

# 厚网藻脂类化合物的化学分析及抑菌作用

郑 怡<sup>1</sup>, 江红霞<sup>2</sup>, 林雄平<sup>1</sup>

(1. 福建师范大学 生物工程学院, 福建 福州 350007; 2. 河南师范大学 生命学院, 河南 新乡 453002)

**摘要:** 从厚网藻 (*Pachydictyon coriaceum* Okamura) 中提取粗脂肪, 经硅胶柱用 3 种溶剂洗脱, 得到乙醇、苯及石油醚 3 种洗脱组分, 它们分别占总洗脱组分的 94.4%, 3.0% 和 2.6%。色谱-质谱 (GC-MS) 的化学分析结果表明, 石油醚洗脱组分主要为 C<sub>15</sub>~C<sub>29</sub> 系列烷烃化合物, 而苯洗脱组分只含有一种化合物即 1-Naphthalenamine, N-Phenyl (一种含苯基的萘胺化合物)。抑菌实验显示 3 种洗脱组分分别对供试的真菌具有抑制作用, 其中石油醚洗脱组分能够抑制中华根霉 (*Rhizopus chinensis*)、产黄青霉 (*Penicillium chrysogenum*) 和稻瘟病菌 (*Piricularia oryzae*) 3 种真菌, 而乙醇洗脱组分只能抑制中华根霉, 但其抑制活性最强。3 种洗脱组分中只有乙醇洗脱组分具有抗细菌 (枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)、金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、藤黄八叠球菌 (*Sarcina lutea*) 和甘薯薯瘟病原细菌 (*Fusarium oxysporum*) 活性。

**关键词:** 厚网藻 (*Pachydictyon coriaceum* Okamura); 脂类; 化学分析; 抑菌作用

中图分类号: Q54 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2004)10-0042-03

脂类作为藻类植物体的重要成分之一, 不仅担负着重要的生理功能, 而且还有广泛的应用前景。一些微藻细胞中的油脂类化合物被认为是沉积地层中石油形成的母质来源<sup>[1]</sup>, 许多海藻的脂类化合物具有抗菌作用, 一些有效成分也逐渐被鉴定<sup>[2, 3]</sup>。由于海洋环境与陆地环境的差异, 海藻中的有效成分具有明显的特殊性和新颖性, 引起了人们的极大关注。中国海岸线漫长, 海藻资源丰富, 在海藻抗菌活性方面已开展了一些筛选研究<sup>[4, 5]</sup>, 但对与抗菌活性有关的化合物的化学分析研究甚少。厚网藻 (*Pachydictyon coriaceum* Okamura) 属于褐藻门的网地藻科 (Dictyotaceae), 是福建沿岸常见的种类, 作者分离了该藻脂类化合物的不同组分, 进行了色谱-质谱 (GC-MS) 分析和抗菌抗真菌活性测定, 以期海藻抗菌物质的研究和开发提供有用的资料。

## 1 材料和方法

### 1.1 海藻样品和菌种的来源

海藻于 2001 年 5 月采自福建平潭岛, 经鉴定为厚网藻。藻体洗净阴干后, 经粉碎、过筛后备用。实验用的 12 种菌 (其中 6 种细菌, 6 种真菌) 分别取自福建师范大学微生物实验室和福建农林大学植保系 (植物病原菌)。

### 1.2 脂类的提取和分离

称取 10 g 干藻粉, 以乙醚 (分析纯) 为溶剂在索氏提取器上回流抽提 72 h, 然后用旋转蒸发器减压蒸去有机溶剂, 获得脂类粗提物, 恒温干燥, 称质量。

脂类粗提物经硅胶 (60 型) 柱层析分离, 先后以石油醚、苯、无水乙醇为溶剂进行洗脱, 得到石油醚洗脱组分 (非极性脂)、苯洗脱组分 (弱极性脂) 和乙醇洗脱组分 (强极性脂), 挥去溶剂后, 恒温干燥, 称质量, 再分别加入以上 3 种溶剂配置成浓度为 100 g/L 的提取液, 用于成分分析和抑菌实验。

### 1.3 抑菌实验

采用纸片法: 按文献[5]的方法进行, 细菌琼脂平板 18~24 h、真菌琼脂平板 48~72 h 后分别观察结果, 测量抑菌圈宽度的大小。

### 1.4 GC-MS 仪器及分析

收稿日期: 2003-03-05; 修回日期: 2003-06-30  
基金项目: 福建省自然科学基金 (B0310003); 福建省科技厅项目 (K1-142)  
作者简介: 郑怡 (1959-), 男, 硕士, 教授, 主要从事藻类学研究, E-mail: ZY718@public.fz.fj.cn

乙醇洗脱组分因极性高,难以气化,故只对石油醚和苯洗脱的组分进行 GC-MS 分析,仪器系安捷伦 6890/5973n 色质联用仪,色谱柱为 HP-FFAP 毛细管柱,程序升温 70~290 °C,炉温 40~220 °C,进样口温度 250 °C。质谱仪电子轰击能量 70 eV,分流进样,分比为 20:1,载气为氦气,进样量 1.0 μL。

