

# 超声波有机溶剂萃取法和改进的 Bligh-Dyer 法提取甘油二烷基甘油四醚类化合物效果对比

王欢业<sup>1</sup>, 刘卫国<sup>1,2</sup>, 张传伦<sup>3</sup>

1. 中国科学院地球环境研究所 黄土与第四纪地质国家重点实验室, 西安 710061
2. 西安交通大学 人居环境与建筑工程学院, 西安 710049
3. 同济大学 海洋地质国家重点实验室, 上海 200092

**摘要:** 由古菌和细菌产生的甘油二烷基甘油四醚类化合物 (GDGTs) 是微生物学和古环境研究中的一类重要的生物标志化合物。有机溶剂萃取法和改进的 Bligh-Dyer 法 (简称 BD 法) 是两种常用的提取环境样品中 GDGTs 的方法, 然而目前对这两种方法提取效果的对比研究还比较少。本研究分别采用超声波有机溶剂萃取法和 BD 法对两个土壤样品和两个湖泊沉积物样品的 GDGTs 进行了提取。对比分析表明, 超声波有机溶剂萃取法提取出的核心脂形式的 GDGTs (C-GDGTs) 含量较高而 BD 法通常能提取出更多的完整极性膜脂形式的 GDGTs (IP-GDGTs)。另外, 两种方法得到的 C-GDGTs 中 TEX<sub>86</sub>、MBT 和 CBT 指标基本相同, 但 BD 法提取的 C-GDGTs 的 BIT 值稍微偏高。这些结果将为土壤和湖泊沉积物样品 GDGTs 提取方法的选择以及不同研究间各指标的对比提供一定的依据。

**关键词:** 甘油二烷基甘油四醚类化合物; 超声波有机溶剂萃取法; Bligh-Dyer 法; 土壤; 湖泊沉积物

## Comparison of the ultrasound-assisted organic solvent extraction and modified Bligh-Dyer extraction for the analysis of glycerol dialkyl glycerol tetraethers from environmental samples

WANG Huanye<sup>1</sup>, LIU Weiguo<sup>1,2</sup>, ZHANG Chuanlun<sup>3</sup>

1. State Key Laboratory of Loess and Quaternary Geology, Institute of Earth Environment, Chinese Academy of Sciences, Xi'an 710061, China
2. School of Human Settlement and Civil Engineering, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China
3. State Key Laboratory of Marine Geology, Tongji University, Shanghai 200092, China

**Abstract: Background, aim, and scope** The microbial glycerol dialkyl glycerol tetraethers (GDGTs) are increasingly popular in the field of organic geochemistry. These high-molecular-weight compounds produced by archaea and bacteria are sensitive to environmental variables, and therefore they contain important information on environmental parameters in paleoclimatic studies. Two extraction method, the ultrasonic-assisted organic solvent extraction and the modified Bligh-Dyer extraction (the BD extraction), are commonly applied for

收稿日期: 2016-11-15; 录用日期: 2017-02-14

Received Date: 2016-11-15; Accepted Date: 2017-02-14

基金项目: 中国科学院“西部之光”人才培养引进计划 (XAB2015B01)

Foundation Item: CAS “Light of West China” Program (XAB2015B01)

通信作者: 刘卫国, E-mail: liuwg@loess.llqg.ac.cn

Corresponding Author: LIU Weiguo, E-mail: liuwg@loess.llqg.ac.cn

引用格式: 王欢业, 刘卫国, 张传伦, 等. 2017. 超声波有机溶剂萃取法和改进的 Bligh-Dyer 法提取甘油二烷基甘油四醚类化合物效果对比 [J]. 地球环境学报, 8(2): 176-184.

