

合成油脂的微生物的研究

III. 根霉油脂的理化性质试验

张憲武 韓靜淑 林佩真

(中国科学院林业土壤研究所, 沈阳)

我們在前一报告中,探讨了根霉油脂形成的条件^[1]。本文是对根霉合成的油脂,进行其物理-化学性质的试验,企图阐明其性质,为对根霉脂肪酸组成的生物化学性质的进一步研究及考虑生产实践上的应用,提供参考。

一、试验方法和结果

大量培养,搜集菌体,于10升容器中,盛入2.5升培养液(葡萄糖2.0%; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.08%; KH_2PO_4 0.05%; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.025%; $\text{K} \cdot \text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$ 0.5%; 培养液 pH 7.0)。接入预先在麴汁琼脂斜面上培养3—5天,产生了孢子的根霉菌 [*Rhizopus*-280 (*R. japonicus* Vuill.)] 种菌2支斜面,30℃培养10天。培养后的菌丝体,置入100℃蒸汽锅中,灭菌30分钟。取出菌体,用水洗涤,在室温下用电扇吹干。将风干的菌体,用1N盐酸溶液于水浴中热处理2小时。过滤处理后的菌体,同样在室温下用电扇风干。将此菌体置入大型索氏脂肪抽出器中,以乙醚萃取8—10小时。将油脂充分除去溶剂,置入暗处避光,于室温下保存。

油脂理化常数分析,按照油脂、蜡分析标准法进行测定^[2-4],其中碘值用韦氏法^[2],饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸用铅盐-乙醚法^[2,3],不皂化物用乙醚萃取法^[2,3]。结果如表1。

表1 *Rhizopus*-280 油脂的理化特性

测定项目	结果	测定项目	结果
比重(25/25℃)	0.9096	酯价	159.0
熔点(℃)	30	硫氰值	54.0
折光率(30°)	1.4731	乙酰价	9.3
碘值	66.0	饱和脂肪酸(%)	23.6
酸值	25.0	不饱和脂肪酸(%)	67.9
皂化值	184.0	不皂化物(%)	1.8

用稍加修改的 C. V. Viswanathan 的纸上层析法^[5],对根霉脂肪酸组成进行鉴定。将裁剪好的直径24厘米的圆形 Whatman 3号滤纸,预先用10%液体石蜡苯混合液渗透,风干。试料饱和脂肪酸样品,用 M. A. Buchanan 法,进行过氧化处理^[6]。用微量吸管分别量取浓度为5%饱和脂肪酸、不饱和脂肪酸之氯仿溶液0.03—0.04毫升,正确点于滤

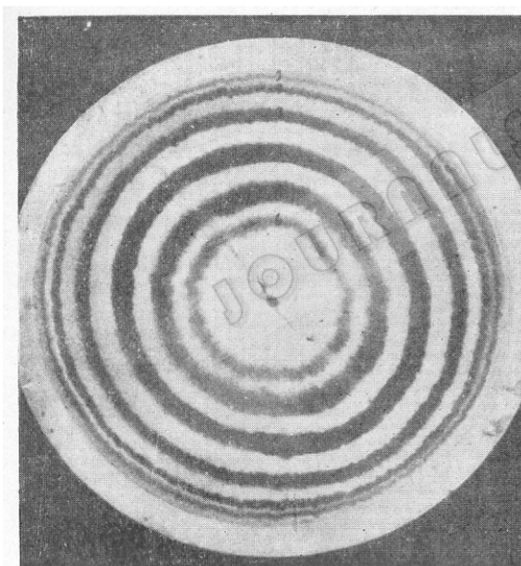
紙中心。俟溶剂挥发后,于 37°C 恆温下,以 90% 醋酸为展开剂,分別各展开 3 次。展开距离 10—11 厘米,展开時間約为 3—4 小时。在 37°C 下与原法在 55°C 下展开时的分离效果完全一致,但用 37°C 的恆温条件,更易于控制。俟展开后的紙譜风干后,饱和脂肪酸紙譜用鉛盐-硫化鉍法^[7]代替原醋酸汞-均二苯卡巴氮法显色,不饱和脂肪酸紙譜用高錳酸鉀法^[7]代替原碘蒸气薰染法显色。前者在白色背地上显黑色带状斑点,后者則在淡黄色背地上显茶褐色带状斑点。用已知的 1% 浓度的标准脂肪酸氯仿溶液(量取 0.03—0.04 毫升)作为标准样品。結果如表 2、图(1—4)。

