌一次，至样品脂肪游离消化完全为止，约需40~50min。

3. 提取

取出试管，加入10 mL乙醇，混合，冷却后将混合物移入100 mL具塞量筒中，用25 mL乙醚分次洗试管，一并倒入量筒中，待乙醚全部倒入量筒后，加塞振摇1min，小心开塞放出气体，再塞好，静置12min，小心开塞，用石油醚—乙醚等量混合液冲洗塞及筒口附着的脂肪。

静置10~20min，待上部液体清晰，吸出上清液于已恒重的锥形瓶内，再加5 mL乙醚于具塞量筒内，振摇，静置后，仍将上层乙醚吸出，放入原锥形瓶内。

4. 称重

将锥形瓶于水浴上蒸干后，置100~105℃烘箱中干燥2h，取出放入干燥器内冷却30min后称量，并重复以上操作至恒重。

(四) 结果计算

$$\text{脂肪 (\%)} = \frac{m_2 - m_1}{m} \times 100$$

式中： m_2 — 锥形瓶和脂类质量，g；
 m_1 — 空锥形瓶的质量，g；
 m — 试样的质量，g。

(五) 说明与讨论

1. 样品经加热、加酸水解，破坏蛋白质及纤维组织，使结合脂肪游离后，再用乙醚提取。
2. 水解时应防止大量水分损失，使酸浓度升高。
3. 乙醇可使一切能溶于乙醇的物质留在溶液内。
4. 石油醚可使乙醇溶解物残留在水层，并使分层清晰。
5. 挥干溶剂后，残留物中若有黑色焦油状杂质，是分解物与水一同混入所致，会使测定值增大，造成误差，可用等量的乙醚及石油醚溶解后过滤，再次进行挥干溶剂的操作。

三、罗紫—哥特里法

(一) 原理

利用氨—乙醇溶液破坏乳的胶体性状及脂肪球膜，使非脂成分溶解于氨—乙醇溶液中，而脂肪游离出来，再用乙醚—石油醚提取出脂肪，蒸馏去除溶剂后，残留物即为乳脂肪。

(二) 适用范围与特点

本法适用于各种液状乳（生乳、加工乳、部分脱脂乳、脱脂乳等），各种炼乳、奶粉、奶油及冰淇淋等能在碱性溶液中溶解的乳制品，也适用于豆乳或加水呈乳状的食品。本法为国际标准化组织(ISO)，联合国粮农组织/世界卫生组织(FAO/WHO)等采用，为乳及乳制品脂类定量的国际标准法。需采用抽脂瓶（图8—3）。

(三) 测定方法

取一定量样品（牛奶吸取 10.00 mL；乳粉精密称取约 1 g，用 10 mL 60℃ 水，分数次溶解）于抽脂瓶中，加入 1.25 mL 氨水，充分混匀，置 60℃ 水浴中加热 5min，再振摇 2min，加入 10 mL 乙醇，充分摇匀，于冷水中冷却后，加入 25mL 乙醚，振摇半分钟，加入 25 mL 石油醚，再振摇 0.5min，静置 30min，待上层液澄清时，读取醚层体积，放出一定体积醚层于一已恒重的烧瓶中，蒸馏回收乙醚和石油醚，挥干残余醚后，放入 100~105℃ 烘箱中干燥 1.5h，取出放入干燥器中冷却至室温后称重，重复操作直至恒重。

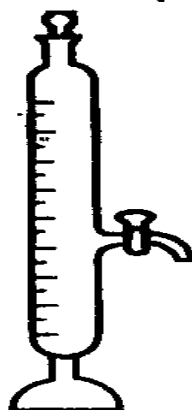


图8—3 抽脂瓶

(四) 结果计算

$$\text{脂肪 (\%)} = \frac{m_2 - m_1}{m \times V_1 / V} \times 100$$

- 式中：
 m_2 — 烧瓶和脂肪质量，g；
 m_1 — 空烧瓶的质量，g；
 m — 样品的质量，g 或 mL 数 × 相对密度；
 V — 读取醚层总体积，mL；
 V_1 — 放出醚层体积，mL。

(五) 说明与讨论

1. 乳类脂肪虽然也属游离脂肪，但因脂肪球被乳中酪蛋白钙盐包裹，又处于高度分散的胶体分散系中，故不能直接被乙醚、石油醚提取，需预先用氨水处理，故此法也称为碱性乙醚提取法。