Citation: Wang H Y, Liu W G, Zhang C L, et al. 2017. Comparison of the ultrasound-assisted organic solvent extraction and modified Bligh-Dyer extraction for the analysis of glycerol dialkyl glycerol tetraethers from environmental samples [J]. *Journal of Earth Environment*, 8(2): 176-184.

extracting GDGTs from environment samples. To date, however, only a few studies have compared the effect of the two extraction methods on the yield and distribution of GDGTs. In this study, we aimed to systematically compare the effect of the ultrasonic-assisted organic solvent extraction and the BD extraction on GDGTs extracted from sediment and soil samples, and to further provide some basis for the choice of extraction methods for GDGTs in soils and lake sediments, as well as for the comparison of GDGT distributions between different studies. **Materials and methods** We extracted GDGTs by the ultrasonic-assisted organic solvent extraction and the BD extraction from two soil samples and two lake sediment samples collected from the Qinghai province, China. GDGTs present as both core lipids (C-GDGTs) and intact polar lipids (IP-GDGTs) were analyzed as follows: each GDGT sample was separated into two halves, with one half subjecting to hydrolysis (the hydrolyzed fraction) and the other not (the non-hydrolyzed fraction); GDGTs of each fraction was directly measured on the high performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry. Quantification was performed by way of peak area integration of  $[M+H]^+$  ions in the extracted ion chromatogram, and comparison with the internal standard. Ionization efficiency for each GDGT was assumed identical. GDGTs in the non-hydrolyzed fraction were C-GDGTs, while the difference in yield of GDGTs between the hydrolyzed and non-hydrolyzed fractions is considered to be IP-GDGTs. **Results** (1) For iGDGTs, the yield of C-GDGTs using ultrasonic-assisted organic solvent extraction is higher than that using BD extraction (by 30% on average), while the yield of IP-GDGTs using ultrasonic-assisted organic solvent extraction is lower than that using BD extraction (by 40% on average). (2) For bGDGTs, the yield of C-GDGTs using ultrasonic-assisted organic solvent extraction is higher than that using BD extraction (by 10% on average), while the yield of IP-GDGTs using ultrasonic-assisted organic solvent extraction is lower than that using BD extraction (by 30% on average). (3) For C-GDGTs of the two soil samples and two lake sediment samples: the difference in  $TEX_{86}$  values is 0.00, -0.01, -0.01 and 0.01, respectively; the difference in MBT values is 0.00, 0.01, -0.01 and 0.00, respectively; the difference in CBT values is -0.01, 0.02, -0.01 and -0.02, respectively. All these values are within the analytical error. However, the BIT values are systematically higher for the BD extraction (ca. 0.03 higher than those for the ultrasonic-assisted organic solvent extraction). **Discussion** Compared with C-GDGTs, the polarity of IP-GDGTs is much stronger due to its polar headgroups. On the other hand, the polarity of the solvent used in the BD extraction (MeOH/dichloromethane/phosphate buffer) is much stronger than the organic solvent (MeOH/dichloromethane) used in ultrasonic-assisted organic solvent extraction. According to the “Like Dissolves Like Theory”, the ultrasonic-assisted organic solvent extraction can extract more C-GDGTs while the BD extraction can extract more IP-GDGTs. For the  $TEX_{86}$  index, it is calculated based on similar GDGTs with similar polarity, and therefore, the values of different methods showed little difference. For the MBT and CBT indices, the values of different methods also showed little difference, similar to the case for the  $TEX_{86}$  index. For the BIT index, however, it is calculated based on two groups of GDGTs, i.e., iGDGTs and bGDGTs, and the polarity of bGDGTs is stronger than iGDGTs. Consequently, the BIT index should be higher if samples are extracted using a BD extraction. **Conclusions** The ultrasonic-assisted organic solvent extraction showed higher extraction efficiency for C-GDGTs, while the BD extraction is more effective for IP-GDGTs. Moreover, the  $TEX_{86}$ , MBT and CBT indices for C-GDGTs are not significantly affected by method difference, while the BIT index of C-GDGTs is slightly higher using BD extraction. **Recommendations and perspectives** For C-GDGT investigations, the ultrasonic-assisted organic solvent extraction is the first choice, while for studies concerning the yield of IP-GDGTs, the BD extraction should be used. Anyhow, the  $TEX_{86}$ , MBT and CBT indices should not be significantly biased if different extracting methods are used, and therefore, some of the GDGT results using different extracting methods might be comparable. **Key words:** glycerol dialkyl glycerol tetraethers; ultrasonic-assisted organic solvent extraction; Bligh-Dyer extraction; soil; lake sediment

