

植物成分测定法

蘇
全
編

江苏人民出版社

PDG

前　　言

資源植物在自然界分布很广，尤其我国处在温带与亚热带地区，植物生长的种类更加繁多。一种植物中含有多种成分，有着許多用途。例如菖蒲的叶子可作纤维，根和茎可提取揮发油和淀粉，淀粉酿酒以后的残渣还可作饲料餵猪等等。因此，充分利用野生植物資源，綜合利用野生植物，不仅能增加国家和公社的收入，而且能更好地支持工农业生产和滿足人民的需要。

自从国务院发出有关調查、利用野生植物資源的指示以后，全国各地已广泛地开展了野生植物資源的普查工作。通过普查，已經发现了不少新的、有价值的野生植物。但是由于植物的种类繁多，成分复杂，如何测定各种野生植物的成分，确定野生植物的用途，是迫切需要解决的一个問題。

植物成分的測定方法很多，我們根据两年来参加植物資源普查工作的实践，选出一些比較重要而又切实可行的方法，加以整理，汇編成冊，以供有关方面参考。本书根据不同的工作条件和野外工作的特点，分別介绍了各种測定植物成分的方法。如在簡易測定法中，即以土法为主，所用仪器尽量利用日用品代替。測定范围包括揮发油、油脂、醣类、淀粉、纤维素、木质素、鞣质、蛋白质、有机酸、維生素丙、橡胶、树脂、植物碱和皂甙等；最后还介紹了一种适合野外应用的植物成分檢驗箱。

由于我們水平限制以及时间匆促，其中錯誤和缺点在所难免，希望讀者提出批評和意見，以便再版时改正。

中国科学院南京植物研究所

一九六〇年九月

目 录

第一章 一般測定法	1
第一节 挥发油	1
一 挥发油的測定	1
二 醇醣类的測定	4
第二节 油脂	5
一 油脂的測定	6
二 水分和揮发物的測定	8
三 酸价的測定	9
四 皂化价的測定	11
五 不皂化物的測定	13
六 碘价的測定	14
第三节 醣类	18
一 糖分的測定	18
二 多縮戊醣和糠醣的測定	22
第四节 淀粉	25
第五节 纤維素与木质素	27
一 純纖維素的測定	28
二 a-纖維素的測定	29
三 木质素的測定	31
第六节 藻質(附栲胶)	32
第七节 蛋白質	39
一 粗蛋白質的測定	41
二 蛋白質中氮的測定	44
第八节 有机酸	48
一 可滴定酸的測定	49
二 草酸的測定	50
三 檸檬酸的測定	51
第九节 維生素丙(抗坏血酸)	53
第十节 橡胶和硬橡胶	59
第十一节 树脂	62
第十二节 植物碱	63

第十三节 皂甙类和强心甙类	68
一 皂甙的测定	69
二 洋地黃毒甙的测定	71
第二章 比色法	75
第三章 层析法	80
第四章 重要的理化常数測定法	86
第一 节 沸点的測定	86
第二 节 熔点的測定	88
第三 节 比重的測定	90
第四 节 折光率的測定	92
第五 节 旋光度的測定	95
第五章 簡易測定法	98
第一 节 挥发油的測定	98
第二 节 油脂的測定	101
第三 节 糖分的測定(还原糖与蔗糖)	102
第四 节 粗淀粉的測定(酸性水解法)	104
第五 节 粗纖維的測定	106
第六 节 麩質的測定	107
第七 节 粗蛋白質的測定	109
第八 节 維生素丙(抗坏血酸)的測定	112
第九 节 橡胶的測定	113
第十 节 皂甙的測定	114
附录	
一 野外用植物成分檢驗箱	116
二 常用指示劑的配制法	118
三 各种試紙的制法	119
四 有机溶剂的精制(提純)法	120
五 植物成分測定記錄表	122
六 在摄氏 15—30 度間水的密度表	130
七 醇比重表	131
八 还原糖及轉化糖的換算表	134
九 原子量和分子量表	142
十 对数表	144
十一 主要参考文献	150