2. 若无抽脂瓶时，可用容积 100 mL 的具塞量筒替用，待分层后读数，用移液管吸出一定量醚层。

3. 加氨水后，要充分混匀，否则会影响下步醚对脂肪的提取。

4. 操作时加入乙醇的作用是沉淀蛋白质以防止乳化，并溶解醇溶性物质，使其留在水中，避免进入醚层，影响结果。

5. 加入石油醚的作用是降低乙醚极性，使乙醚与水不混溶，只抽提出脂肪，并可使分层清晰。

6. 对已结块的乳粉，用本法测定脂肪，其结果往往偏低。

四、巴布科克法和盖勃氏法

(一) 原理

用浓硫酸溶解乳中的乳糖和蛋白质，将牛奶中的酪蛋白钙盐转变成可溶性的重硫酸酪蛋白，脂肪球膜被破坏，脂肪游离出来，再利用加热离心，使脂肪完全迅速分离，直接读取脂肪层可知被测乳的含脂率。

(二) 适用范围与特点

这两种方法都是测定乳脂肪的标准方法，适用于鲜乳及乳制品脂肪的测定。但不适合测定含巧克力、糖的食品，因为硫酸可使巧克力和糖发生炭化，结果误差较大。

改良巴布科克氏法可用于测定风味提取液中芳香油的含量 (AOAC 法 932.11) 及海产品中脂肪 (AOAC 法 964.12) 的含量。

巴布科克氏法和盖勃氏法的原理相似，盖勃氏法较巴布科克法简单快速，多用一种试剂异戊醇。使用异戊醇是为了防止糖炭化。该法在欧洲比在美国使用更为广泛。

(三) 测定方法

1. 巴布科克法

(1) 精确吸取 17.6 mL 牛乳于巴布科克氏乳脂瓶 (图 8-4) 中。

(2) 加入硫酸 (相对密度 1.816 ± 0.003 , 20°C) 17.5mL，硫酸沿瓶颈壁慢慢倒入，将瓶颈回旋，充分混合至无凝块并呈均匀的棕色。

(3) 将乳脂瓶离心 5min (约 1000r / min)，脂肪分离升至瓶颈基部。

(4) 加入热水使脂肪上浮到瓶颈基部，离心 2min。

- (5) 再加入热水使脂肪上浮到 2 或 3 刻度处，离心 1min。
- (6) 置 55~60℃ 水浴 5min 后，立即读取脂肪层最高与最低点所占的格数，即为样品含脂肪的百分率。

2. 盖勃氏法

- (1) 将 10 mL 硫酸倒入盖勃氏乳脂瓶 (图 8-5) 中。
- (2) 精确吸取 11 mL 牛乳于盖勃氏乳脂瓶中。
- (2) 加入 1 mL 异戊醇 (相对密度 0.811 ± 0.002 , 20℃, 沸程 128~132℃)。



图 8-4 巴布科克乳脂瓶

- (4) 盖紧塞子，振摇至呈均匀棕色液体，静置数分钟。
- (5) 置于 65~70℃ 水浴中 5min。
- (6) 取出擦干，调节脂肪柱在刻度内，放入离心机(800~1000r / min)中离心 5min。
- (7) 将乳脂瓶置 65~70℃ 水浴, 5min 后取出，立即读数，即为脂肪的含量。

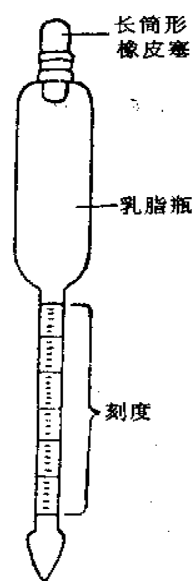


图 8-5 盖勃氏乳脂瓶

(四) 说明与讨论

1. 硫酸的浓度要严格遵守规定的要求, 如过浓会使乳炭化成黑色溶液而影响读数; 过稀则不能使酪蛋白完全溶解, 会使测定值偏低或使脂肪层浑浊。

2. 硫酸除可破坏脂肪球膜, 使脂肪游离出来外, 还可增加液体相对密度, 使脂肪容易浮出。

3. 盖勃氏法中所用异戊醇的作用是促使脂肪析出, 并能降低脂肪球的表面张力, 以利于形成连续的脂肪层。

4. 1 mL 异戊醇应能完全溶于酸中, 但由于质量不纯, 可能有部分析出掺入到油层, 而使结果偏高。

5. 加热 (65~70°C 水浴中) 和离心的目的是促使脂肪离析。

6. 罗紫一哥特里法、巴布科克法和盖勃法都是测定乳脂肪的标准分析方法。根据对比研究表明, 前者的准确度较后两者高, 后两者中巴布科克法的准确度比盖勃法的稍高些, 两者差异显著。