甘油二烷基甘油四醚类化合物 (GDGTs, glycerol dialkyl glycerol tetraethers) 是新兴的有机生物标志物, 它们广泛分布于土壤、泥炭、海洋、湖泊等各种环境中 (Schouten et al, 2013)。通常所说的 GDGTs 是以核心脂 (Core lipids) 形式存在的 GDGTs, 即 C-GDGTs, 其基本结构包括两个烷基长链和两个甘油分子, 烷基长链末端通过醚键与甘油结合形成闭合双链环状大分子 (Langworthy, 1977; De Rosa and Gambacorta, 1988; Schouten et al, 2013)。目前, 研究较多的 GDGTs 主要包括类异戊二烯 (Isoprenoid) GDGTs

和支链 (Branched) GDGTs 两大类, 可分别简称为 iGDGTs 和 bGDGTs (图 1)。由于 GDGTs 广泛存在于各种环境中, 且其分布对环境参数比较敏感, 前人提出了一系列基于 GDGTs 的指标, 如: 重建水体古温度的  $TEX_{86}$  指标 (Schouten et al, 2002)、重建土壤/大气温度的 MBT/CBT 指标 (Weijers et al, 2007)、重建土壤 pH 的 CBT 指标 (Weijers et al, 2007), 以及重建陆源有机质输入的 BIT 指标 (Hopmans et al, 2004) 等。这些指标在海洋和陆地古气候重建中发挥了非常重要的作用 (王欢业等, 2011; Schouten et al, 2013)。