## 2 实验结果

### 2.1 厚网藻脂类化合物的含量

经索氏抽提后测得厚网藻粗脂肪的含量为 9%,硅胶柱层析后的石油醚(非极性)洗脱组分、苯(弱极性)洗脱组分和乙醇(强极性)洗脱组分分别占总洗脱组分的 2.6%、3.0% 及 94.4%,表明厚网藻的脂溶性化合物中强极性脂占绝大多数,而非极性脂和弱极性脂的含量很低。

### 2.2 厚网藻脂类化合物洗脱组分的化学成分分析

#### 2.2.1 石油醚(非极性)洗脱组分的 GC-MS 分析

GC-MS 分析结果表明,石油醚洗脱组分主要为浓度相当的 C<sub>15</sub>~C<sub>29</sub>系列烷烃化合物。

#### 2.2.2 苯(弱极性)洗脱组分的 GC-MS 分析

GC-MS 分析结果表明,苯洗脱组分的色谱图只有一个明显的主峰,表明该组分可能只含有一种化合物,经质谱图分析,该化合物的名称是 1-Naphthalenamine, N-Phenyl(一种含苯基的萘胺化合物)。

### 2.3 厚网藻脂类化合物的抑菌作用

#### 2.3.1 3种洗脱组分对细菌的抑制作用

实验结果见表 1,在 3 种洗脱组分中,由石油醚洗脱的非极性脂组分和苯洗脱的弱极性脂组分对供试的细菌均无抑制作用,只有乙醇洗脱的极性脂组分具有抗菌活性,能够抑制 4 种细菌即枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、藤黄八叠球菌(*Sarcina lutea*)和甘薯薯瘟病原细菌(*Fusarium oxysporum*),其中对金黄色葡萄球菌的抑制活性最强。乙醇洗脱组分对大肠杆菌(*Escherichia coli*)和普通变形杆菌(*Proteus vulgaris*)没有抑制作用。

#### 2.3.2 3种洗脱组分对真菌的抑制作用

与抗菌作用不同,3 种洗脱组分分别对真菌(至少 1 种)都具有抑制作用(表 1),但总体上抑制活性弱于对细菌的抑制活性。在抗真菌作用中,石油醚洗脱组分能够抑制的真菌最多,达 3 种即中华根霉(*Rhizopus chinensis*)、产黄青霉(*Penicillium chrysogenum*)和稻瘟病菌(*Piricularia oryzae*),苯洗脱组分能够抑制黑曲霉(*Aspergillus niger*)和产黄青霉(*Penicillium chrysogenum*) 2 种,而乙醇洗脱组分只能抑制中华根霉

表 1 厚网藻脂类化合物洗脱组分的抗菌活性

Tab. 1 Antibacterial and antifungal activities of different elution fractions of lipid from *Pachydictyon coriaceum*

微生物	洗脱组分抑菌圈宽度(mm)		
	石油醚	苯	乙醇
枯草芽孢杆菌	-	-	3.0
金黄色葡萄球菌	-	-	3.5
藤黄八叠球菌	-	-	3.0
甘薯薯瘟病原细菌	-	-	2.5
大肠杆菌	-	-	-
普通变形杆菌	-	-	-
黑曲霉	-	1.0	-
中华根霉	1.0	-	3.0
产黄青霉	0.5	0.5	-
啤酒酵母	-	-	-
( <i>Saccharomyces carlsbergensis</i> )	-	-	-
玉米大斑病菌	-	-	-
( <i>Helminthosporium turcicum</i> )	-	-	-
稻瘟病菌	0.5	-	-

- :无抑菌活性。

1 种,但其抗真菌活性最强。

## 3 讨论

研究表明藻类的脂类粗提物用不同极性有机溶剂经硅胶柱洗脱后,不同极性的脂类化合物的含量有很大的差异。吴庆余<sup>[6,7]</sup>等报道的 2 种微藻的脂溶性化合物中强极性脂组分占总洗脱组分的 90% 以上,在本实验中,厚网藻的 3 种洗脱组分中也是以乙醇洗脱的强极性脂组分为主。藻类脂溶性化合物中烃类化合物的组成和含量通常与种类有关,Clark<sup>[8]</sup>等对一些海洋真核藻类的研究表明,它们的烃类化合物中 n-C<sub>15</sub>和 n-C<sub>17</sub>的含量最高,其次是 n-C<sub>27</sub>和 n-C<sub>30</sub>,在作者测定的厚网藻石油醚洗脱组分中主要为 n-C<sub>15</sub>~n-C<sub>29</sub> 烃类化合物,但它们的含量相当。