五、其他方法简介

(一) 氯仿-甲醇提取法

该法简称 CM 法, 其原理是: 将试样分散于氯仿-甲醇混合溶液中, 在水浴中轻微沸腾, 氯仿、甲醇和试样中的水分形成三种成分的溶剂, 可把包括结合态脂类在内的全部脂类提取出来。经过滤除去非脂成分, 回收溶剂, 残留的脂类用石油醚提取, 蒸馏除去石油醚后定量。

本法适合于结合态脂类, 特别是磷脂含量高的样品, 如鱼、贝类, 肉、禽、蛋及其制品, 大豆及其制品 (发酵大豆类制品除外) 等。对这类样品, 用索氏提取法测定时, 脂蛋白、磷脂等结合态脂类不能被完全提取出来; 用酸水解法测定时, 又会使磷脂分解而损失。但在有一定水分存在下, 用极性的甲醇和非极性的氯仿混合液 (简称 CM 混合液) 却能有效地提取出结合态脂类。本法对高水分试样的测定更为有效, 对于干燥试样, 可先在试样中加入一定量的水, 使组织膨润, 再用 CM 混合液提取。

(二) 牛奶脂肪测定仪

目前, 测定牛奶中脂肪比较先进的方法是自动化仪器分析法。如丹麦福斯电器公司生产的 MTM (milko tester minor) 型乳脂快速测定仪。它专用于检测牛奶的脂肪含量。测定范围为 0~13%, 测定速度每小时可测 80~100 个样, 测定结果数字显示。

这种仪器带有配套的稀释剂, 稀释剂是由 EDTA (乙二胺四乙酸二钠)、氢氧化钠、表面活性剂和消泡剂组成。它是利用比浊分析测定脂肪含量, 其原理如下: 用螯合剂破坏牛奶中悬浮的酪蛋白胶束, 使其溶解。悬浮物中只有脂肪球, 用均质机将脂肪球大小调整均匀 (2 μm 以下), 再经稀释达到能够应用朗伯-比尔定律测定的浓度范围, 因而可以和通常的光吸收分析一样测定脂肪的浓度。

另一类是牛乳成分综合分析仪, 它是利用红外线分光分析法, 同时测定牛乳中的脂肪、蛋白质、乳糖及固体成分 (或水分), 各种成分的归属波长 (及官能团) 分别是: 脂肪为 5.723 μm (脂肪酯键中的羰基)、蛋白质为 6.465 μm (蛋白质的肽键)、乳糖为 9.610 μm (乳糖中的羟基)。根据与标准重量法的关系, 经过实验得到的系数, 加上由红外线法求得的脂肪、蛋白质、乳糖的含量, 即为总固体分量。

从丹麦进口的 MSC104 型乳成分综合测定仪,就是利用红外线分光分析法,同时测定牛奶中脂肪、蛋白质、乳糖和水分的含量,自动进样后,经分析自动打印出测定结果。

另一种 MSC133 型乳成分综合测定仪,功能与 MSC104 型类似,可测定乳中的脂肪、蛋白质、乳糖、无脂干物质和总干物质,每小时可测 125 个样品。这种仪器的最大优点是采用了微型计算机控制,零点给定及校准等繁琐的工作都由仪器自动完成。仪器带有一个可容纳四行字的显示屏,显示值可打印到记录纸上。仪器还配有八个供测定不同乳制品所用的“频道”,每个频道可任意地对应于一种乳制品。因此, MSC133 型测定仪可为使用者提供极大的方便。

第三节 食用油脂几项理化特性的测定

一、酸价的测定

(一) 概述

酸价是指中和 1g 油脂中的游离脂肪酸所需氢氧化钾的毫克数。酸价是反映油脂酸败的主要指标,测定油脂酸价可以评定油脂品质的好坏和储藏方法是否恰当,并能为油脂碱炼工艺提供需要的加碱量。我国食用植物油都有国家标准的酸价规定。

(二) 方法原理

用中性乙醇和乙醚混合溶剂溶解油样,然后用碱标准溶液滴定其中的游离脂肪酸,根据油样质量和消耗碱液的量计算出油脂酸价。

(三) 测定方法

称取混匀试样 3~5 g 注入锥形瓶中,加入混合溶剂 50 mL,摇动使试样溶解,再加三滴酚酞指示剂,用 0.1 mol/L 碱液滴定至出现微红色,在 30s 内不消失,记下消耗的碱液毫升数(V)。