第一章 一般測定法

第一节 挥发油

挥发油亦称芳香油，是由脂肪族、芳香族、氯化芳香族和杂环族化合物所组成的一种混合物，由于它能随水蒸汽蒸馏，故称挥发油。挥发油的主要成分是萜、倍半萜类及其氧化物，广泛地分布在植物的花、叶、果实、根、茎或种子各部分，主要包括以下几个科：芸香科、唇形科、伞形科、禾本科、樟科、橄榄科、松柏科、木兰科、薔薇科、白檀科、茴香科等。

挥发油是食品、化粧、医药等工业上不可缺少的原料，特别是目前我国合成香料还不多，天然香料生产又少的情况下，充分发掘野生香料植物資源就显得更为重要。

一 挥发油的测定

(一) 定性試驗：

1. 嗅覺法 凡含芳香油植物，大都具有特殊香气或刺激性气味，可用嗅觉来检查。

2. 油孔法 朝着阳光观察植物体是否有油室、油细胞存在，例如桔皮和某些种子外壳突起的小颗粒，即是油孔。

(二) 含量測定：

1. 原理 用有香味的植物样品，以水蒸汽蒸馏，然后测量蒸出的挥发油的体积。

2. 仪器与試剂

(1) 挥发油測定器(图1所示的比重小于1，为漏斗式；图2

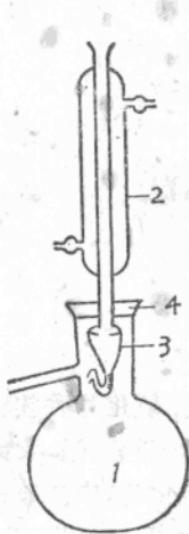


图1 挥发油测定器(比重小于1)

- 1.圆底蒸馏烧瓶；2.冷凝管；
- 3.小玻璃漏斗；4.软木塞(外包锡纸)。

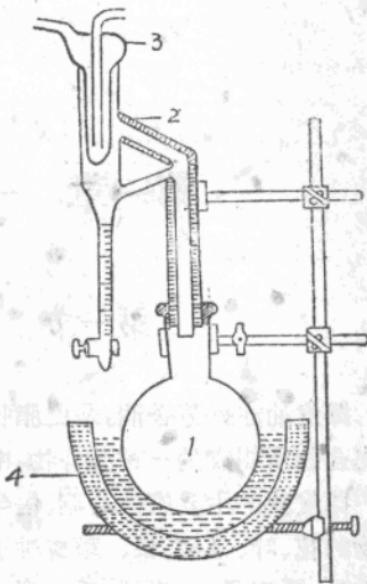


图2 挥发油测定器(比重大于1)

- 1.圆底烧瓶；2.挥发油测定管；
- 3.冷却器；4.油浴锅。

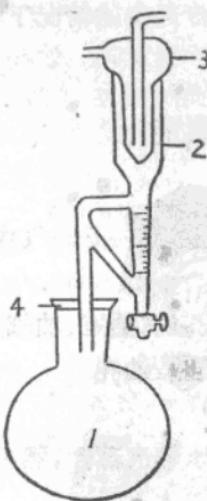


图3 挥发油测定器(比重小于1)

- 1.圆底烧瓶；2.挥发油测定管；
- 3.冷却器；4.软木塞(外包锡纸)。

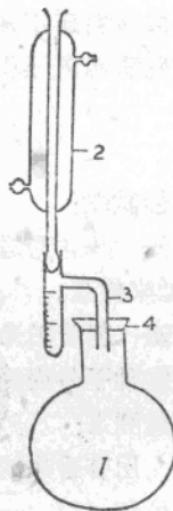


图4 水分测定器

- 1.圆底烧瓶；2.冷却管；3.水分测定管；
- 4.软木塞(外包锡纸)。

比重大于1；图3比重小于1)。

(2)水分測定器(如图4)。

(3)甲苯(分析純)。

(4)瓷片。

(5)油浴。

(6)水浴。

3.測定方法

(1)水分的測定(甲苯法)：

称取10克新鮮的植物样品，小心切細后，置入圓底燒瓶A，加入200毫升甲苯及數粒瓷片，將儀器各部分連接后，自冷凝管的頂端，加甲苯至接受管充滿為止。然后緩緩將燒瓶A加熱至沸(在水浴上)，直至接受管E中的水量不再增加時為止。放冷靜置后，讀出汇集的水量，換算成样品的含水百分率即可。