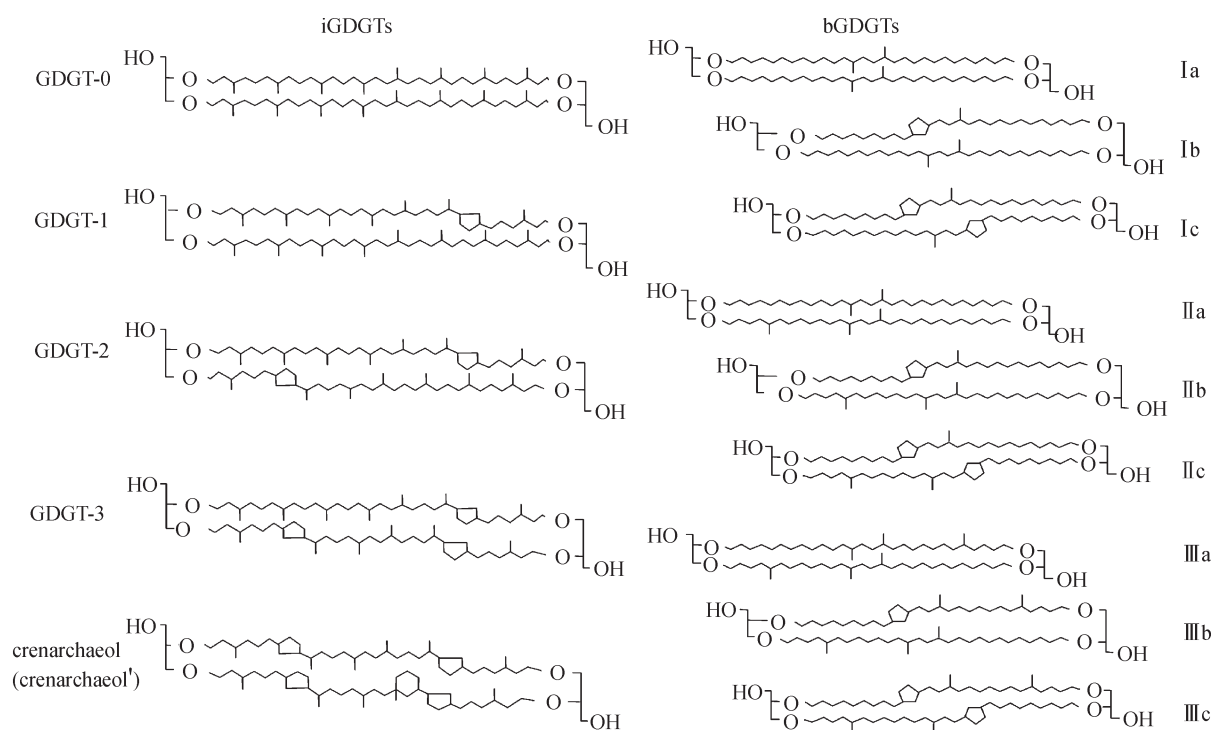


图 1 本文讨论的主要 GDGTs 的结构图

Fig.1 Chemical structures of GDGTs discussed in the text

在活体细胞中, 磷酸、糖基或葡萄糖醛酸等组成的极性头基团会通过醚键键合在 C-GDGTs 两端的甘油基团上。这样, GDGTs 是以完整极性膜脂 (Intact polar lipids, 简称 IPLs) 的形式存在的 (Sturt et al, 2004; Koga and Morii, 2005; Lipp et al, 2008; Pitcher et al, 2009; Liu et al, 2010; 姚鹏和于志刚, 2010; Peterse et al, 2011; 曹鹏等, 2012), 被称作 intact polar GDGTs, 即 IP-GDGTs。随着细胞的凋亡降解, IP-GDGTs 会逐渐

丢失极性头基团转化成 C-GDGTs。因此, 在有机地球化学研究和微生物学研究中 IP-GDGTs 常被认为来自现存活体细胞或者刚刚死亡的微生物 (Lipp et al, 2008; Lipp and Hinrichs, 2009; Pitcher et al, 2009; Liu et al, 2011; Tierney et al, 2012)。但是需要注意的是, 也有一些研究表明某些 IP-GDGTs 在环境中可以保存很长时间, 因而可能并非所有的 IP-GDGTs 都是原位产生的 (Schouten et al, 2010, 2012)。

多种提取方法均可用来提取环境样品中的 GDGTs (Huguet et al, 2010)。其中,超声波有机溶剂萃取法和改进的 Bligh-Dyer (Bligh and Dyer, 1959) 提取法(本文简称为 BD 法)是两种常用的方法 (Hopmans et al, 2004; Sturt et al, 2004; Lipp and Hinrichs, 2009; Liu et al, 2011; Jia et al, 2013; Wu et al, 2013; Yang et al, 2014; Dong et al, 2015; Xing et al, 2015), 尤其是在同时分析 C-GDGTs 与 IP-GDGTs 的研究中 (Pitcher et al, 2009, 2011; Wei et al, 2011; Ayari et al, 2013; Liu et al, 2013; Jia et al, 2014; Lengger et al, 2014)。为便于不同研究之间结果的对比,有必要对两种方法提取 GDGTs 产量和指标的可能差异进行有效评估。目前关于两种方法对 GDGTs 提取效果的对比研究还很少 (Huguet et al, 2010; Zhang et al, 2012)。Huguet et al (2010) 调查了多种提取方法对于古菌培养物、美国 Hood Canal 峡湾水体悬浮物和沉积物以及俄勒冈州土壤中 iGDGTs 的萃取效率,但未评估不同方法对 GDGTs 指标的影响。Zhang et al (2012) 对比了超声波有机溶剂萃取法和 BD 法对珠江下游和珠江口水体悬浮物和沉积物 bGDGTs 的提取效率和 GDGTs 分布的影响,但未报道 iGDGTs 的提取效率以及  $TEX_{86}$  指标的差异。另外,两项研究均没有涉及湖泊沉积物样品。本研究中,以青海湖和柴达木盆地地区两个湖泊沉积物样品和两个土壤样品为研究对象,对比超声波有机溶剂萃取法和 BD 法提取 GDGTs 对其含量和分布(指标)的可能影响。