(四) 结果计算

$$\text{油脂酸价} = \frac{V \times c \times 56.1}{m}$$

式中 V— 滴定消耗的氢氧化钾溶液体积, mL;

c— KOH 溶液浓度, mol/L;

m— 试样质量, g;

56.1— KOH 的摩尔质量, g/mol。

(五) 说明

1. 当样液颜色较深时,可减少试样用量,或适当增加混合溶剂的用量,仍用酚酞为指示剂,也可以采用碱性蓝 6B、麝香草酚酞等指示剂。

2. 测定蓖麻油的酸价时,只用中性乙醇,不用混合溶剂,因为蓖麻油不溶于乙醚。

二、碘价的测定

(一) 概述

碘价(亦称碘值)即是 100g 油脂所吸收的氯化碘或溴化碘换算为碘的克数。

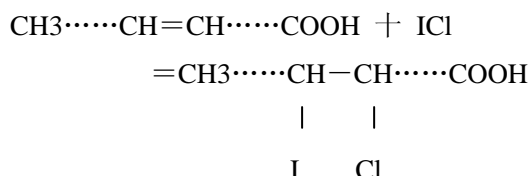
油脂中含有的不饱和脂肪酸能在双键处与卤素起加成反应。碘价越高,说明油脂中脂肪

酸的双键愈多，愈不饱和，不稳定，容易氧化和分解。因此，碘价的大小在一定范围内反映了油脂的不饱和程度。测定碘价，可以了解油脂脂肪酸的组成是否正常，有无掺杂等。

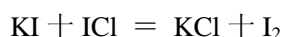
测定碘价时，常不用游离的卤素而是用它的化合物（氯化碘、溴化碘、次碘酸等）作为试剂。在一定的反应条件下，能迅速地定量饱和双键，而不发生取代反应。最常用的是氯化碘—乙酸溶液法（韦氏法）。

（二）测定原理

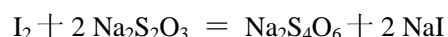
在溶剂中溶解试样并加入 Wijs 试剂（韦氏碘液），氯化碘则与油脂中的不饱和脂肪酸发生加成反应：



再加入过量的碘化钾与剩余的氯化碘作用，以析出碘：



析出的碘用硫代硫酸钠标准溶液进行滴定：



同时做空白试验进行对照，从而计算试样加成的氯化碘（以碘计）的量，求出碘价。

（三）测定方法（参照 GB/T5532 — 85）

试样的质量根据估计的碘价而异（碘价高，油样少；碘价低，油样多），一般在 0.25g 左右。将称好的试样放入 500 mL 锥形瓶中，加入 20 mL 溶剂（环己烷和冰乙酸等体积混合液）溶解试样，准确加入 25.00mL Wijs 试剂，盖好塞子，摇匀后放于暗处 30min 以上（碘价低于 150 的样品，应放 1h；碘价高于 150 的样品，应放 2h）。

反应时间结束后，加入 20mL 碘化钾溶液和 150mL 水。用 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 标准溶液滴定至浅黄色，加几滴淀粉指示剂继续滴定至剧烈摇动后蓝色刚好消失。在相同条件下，同时做一空白试验。

（四）结果计算

$$\text{碘价} = \frac{(V_2 - V_1) \times c \times 0.1269}{m} \times 100$$

式中： V_1 — 试样用去的 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液体积，mL；

V_2 — 空白试验用去的 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液体积，mL；

C — $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液的浓度，mol/L；

m — 试样的质量，g；

0.1269 — $1/2 \text{I}_2$ 的毫摩质量，g/mmol。

（五）说明及注意

1. 光线和水对氯化碘起作用，影响很大，要求所用仪器必须清洁、干燥，碘液试剂必须用棕色瓶盛装且放于暗处。

2. 加入碘液的速度，放置作用时间和温度要与空白试验相一致。

三、过氧化值的测定

(一) 概述

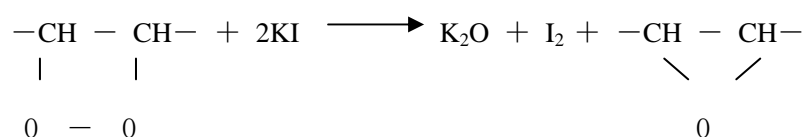
过氧化物是油脂在氧化过程中的中间产物，很容易分解产生挥发性和非挥发性脂肪酸、醛、酮等，具有特殊的臭味和发苦的滋味，以致影响油脂的感官性质和食用价值。