(2)揮发油的測定：

稱取新鮮样品20—50克(視其含量的多寡)，切細后置入燒瓶中，加入數粒瓷片(或玻璃珠)及300毫升水(約占燒瓶體積的 $\frac{1}{2}$ 為宜)，連接測定器的各部分，用油浴加熱蒸餾(一般在130°C左右開始蒸出)，直至接受管中的油量不再增加時為止。放冷至室溫時，讀出油量即可算出样品中的含油率。

計算公式：

$$\text{含油百分率} = \frac{\text{油量}}{\text{样品重} - \text{水分重}} \times 100$$

4.附注

(1)在水分測定時，為了讀數方便，亦可事先在接受管中加入1—2滴次甲藍試液，使水層呈藍色；但在最後必須從讀數中減去次甲藍液的體積。

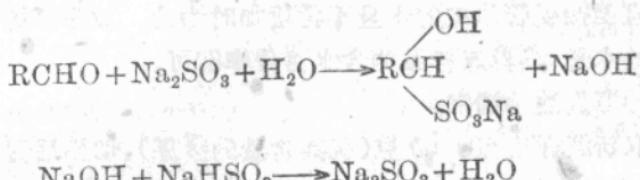
(2)燒瓶中事先必須加入瓷片，防止因過熱而引起的衝擊。

(3)加熱時，必須適當地控制溫度，最初可提高得快些，當油開始蒸出後必須小心控制，並加速冷卻，避免油的損失和影響測定的結果。

二 脫酮类的測定

醛类和酮类是揮发油的主要化学成分之一，通过对醛、酮类的检查，可以决定某些揮发油的品質，如檸檬油中的檸檬醛，肉桂油中的肉桂醛，洋杉木叶油中的側柏酮，薄荷油中的薄荷酮等。醛、酮的測定方法很多，除了简单的亚硫酸氫盐法以外，还有逕氨法，苯肼法及中性亚硫酸盐法等。其中苯肼法目前已很少用；中性亚硫酸盐法因反应迅速，結果正确，采用者較多，現将中性亚硫酸法介紹如下。

1. 原理 利用亚硫酸鈉与羰基的添加反应，且随时用酸或酸式盐中和反应过程所放出的氢氧化鈉，使反应完全，終点明确。



2. 仪器与試剂

- (1)量筒。
- (2)測醛瓶。
- (3)燒杯。
- (4)吸管。
- (5)亚硫酸鈉饱和溶液。
- (6)1%酚酞指示剂。
- (7)50%乙酸。

3. 测定方法 量取75毫升新配制的亚硫酸鈉饱和液，置于150毫升測醛瓶中，加几滴酚酞指示剂，和50%（以容量計）乙酸溶液中和游离碱，再准确量取10毫升油样，置入瓶中搖匀，浸入沸水中并反复振搖，再用50%乙酸随时中和溶液，直到加入酚酞不再显示粉紅色时，再在沸水中保持15分钟，使其反应完全。然后加入足量的中性亚硫酸鈉液，使油层上升到細頸刻度处，冷至室温后，測量

未起反应的油量。

計算公式：

$$\text{醛(或酮)\%} = 10(10 - \text{未起反应油的毫升数})$$

4.附注

(1)在油层上升时，可以輕輕敲动醛瓶，或在手掌中加速旋轉，使沾在瓶壁的油滴上升。

(2)室温时，亚硫酸鈉的饱和液大約是 30\%(W/V)。

(3)如用 30\% 亚硫酸氫鈉溶液来进行中和，则試剂亚硫酸鈉饱和溶液可改用 50 毫升。

第二节 油 脂

油脂(脂肪与脂肪油的总称)，是各种高級脂肪酸与甘油醇相結合的一种复杂酯类。由饱和脂肪酸与甘油醇相結合的酯，在常温下大多呈固体状态，这种酯称为脂肪。由不饱和脂肪酸与甘油醇結合的酯，常温下多呈液体状态，称其为脂肪油。植物油大都属于后一种情况。