## 1 材料与方法

本实验的样品采自青海省的青海湖和柴达木盆地地区。两个土壤样品(表层 0—5 cm) TR1 和 TR2 分别采自橡皮山和茶卡盐湖周边。两个湖泊沉积物样品 CJW1 和 CJW2 分别采自青海湖和托素湖。其中, CJW1 为湖中心沉积物(3—5 cm), CJW2 为湖边沉积物(0—5 cm)。样品在野外保存在液氮或干冰中运回实验室。

冷冻干燥并研磨后的样品分别用超声波有机溶剂萃取法和 BD 法抽提。超声波有机溶剂萃取法:称取 5 g 样品向其中加入一定量的  $C_{46}$  内标,依次用甲醇、二氯甲烷/甲醇(1:1)、二氯甲烷、二氯甲烷/甲醇(1:1)和甲醇超声震荡 15 min 萃取其中的有机质,5 次得到的总提取液在水浴中用氮

气吹干。BD 法:用体积比 2:1:0.8 的甲醇/二氯甲烷/磷酸盐缓冲溶液(pH 7.4)超声震荡萃取样品(5 g,并提前加有一定量的  $C_{46}$  内标)3 次,每次 15 min。合并三次所得萃取液加入一定量的二氯甲烷和磷酸盐缓冲液调整三者比例为 1:1:0.9。此时溶液出现较好分层,将底部的有机相转移到 40 mL 玻璃瓶中,残余相用二氯甲烷再萃取两次,均收集到 40 mL 玻璃瓶里。将几次收集的总萃取液在水浴中用氮气吹干。

用二氯甲烷重新溶解两种方法提取的各样品总提取物并平分为两份(分别记为 F1 和 F2 组分)。其中 F1 组分吹干后用 99:1 的正己烷/异丙醇溶解并过 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜。F2 组分按照 Wei et al (2011) 的方法进行酸水解,随后萃取得到水解后的有机组分,该组分吹干后也用 99:1 的正己烷/异丙醇溶解并过滤以备 GDGTs 测试。

样品的 GDGTs 测试所用仪器为高效液相色谱-大气压化学电离-质谱(HPLC-APCI-MS, HPLC 型号为 Agilent 1200, MS 型号为 6460 三重四级杆)。分析方法修改自 Hopmans et al (2000) 和 Schouten et al (2007)。进样量为 2  $\mu\text{L}$ 。所用液相色谱柱为奥泰 Prevail 氰基柱(150 mm  $\times$  2.1 mm, 3  $\mu\text{m}$ )。洗脱流动相程序为:0—5 min, 99:1 正己烷/异丙醇;5—45 min, 异丙醇比例线性升至 1.8%, 整个过程流动相流速为 0.2  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。每分析完一个样品,以 10% 的异丙醇冲洗色谱柱 15 min。质谱方法采用选择离子扫描(SIM)模式检测 GDGTs 质子化后特定质荷比的离子。通过对各 GDGTs 的  $[M+H]^+$  离子峰面积进行积分并对比与  $C_{46}$  内标  $[M+H]^+$  离子峰面积的比值,可以对样品中 GDGTs 的含量进行定量(假设 iGDGTs 和 bGDGTs 均与  $C_{46}$  内标具有相同的响应因子)。

F1 组分中检测得到的 GDGTs 即为样品中的 C-GDGTs。F2 组分中检测得到的 GDGTs 为样品中 IP-GDGTs 酸解后生成的 C-GDGTs 加上样品中原始的 C-GDGTs。进而,根据差减法可以计算 IP-GDGTs 酸解生成的 C-GDGTs 的含量 (Huguet et al, 2010; Zhang et al, 2012)。为与 C-GDGTs 区分,本文仍将由 IP-GDGTs 酸解生成的 C-GDGTs 称作 PL-GDGTs。