检测油脂中是否存在过氧化物，以及含量的大小，即可判断油脂是否新鲜和酸败的程度。

过氧化值有多种表示方法，一般用滴定 1 克油脂所需某种规定浓度(通常用 0.002mol / L) $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 标准溶液的毫升数表示，或象碘价一样，用碘的百分数来表示，也有用每 kg 油脂中活性氧的毫摩尔数表示，或每克油脂中活性氧的微克数表示等。

(二) 测定原理

油脂在氧化过程产生的过氧化物很不稳定，能氧化碘化钾成为游离碘，用硫代硫酸钠标准溶液滴定，根据析出碘量计算过氧化值。其反应为：



(三) 测定方法 (参照 GB/T5538 — 1995)

称取一定油样，加入 10 mL 三氯甲烷，溶解试样，再加入 15 mL 乙酸和 1 mL 饱和碘化钾溶液，迅速盖好，摇匀 1 min，避光静置反应 5 min。取出加水 100 mL，用 0.002mol / L $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 标准溶液滴定，至淡黄色时加入淀粉指示剂，继续滴定至蓝色消失为终点。同时做一空白试验。

(四) 结果计算

$$\text{过氧化值 (meq / kg)} = \frac{(V_1 - V_0) \times c}{m} \times 1000$$

式中： V_1 — 试样用去的 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液体积， mL ；

V_0 — 空白试验用去的 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液体积， mL ；

c — $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液的浓度， mol/L ；

m — 试样的质量， g。

若以碘的百分数表示为：

$$\text{过氧化值 (\%)} = \frac{(V_1 - V_0) c \times 126.9 / 1000}{m} \times 100$$

式中： 126.9 — 碘的摩尔质量， g / mol 。

(五) 说明

1. 饱和碘化钾溶液中不可存在游离碘和碘酸盐。
2. 光线会促进空气对试剂的氧化。
3. 三氯甲烷、乙酸的比例，加入碘化钾后静置时间的长短及加水量多少等，对测定结果均有影响。
4. 过氧化值表示方法为 meq / Kg、mmol / Kg、 $\mu\text{g} / \text{g}$ 时，其换算系数分别为 1、0.5、

8。

四、皂化价的测定

(一) 概述

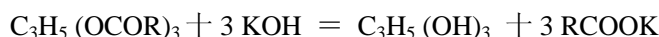
皂化价是指中和 1g 油脂中所含全部游离脂肪酸和结合脂肪酸 (甘油酯) 所需氢氧化钾的毫克数。

皂化价的大小与油脂中甘油酯的平均相对分子质量有密切关系。甘油酯或脂肪酸的平均相对分子质量越大, 皂化价越小。若油脂内含有不皂化物、一甘油酯和二甘油酯, 将使油脂皂化价降低; 而含有游离脂肪酸将使皂化价增高。

由于各种植物油的脂肪酸组成不同, 故其皂化价也不相同。因此, 测定油脂皂化价结合其他检验项目, 可对油脂的种类和纯度等质量进行鉴定。我国植物油国家标准中皂化价有规定。

(二) 测定原理

利用油脂与过量的碱醇溶液共热皂化, 待皂化完全后, 过量的碱用盐酸标准溶液滴定, 同时作空白试验。由所消耗碱液量计算出皂化价。皂化反应式如下:



(三) 测定方法 (参照 GB/T5534 — 1995)

称取混匀试样 2.00g 于锥形瓶中, 加入 0.5 mol/L 氢氧化钾乙醇溶液 25.00 mL, 在水浴上回流加热煮沸, 不时摇动, 维持沸腾 1 h (难于皂化的需 2 h) 后取下, 加入酚酞指示剂 0.5 mL, 趁热用盐酸标准溶液滴定至红色消失。同时进行空白试验。

(四) 结果计算

$$\text{皂化价} = \frac{(V_0 - V_1) \times c \times 56.11}{m}$$

式中: V_1 — 滴定试样用去的盐酸溶液体积, mL;

V_0 — 滴定空白用去的盐酸溶液体积, mL;

C — HCl 溶液的浓度, mol/L;

m — 试样质量, g;

56.11 — KOH 的摩尔质量, g/mol。

(五) 说明

1. 用 KOH 乙醇溶液不仅能溶解油脂, 而且也能防止生成的肥皂水解。
2. 皂化后剩余的碱用盐酸中和, 不能用硫酸滴定, 因为生成的硫酸钾不溶于酒精, 易生成沉淀而影响结果。
3. 若油脂颜色较深, 可用碱性蓝 6B 酒精溶液作指示剂, 这样容易观察终点。