油脂广泛地分布在植物界，存在于植物的种子、果实、树皮、叶子、地下莖等各种器官中。此外，油脂还存在于植物的薄壁細胞中，特別是在十字花科、亚麻科、罂粟科、錦葵科、菊科、大戟科等植物中都含有大量油脂。植物中油脂的含量，常因栽培条件、生长环境、品种特性、成熟程度等的不同而有所不等。不仅在量上不同，甚至在質上也有不同。因此，多方注意觀察油脂含量的变化，对研究油脂工作有着很大实际意义。

在选种实验时，应檢定品种，确定与品种的遺傳性有关的油在量上与质上的区别。此外，从研究油脂的組成，以及在皂化价、酸价、碘价、不皂化物等理化常数的測定中，可以进一步帮助我們在檢定油脂純度和品質方面找出重要的依据。

根据油脂不饱和脂肪酸的多少，在日常应用上把它分成为三类：

(一) 干性油：含有高度不饱和脂肪酸，碘价在130以上，露置于空气中极易被氧化成饱和脂肪酸，成为一种具有弹性的干燥膜状物，可作油漆之用。如桐油、梓油、亚麻油等均属此类。

(二) 不干性油：含不饱和酸较少（其中含有大量油酸），碘价较低，都在100以下，在常温下不会有干燥变化，即使有干燥变化程度也很弱。此类油脂适宜制香皂。如落花生油、蓖麻油等均属此类。

(三) 半干性油：介于上述二者之间，碘价为100—130，除含较多的油酸以外，还含有亚油酸和亚麻酸。露置于空气中，能逐渐变稠，但不固化。如棉子油、大豆油等即属于此类。

以上三种不同的油，并无明显的界限，仅仅是应用上的分类。很多植物由于栽培条件、地区、环境等不同，性质也有变化，如大豆油有时即列入半干性油之内。

油料不仅可以食用，同时在工业上也很需要，如作肥皂、蜡、蜡纸、油漆、化妆品、机油，医药上的润滑剂、擦剂软膏的基质，还可作农药杀虫。

油脂能溶于各种有机溶媒中，如二硫化碳、苯、醚、汽油等；不溶于水。用手摸之有油腻感，与碱共热即成肥皂。

一 油脂的测定

(一) 定性试验：

1. 斑点法 将种子放在两张滤纸中间（或普通吸水纸），用手或用其他硬物压挤，如果滤纸上的透明斑点吹干后仍不褪去，即表示含有油脂；并从斑点的大小，可以初步断定含油量的多少。另外将带有油脂斑点的纸放在火上烤时，油斑扩大而不消失，即表示含有油脂。

2. 穿刺法 用大头针或铁针穿刺晒干的种仁，然后点燃，火光明亮而持久的，含量即多，反之，含油量就少，燃不亮的，则不含油。

3. 碘酒法 用刀将种子切开，擦上碘酒，含油者碘酒不变色，

不含油者，碘酒变成藍黑色。

4. 皂化試驗 取植物2—3克切碎，置于試管中，加酒精5—10毫升，小火加热数分钟，倾出澄清液，加入10% 碱液1—2毫升混合加热，蒸去酒精，然后在残渣內加水振搖，如有泡沫即为肥皂。

5. 丙烯醛反应 按照斑点法用醇提取濃縮，取濃縮液几滴放于試管中，加1—2粒无水硫酸鈉(或硫酸氫鉀)，用直接火加热后，则有白色刺激性烟雾发生(因甘油失水生成丙烯醛 $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CHO}$)。然后将此气体通入預先准备的亚硫酸品紅試液中，如出現紅色，即表示有油脂。

(二)含量測定：

1. 原理 根据油脂能与有机溶媒溶解的特性，利用乙醚将样品中的油脂抽提出来，蒸去乙醚后，称出油的重量，换算成百分数即得。

2. 仪器与試剂

- (1) 索氏脂肪抽出器。
- (2) 濾紙。
- (3) 分析天平。
- (4) 水浴。
- (5) 烘箱。
- (6) 干燥器。
- (7) 乙醚(分析純)。

3. 測定方法

(1) 水分的測定：精密称取3或5克样品，置于烘箱中(105°C)，經2—3小时后，取出冷却称重，从样品失去的水分可得出含水量。

(2) 油脂的測定：精密称取已經混合研細的样品5或10克，放在事前准备好的濾紙套筒內，再将此濾紙筒裝入索氏抽出器內，然后連接測定器的各部分，从冷却器上端用漏斗小心加入50—100毫升的乙醚，再