$TEX_{86}$  指标计算如下 (Schouten et al, 2002):

$$TEX_{86} = (\text{GDGT-2} + \text{GDGT-3} + \text{crenarchaeol}') / (\text{GDGT-1} + \text{GDGT-2} + \text{GDGT-3} + \text{crenarchaeol}') \quad (1)$$



表示 bGDGTs 甲基化指数的 MBT 指标和环化指数的 CBT 指标按照 Weijers et al (2007) 计算如下:

$$\text{MBT} = (\text{I} + \text{I b} + \text{I c}) / (\text{I} + \text{I b} + \text{I c} + \text{II} + \text{II b} + \text{II c} + \text{III} + \text{III b} + \text{III c}) \quad (2)$$

$$\text{CBT} = -\log((\text{I b} + \text{II b}) / (\text{I} + \text{II})) \quad (3)$$

BIT 指标根据 Hopmans et al (2004) 计算:

$$\text{BIT} = (\text{I} + \text{II} + \text{III}) / (\text{I} + \text{II} + \text{III} + \text{crenarchaeol}) \quad (4)$$

## 2 结果与讨论

### 2.1 GDGTs 提取效率

为便于比较超声波有机溶剂萃取法与 BD 法对样品 GDGTs 的提取效率, 用  $R_{\text{CS/BD}}$  来表示两种方法提取 GDGTs 含量之比。对本研究中的两

个土壤样品和两个湖泊沉积物样品, C-iGDGTs 的  $R_{\text{CS/BD}}$  均  $>1.0$  (图 2), 平均为 1.3, 表明超声波有机溶剂萃取法提取 C-iGDGTs 的效率较高。Huguet et al (2010) 对峡湾水体悬浮物、沉积物以及土壤的研究结果也表明超声波有机溶剂萃取法常能得到较多的 C-iGDGTs。对于 IP-iGDGTs, 4 个样品的  $R_{\text{CS/BD}}$  均  $<1.0$ , 平均为 0.6, 表明 BD 法提取 IP-iGDGTs 的效率较高。另外, 结果显示, 两种方法对 bGDGTs 的提取效果与对 iGDGTs 的提取效果类似, C-bGDGTs 的  $R_{\text{CS/BD}}$  均  $\geq 1.0$  (图 2), 平均为 1.1, 而 IP-bGDGTs 的  $R_{\text{CS/BD}}$  均  $\leq 1.0$ , 平均为 0.7。以上结果表明, 超声波有机溶剂萃取法可以提取出较多的 C-GDGTs 而 BD 法通常能提取出更多的 IP-GDGTs。