表 2 *Rhizopus*-280 脂肪酸組成层析結果

(展开剂: 90% 醋酸,展开溫度 37°C,展开距离 10—11 厘米)

試驗材料	飽 和 脂 肪 酸 (R_f 值)						不飽和脂肪酸(R_f 值)			
	月桂酸 (C_{12})	癸酸 (C_{14})	棕櫚酸 (C_{16})	硬脂酸 (C_{18})	花生酸 (C_{20})	山萵酸 (C_{22})	亚油酸 (C_{18})	油 酸 (C_{18})	3*	4*
样 品	0.90	0.82	0.72	0.60	0.48	0.38	0.90	0.83	0.78	0.69
标 准	0.91	0.83	0.70	0.60	0.51	0.35	0.92	0.86	—	—

* 末与标准酸对比鉴定的不饱和脂肪酸。



(a) 标准

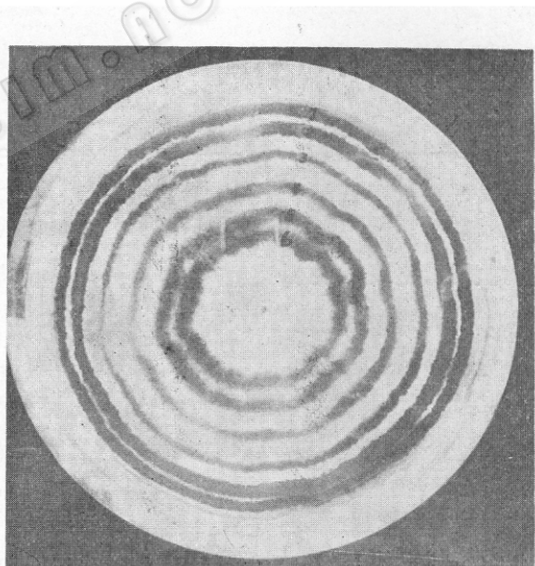
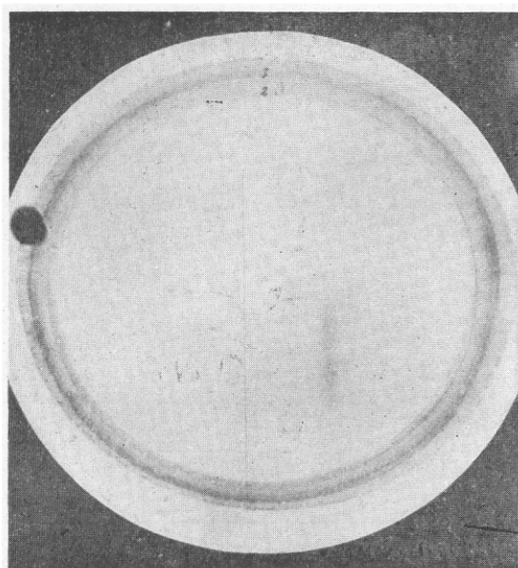
(b) *Rh.*-280

图 1 飽和脂肪酸的紙层析譜

1. 月桂酸; 2. 癸酸; 3. 棕櫚酸; 4. 硬脂酸; 5. 花生酸; 6. 山萵酸。

Rh.-280 油脂,色泽淡黄,含有較高的飽和脂肪酸成分,碘值較小,和动物油脂很相近似而不近似植物油脂^[8,9](一般动物含飽和脂肪酸較高,碘值都比較小,变动范围在 50—85 之間)。由紙层析結果,飽和脂肪酸中含有月桂酸、癸酸、棕櫚酸、硬脂酸、花生酸、山萵酸的高級脂肪酸类。不饱和脂肪酸含有油酸,亚油酸及两种未鉴定的脂肪酸。

試驗所得到的酸值結果較高,很可能由于我們在制备 *Rh.*-280 油脂的样品时,是用盐酸处理菌体,以致有所影响,无形增大了碱的毫克数。故在大量制备油脂过程中,采用粉磨菌体或加用盐酸^[1]处理菌体等其他較适合的方法来制备油脂的問題,值得探討。