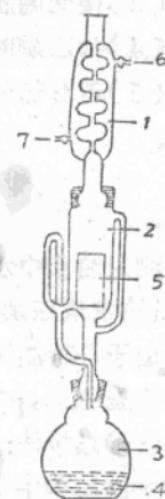


图5 脂肪抽出器

1. 冷凝管； 2. 回流浸提器(具虹吸管)； 3. 接受燒瓶； 4. 醚溶液； 5. 濾紙筒； 6. 冷水出口； 7. 冷水进口。

开冷却水，在水浴上回流抽提（約需3—5小时），然后蒸餾回收乙醚，将瓶內残渣烘干(105°C)3—5 小时后，移入干燥器中冷却称至恒重。

計算公式：

$$\text{油脂\%} = \frac{\text{油脂重(克数)}}{\text{样品重(克)} - \text{水分重(克)}} \times 100$$

$$\text{油脂重} = (\text{燒瓶重} + \text{残渣重})(\text{克}) - \text{燒瓶重}(\text{克})$$

4.附注

- (1) 将种子研碎必須注意均匀混合，然后取样称重。
- (2) 装入滤紙筒时必須小心操作，以免使沾附在紙外的微量种子被乙醚冲至下面的接受燒瓶內，混入油脂中影响重量。
- (3) 接受燒瓶应事先洗淨、烘干，称得恒重。
- (4) 加乙醚时下面不可加热，以免乙醚揮发损失。
- (5) 若有部分乙醚揮发，須随时注意添加补充，保証油脂抽提完全。

二 水分和揮发物的測定

测定油脂中水分和揮发物含量的方法很多，常用的有：热板法；烘箱或减压烘箱法；紅外綫測定法；蒸餾法等。

由于各种油脂的性質不一样，所以对水分和揮发物的測定也就不完全相同，一般采用如下两种方法来測定。

(一)热板法：一般应用于不干性油（不会揮发性物质），不适用于干性油和半干性油。这是因为这类油在加热时容易吸收空气氧，引起重量的增加，导致水分与揮发油物的含量偏低。

(二)烘箱法：基本上与热板法相同。为了避免揮发性物质揮发，可采用减压烘箱法。

1. 原理 将样品置于一定温度下烘干，失去的重量即为該样品的含水量。

2. 仪器与試剂

(1)玻璃称皿。

(2) 干燥器。

(3) 电热板。

(4) 烘箱或真空烘箱。

3. 测定方法

(1) 热板法(普通用电热板): 称取油的試样2—10克, 放在洁淨的已称恒重的称皿内(50毫升燒杯), 再将称皿放在电热板上(130°C)加热, 并用手轉動, 应注意防止水分溢出; 加热直到无水蒸气为止(或者于皿上加表面玻璃, 如无水滴凝結, 即表示已烘干); 待水分完全揮发后, 放入干燥器内, 冷却称至恒重。

(2) 烘箱法: 称取油的試样2—5克, 放在一个已称重的称皿内, 于 105 — 110°C 的温度下烘干, 然后在干燥器中冷却, 称至恒重。

减压烘箱法基本上与烘箱法相同, 只不过是减低了压力和温度(一般在100毫米水銀柱及 77°C 以下)。

計算公式:

$$\text{水分及揮发物 \%} = \frac{\text{失去重量} \times 100}{\text{供試品克數}}$$

三 酸价的测定

从成熟的种子和果实中所得到的油脂, 一般是中性, 也就是不含游离脂肪酸或者說含得极少。但是由于在植物組織中常伴随有酶的存在, 可使油脂水介生成游离脂肪酸(或者因种子和果实或其油因貯藏不当, 而产生油脂酸敗), 因此在檢驗时常将油脂中含游离脂肪酸的高低, 作为測定品質好坏的指标之一。