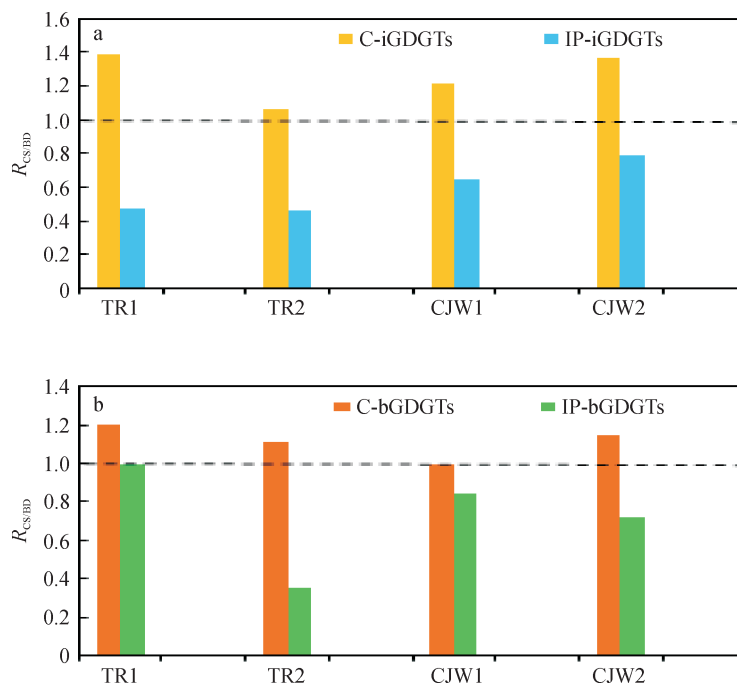


图 2 GDGTs 各组分用超声波有机溶剂萃取法与 BD 法提取量比值 ( $R_{\text{CS/BD}}$ )

Fig.2 The relative yield of GDGTs extracted by ultrasound-assisted organic solvent extraction vs. Bligh-Dyer extraction ( $R_{\text{CS/BD}}$ )

与 C-GDGTs 相比, IP-GDGTs 带有一定数量的极性头基团, 这导致了 IP-GDGTs 极性较强。由于超声波有机溶剂萃取法所用的有机溶剂极性比 BD 法所用的甲醇 / 二氯甲烷 / 磷酸盐缓冲溶液极性要弱, 根据相似相溶原理, 超声波有机溶剂萃取法会对 C-GDGTs 有较高的提取效率, 而 BD 法更适合提取极性较强的有机化合物。因此, 对

于只关心 C-GDGTs 的研究可以选用超声波有机溶剂萃取法, 而对于注重 IP-GDGTs 提取效率的研究, 应将 BD 法作为首选方法。但是需要注意的是, 对于本实验选取的样品, 两种方法提取的 GDGTs 含量并没有数量级上的差别。事实上, 相对于 GDGTs 的提取效率, GDGTs 的研究往往更关心的是 GDGTs 指标。因此, 需要进一步对比超

声波有机溶剂萃取法与 BD 法提取的 GDGTs 分布的差异。

## 2.2 GDGTs 分布

首先, 对比了 C-GDGTs 的分布 (图 3)。对于本研究的 4 个样品, 两种方法提取 C-GDGTs 的  $TEX_{86}$  值非常一致, 其超声波有机溶剂萃取法与 BD 法的差值 (即超声波有机溶剂萃取法  $TEX_{86}$ -BD 法  $TEX_{86}$ ) 分别为 0.00、-0.01、-0.01、0.01, 平均值为 -0.002, 基本在仪器的分析误差之内 ( $\pm 0.01$  或更大) (Yang et al, 2011; Wang et al, 2012)。这些结果表明对湖泊沉积物和土壤样品采用两种不

同的提取方法可能不会影响到 C-iGDGTs 的  $TEX_{86}$  的计算。另外, 两种方法得到的表示 C-bGDGTs 分布的 MBT 指标和 CBT 指标也比较接近, 其差值分别为 0.00、0.01、-0.01、0.00 和 -0.01、0.02、-0.01、-0.02, 平均值分别为 0.000 和 -0.008, 表明对湖泊沉积物和土壤样品采用两种不同的提取方法可能也不会影响到 C-bGDGTs 的 MBT 和 CBT 的计算。Zhang et al (2012) 对比这两种方法提取珠江下游和珠江口沉积物 bGDGTs 的结果也显示, 超声波有机溶剂萃取法和 BD 法得到的大部分样品的 C-bGDGTs 的 MBT 和 CBT 并没有差异。