从 20 世纪 50 年代发现海藻提取物具有抗菌活性至今,已经有许多世界不同地区海藻抗菌活性的筛选研究<sup>[9,10]</sup>,但在这些研究中大多是以未经分离纯化的有机溶剂粗提物来测定的。这些研究还表明海藻的抗菌活性与采用的溶剂有关,Rao<sup>[11]</sup>等报道丙酮、氯仿、醋酸乙酯及甲醇等不同溶剂的提取物表现出不同的抗菌效果,表明具有抗菌作用的有效成分存在于不同的提取溶剂中。帅然新<sup>[4]</sup>等采用索氏提取方法,以乙醚为溶剂提取的粗脂肪具有较好的抗菌活性。

海藻脂类化合物中含有不同极性的组分,但对于它们在抗菌作用上的差异目前还不清楚。作者研究表明,厚网藻的抗细菌有效成分主要存在于乙醇洗脱的

强极性脂组分中, 而抗真菌成分在 3 种洗脱组分中都有, 但强极性脂洗脱组分的抗菌活性最强。这些研究结果将为海藻抗菌的有效成分的进一步提纯和应用提供有效的途径。

参考文献:

- [1] Gelpi E, Schneider J, *et al.* Hydrocarbons of geochemical significance in microscopic algae[J]. **Phytochemistry**, 1970(9): 603- 612
- [2] Glombitza K W. Antibiotics from algae[A]. Hoppe H A, Leving T, Tanaka Y. Marine Algae[C]. Berlin: Walter de Gruyter, 1979. 303- 342.
- [3] Mahasneh I, Jamal M, Kashasneh M, *et al.* Antibiotic activity of marine algae against multiantibiotic resistant bacteria[J]. **Microbios**, 1995, 83: 23- 26
- [4] 帅然新, 徐祖洪. 青岛沿海九种海藻的类脂及酚类抗菌活性的研究[J]. **中国海洋药物**, 1997, **16**(4): 16- 19.
- [5] Zheng Y, Chen Y S, Lu H S. Screening for antibacterial and antifungal activities in some marine algae from the Fujian Coast of China[J]. **Chin J Oceanol Limnol**, 2001, **19**(4): 326- 331.
- [6] 吴庆余, 乙引, 盛国英, 等. 弱细颤藻脂溶性化合物分析[J]. **植物学报**, 1989, **31**(10): 789- 802
- [7] 吴庆余, 盛国英, 傅家谟. 自养与异养小球藻脂溶性化合物对比研究[J]. **植物学报**, 1993, **3**(11): 849- 858.
- [8] Clark R C, Blumer M. Distribution of n- paraffins in marine organisms and sediment[J]. **Limnology and Oceanography**, 1967(12): 79- 87.
- [9] Pesando D, Caram B. Screening of marine algae from French Mediterranean coast for antibacterial and antifungal activity[J]. **Bot Mar**, 1984, 27: 381- 386
- [10] Padmakumar K, Ayyakkanna K. Seasonal variation of antibacterial and antifungal activities of the extracts of marine algae from Southern Coasts of India[J]. **Bot Mar**, 1997, 40: 507- 515.
- [11] Rao S, Padmini P, Rao P S, *et al.* Antibacterial substances from brown algae II. efficiency of solvents in the evaluation of antibacterial substances from *Sargassum johnstonii* Setchell et Gardner[J]. **Bot Mar**, 1986, 29: 503- 507.

## Chemical analysis of lipid compound and its antibacterial and antifungal activities in *Pachydictyon coriaceum*

ZHENG Yi<sup>1</sup>, JIANG Hong-xia<sup>2</sup>, LIN Xiong-ping<sup>1</sup>

(1. Bioengineering College, Fujian Teachers University, Fuzhou 350007, China; 2. College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453002, China)

Received: Mar., 5, 2003

Key word: *Pachydictyon coriaceum* Okamura; lipid; chemical analysis; antibacteria; antifungia

**Abstract:** Crude grease extracted from a marine alga, *Pachydictyon coriaceum* Okamura, was eluted on silica gel column using three solvents. Ethanol fraction, benzene fraction and petroleum ether fraction occupying at 94.4%, 3.0%, and 2.6% proportion, respectively. Chemical analysis by GC-MS technique indicated that hydrocarbons of n-C<sub>15</sub>-n-C<sub>29</sub> exist in the petroleum ether fraction while the benzene fraction contains compound, 1-Naphthalenamine, N-Phenyl. The test against microorganisms by the method of agar disc diffusion showed that among the three elution fractions only the ethanol fraction has antibacterial activity (against *Bacillus subtili*, *Staphylococcus aureu*, *Sarcina lutea* and *Fasarium oxysporum*), but each fraction inhibited at least one fungus tested. The petroleum ether fraction could inhibit three fungi (*Rhizopus chinensi*, *Penicillium chrysogenum* and *Piricularia oryzae*), but the strongest activity against *Rhizopus chinensi* was by the ethanol fraction.

( 本文编辑: 张培新)