所謂酸价, 系指在脂肪、脂肪油、蜡、树脂或其他类似有机物1克中所含的游离脂肪酸类中和时, 所需要的氢氧化鉀毫克数。

1. 原理 利用已知濃度的硷滴定游离酸, 以消耗的硷量換算出酸的含量, 再折算成酸价。

2. 仪器与試剂

(1) 200毫升錐形瓶。

(2) 空气冷凝器或冷凝器。

(3) 酚酞指示剂。

(4) 滴定管。

(5) 中性乙醇。

(6) 0.1N 氢氧化钾溶液。

3. 测定方法

精密称取样品3—5克，置入200毫升干净的锥形瓶中，加入50毫升已经中和的95%乙醇（即中性乙醇），经过振荡使试样溶解。如溶解得不完全，可装上空气冷凝管，置于水浴上微热使其溶解，然后再加入0.5毫升的酚酞指示剂，用0.1N氢氧化钾溶液滴定至终点（终点的颜色至少维持15秒钟左右）。

计算公式：

$$\text{酸价} = \frac{\frac{1}{10}\text{N KOH液的毫升数} \times 5.61}{\text{供试品的克数}}$$

4. 药剂的配制和标定

(1) 中性醇制备：取一定数量的醇（无醛乙醇），加二滴酚酞指示液，然后用 $\frac{1}{50}$ N 氢氧化钠或 $\frac{1}{10}$ N 氢氧化钾溶液滴定，至显粉红色为止。

(2) 无醛乙醇的制备：

1) 取乙醇加2克硝酸银，用3毫升的水溶解再放到入1,000毫升的乙醇中，猛烈振摇后，再加3克氢氧化钾溶于15毫升热乙醇的溶液，充分振摇，静止后，吸取上层澄清液蒸馏即可。

2) 取醋酸铅2.5克，溶于5毫升水内，加1,000毫升乙醇，再缓缓加入氢氧化钾溶液25毫升（取氢氧化钾5克加热醇25毫升溶解，冷却后即成），放置一小时，用力振摇后，静止12小时，倾取上层澄清溶液，蒸馏回收乙醇即得。

加氢氧化钾的目的，是使乙醇中的酸生成不挥发性盐，同时使醛类聚合；氢氧化钾能使醋酸铅分解，生成氧化铅和醋酸钾，当氧化铅在沉淀时把聚合物带下，铅即与存在乙醇中的硫化氢生成硫化铅沉淀。

5.附注

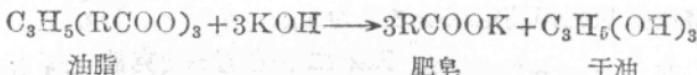
(1)試样的重量，應視試樣的顏色而有所增減，酸價小顏色淡，可多至10克，酸價大顏色深，可酌取至1克。

(2)所用溶劑除用中性乙醇外，還可用乙醚加乙醇(2:1)、乙醇加石油醚(1:2)的混合溶劑，但均須經過處理方可使用。

四 皂化價的測定

皂化價是表示中和1克樣品中游離脂肪酸和酯類皂化所需氫氧化鉀的毫克數。皂化價大的，表示適合制作肥皂。同時還可以幫助我們制作肥皂時掌握用碱量的正確計算，因此它是油脂質量的重要指標之一。

1.原理 利用油脂能被碱液皂化的特性，先將供試油脂與稱重的醇製氫氧化鉀溶液共熱皂化，用鹽酸滴定剩余的氫氧化鉀溶液，同時作一空白試驗對照。



2.儀器和試劑

(1)滴管稱量瓶(稱油用圖6)。

(2)50毫升錐形燒瓶。

(3)空氣冷凝管。

(4)10毫升滴定管。

(5) $\frac{1}{2}$ N 醇製氫氧化鉀

溶液。

(6)酚酞指示劑。

(7) $\frac{1}{2}$ N 鹽酸溶液。

(8)無醛乙醇(見碘價測定)。

3.測定方法 精密稱取油脂0.05—0.1克，置於一50毫升的錐形瓶中，由滴定管加入 $\frac{1}{2}$ N 醇製氫氧化鉀溶液6—10毫升，裝上空氣冷凝管，在水浴鍋上加熱，應作經常振搖；半小時後，加幾滴酚