五、羰基价的测定

(一) 概述

油脂氧化所生成的过氧化物, 进一步分解为含羰基的化合物。一般油脂随贮藏时间的延长和不良条件的影响, 其羰基价的数值都呈不断增高的趋势, 它和油脂的酸败劣变紧密相关。因为多数羰基化合物都具有挥发性, 且其气味最接近于油脂自动氧化的酸败臭, 因此, 用羰基价来评价油脂中氧化产物的含量和酸败劣变的程度, 具有较好的灵敏度和准确性。目前, 我国已把羰基价列为油脂的一项食品卫生检测项目。大多数国家都采用羰基价作为评价油脂氧化

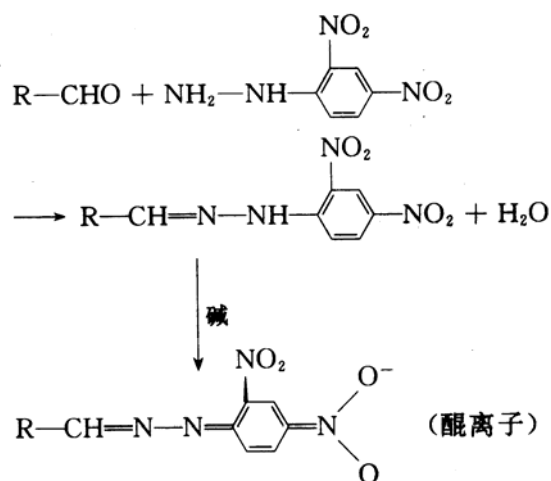
酸败的一项指标。

羰基价的测定可分为油脂总羰基价和挥发性或游离羰基分离定量两种情况。后者可采用蒸馏法或柱色谱法。下面介绍总羰基价的测定原理和方法。

(二) 总羰基价的测定

1. 测定原理

油脂中的羰基化合物和 2,4-二硝基苯肼反应生成腙，在碱性条件下生成醌离子，呈葡萄酒红色，在波长 440 nm 处具有最大的吸收，可计算出油样中的总羰基值。其反应式如下：



2. 测定方法 (参照 GB/T 5009.37 — 1996)

称取约 0.025~0.10 g 样品，置于 25 mL 具塞试管中，加入 5 mL 三苯膦溶液 (三苯膦还原氢过氧化物为非羰基化合物)溶解样品，室温暗处放置 30 min，再加 3 mL 三氯乙酸溶液及 5 mL 2,4-二硝基苯肼溶液，振摇混匀。

在 60℃ 水浴中加热 30 min，冷却后，沿试管壁慢慢加入 10 mL 氢氧化钾乙醇溶液，使成为二液层，塞好，剧烈振摇混匀，放置 10 min。以 1 cm 比色杯，用不含三苯膦的试剂空白 (以 5 mL 精制苯代替三苯膦溶液) 调节零点，用含三苯膦还原剂的试剂空白吸收作校正，于波长 440 nm 处测定吸光度。

3. 结果计算

$$\text{羰基价} = \frac{A \times V}{854 \times m \times V_1} \times 1000$$

式中：羰基价 — 每 1 kg 样品中各种醛的物质的量，mmol/kg；

A — 测定时样液吸光度；

m — 样品的质量，g；

V_1 — 测定用样品稀释液的体积，mL；

V — 样品稀释后的总体积，mL；

854 — 各种醛的毫摩尔数的平均值。

4. 注意事项

(1) 所用仪器必须洁净、干燥。

(2) 所用试剂若含有干扰试验的物质时，必须精制后才能用于试验。

(3) 空白试验的吸收值 (在波长 440nm 处，以水作对照) 超过 0.20 时，试验所用试剂的纯

度不够理想。

思考题:

1. 脂类测定最常用哪些提取剂？各有什么优缺点？
2. 理解索氏提取法测定脂肪的原理、方法，测定时应注意的事项。
3. 掌握巴布科克氏法测定牛奶脂肪的原理和方法。为什么乳脂瓶脂肪所占的格数即表示牛奶含脂率？
4. 了解罗紫—哥特里法、酸水解法测定脂肪的原理和方法。
5. 理解和掌握食用油脂特性（酸价、碘价、氧化值、过氧化值、皂化值、羰基价）的定义及其测定原理。

（陈惠音）