(a) 标准

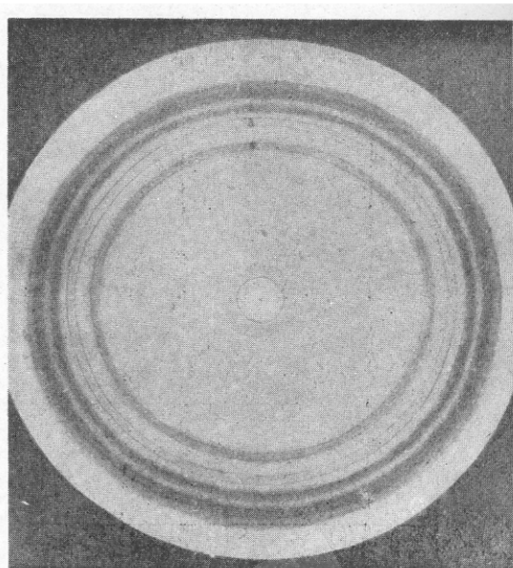
(b) *Rh.*-280

图2 不饱和脂肪酸的紙层析譜

1. 亚油酸; 2. 油酸; 3. 与 4. 未鉴定。

試驗应用的圓形滤紙层析法,对生物体含高級脂肪酸的鉴定,結果理想。使用的仪器和試剂均極简单,色譜重現性良好。用高錳酸鉀显色不飽和脂肪酸較碘蒸气薰染法^[5],显色明显,色譜稳定,操作更加簡易,結果滿意。

二、总 結

1. *Rhizopus*-280 油脂含有較高量的飽和脂肪酸成分,碘价比較小,是一种和动物油很相近似的油脂。經紙譜分析,飽和脂肪酸中含有月桂酸、蔻酸、棕櫚酸、硬脂酸、花生酸、山萘酸;不飽和脂肪酸中含有油酸、亚油酸及两种未鉴定的酸。

2. 应用的圓形滤紙层析法,是分析生物体含高級脂肪酸組成的一种簡易方法。方法簡便,結果滿意。可以使 C_{12-22} 的高級脂肪酸,很清楚的分离开。

参 考 文 献

- [1] 张宪武、韓靜淑、朱凤琳: 微生物学报, **8**: 337—348, 1962。
- [2] 张志賢編著: 油脂、蜡檢驗, 科技卫生出版社, 1959。
- [3] *Methods of Analysis*, A.O.A.C., 7th ed. 1950。
- [4] *British Standard Methods of Analysis of Oil and Fats*, B. S. 684, 1950。
- [5] Viswanathan, C. V. and B Meera Bai: *J. Chromatography*, **6**: 264, 1961。
- [6] Buchanan, M. A.: *Anal. Chem.*, **31**: 1616, 1959。
- [7] 平山修、井上吉之: 日本农艺化学会志, **35**: 138, 1961。
- [8] [苏] A. A. 季諾維耶夫著: 油脂化学, 南京工学院食品工业系油脂教研組譯, 輕工业出版社, 1958。
- [9] 謝劲松編: 油脂工业檢驗手册, 輕工业出版社, 1959。

STUDIES ON THE FAT SYNTHESIZING MICRO-ORGANISMS

III. EXAMINATION OF THE PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF THE FAT FROM RHIZOPUS-280

CHANG HSIEN-WU, HAN JING-SHU AND LIN PEI-CHEN

(Institute of Forestry and Pedology, Academia Sinica, Shenyang)

The fat from *Rhizopus*-280 has been found to have a relatively high saturated fatty acid content and a lower iodine number and much resembles animal fat. By paper chromatographic analysis, it has been found that lauric, myristic, palmitic, stearic, arachidic and behenic are the saturated fatty acid components, while linolic, oleic and two unidentified fatty acids, the unsaturated fatty acid components.

C. V. Viswanathan's circular paper chromatography method with slight modification is a simple and adequate method for the analysis of higher fatty acids of biological origin. It can be used for the identification of fatty acids mixture with carbon atoms from 12 to 22 with clear-cut separation.