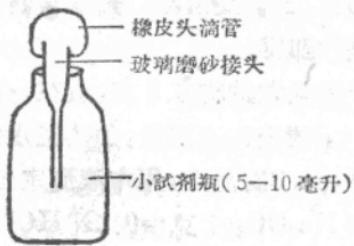


图6 滴管称量瓶

酚指示剂，用 $\frac{1}{2}$ N盐酸溶液滴定剩余的氢氧化钾，结果用空白试验对照（即不加油样，试剂照加）。

计算公式：

$$\text{皂化价} = \frac{28.05 \times (\text{甲} - \text{乙})}{\text{供试品重}}$$

甲——空白滴定时消耗酸液毫升数

乙——样品滴定时消耗酸液毫升数

4. 药剂的配制及标定

(1) $\frac{1}{2}$ N 醇制氢氧化钾溶液：称取 30 克纯氢氧化钾置于 1,000 毫升量瓶中，加入适量的无醛乙醇，使其溶解成 1,000 毫升，紧塞静止 24 小时后，迅速将上层的澄清液倾取至另一个带有橡皮塞的玻璃瓶中即得。

精确称取 0.25 克邻苯二甲酸氢钾两份，分别置于 50 毫升的三角瓶中，用 25 毫升蒸馏水分别溶解后，再加 2 滴酚酞指示剂，用 N/2 醇制氢氧化钾滴定至粉红色为止。

$$N_{(\text{KOH})} \times ml_{(\text{KOH})} = \frac{\text{邻苯二甲酸氢钾的克数}}{\text{邻苯二甲酸氢钾分子量}} \times 1,000$$

(2) N/2 盐酸溶液：量取盐酸（比重 1.19）43 毫升，加水到 1,000 毫升即得。

取干燥碳酸钠约 0.5 克，放在一白瓷皿内，用 270°C 温度烧灼 1—2 小时，精密称定重量，加蒸馏水使其溶解成 100 毫升，再加甲基橙 2 滴，并不断搅拌，用本液滴定至由黄色变成粉红色为止。

根据 Na_2CO_3 1 克 = 0.5N HCl 37.736 毫升关系，计算出盐酸的准确度。

5. 附注

(1) 配制醇制氢氧化钾溶液时所用的酒精，必须按碘价测定一节处理。

(2) 在皂化时，应注意振摇，对于一般质量较差的玻璃不宜用于皂化测定。

五 不皂化物的測定

不皂化物包括高級脂肪醇、甾醇、色素及碳氢化合物，这些物质均不与烧碱起皂化作用。一般药典对于油脂的不皂化物含量都有一定的规定，含量太高的油脂，往往不宜于制皂，尤其是软肥皂。所以不皂化物的含量，是检定油脂品质的标准之一。

1. 原理 将脂肪或油脂，先用碱液皂化，然后将皂化后的皂化物溶于水中，再用有机溶剂提取不皂化物，分离后，蒸去溶剂即得不皂化物，称重计算。

2. 仪器与试剂

(1) 250毫升依氏烧瓶。

(2) 冷凝器。

(3) 水浴锅。

(4) 分液漏斗。

(5) 乙醇(95%分析用)。

(6) 氢氧化钠溶液(1:125 及 1:250)。

3. 测定方法 精密称取油脂2—5克，置于依氏烧瓶中，加氢氧化钾2克与乙醇40毫升制成的溶液，装上冷却器，在水浴上缓缓煮沸2小时。然后拆除冷却器继续蒸发，使醇完全挥发掉，加入热蒸馏水50毫升溶解后，移入分液漏斗；烧瓶用热蒸馏水分次洗涤(每次约25毫升)，洗液一同併入漏斗，放冷至室温后，用醚振摇二次(每次50毫升)，振摇后可加醇数滴，促使两液容易分层。合併的醚液置入另一分液漏斗内，顺序地用1:250和1:125的氢氧化钠(各20毫升)洗涤，再用蒸馏水(15毫升)反复洗涤至中性(酚酞指示剂不变红色)。然后将醚液移入已称重的烧杯中，把分液漏斗用10毫升醚洗净，洗液併入烧杯，在水浴上蒸干，再烘干1小时(100°C)，移入干燥器中放冷，称至恒重。

计算公式：

$$\text{不皂化物 \%} = \frac{A - B}{W} \times 100$$