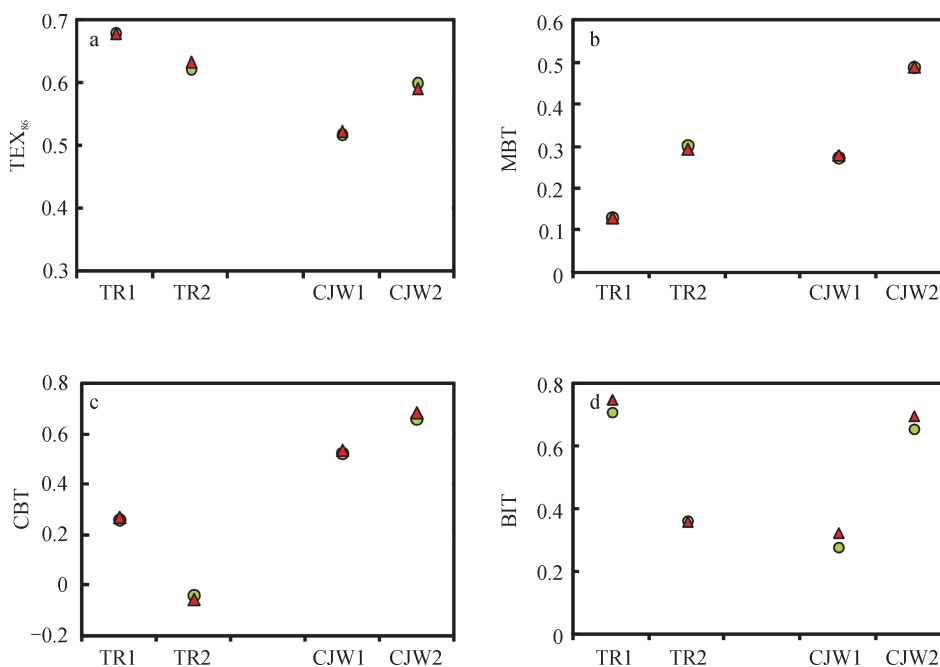


图3 超声波有机溶剂萃取法 (圆圈) 与 BD 法 (三角) 提取的 C-GDGTs 各指标对比  
Fig.3 Comparison of C-GDGT indices extracted using ultrasound-assisted organic solvent extraction (circles) and Bligh-Dyer extraction (triangles)

两种方法提取 C-GDGTs 的 BIT 值差别也较小 (图 3), 4 个样品的差值分别为 -0.04、0.00、-0.05、-0.04, 平均值为 -0.031。但是, 超声波有机溶剂萃取法得到的 C-GDGTs 的 BIT 似乎比 BD 法得到的值系统偏低。根据 C-bGDGTs 在色谱图中比 C-iGDGTs 具有更长的保留时间可以推测 C-bGDGTs 的极性比 C-iGDGTs 要强。因此, 更适合提取极性较强化合物的 BD 法对 C-bGDGTs 的提取效率可能比对 C-iGDGTs 的提取效率要高, 这会导致 BD 法得到的 C-GDGTs 的 BIT 值偏高。这一推测可以进

一步通过  $R_{CS/BD}$  的结果证实: C-bGDGTs 的  $R_{CS/BD}$  平均为 1.1, 小于 C-iGDGTs 的平均  $R_{CS/BD}$  值 (1.3)。

此外, 还对比了 IP-GDGTs 的分布 (图 4)。两种方法提取 IP-iGDGTs 组分的  $TEX_{86}$  值较为一致, 超声波有机溶剂萃取法与 BD 法的差值分别为 0.02、-0.04、-0.02、-0.01, 平均值为 -0.012。两种方法提取 IP-bGDGTs 组分的 MBT 和 CBT 具有一定差异, 其差值分别为 -0.01、-0.13、0.04、0.07 和 -0.48、0.13、0.06、0.39, 平均值分别为 -0.008 和 0.024。另外, 两种方法

得到的 IP-GDGTs 的 BIT 值也具有一定差异, 其差值分别为 0.00、0.00、0.12、-0.04, 平均值为 0.018。Zhang et al (2012) 对珠江下游和珠江口沉积物的研究结果也表明用两种不同提取方法得到的 IP-GDGTs 的 MBT、CBT 和 BIT 值有所差异。需要指出的是, 本文和 Zhang et al (2012) 中 IP-GDGTs 组分是由差减法得到的, 但是该方

法在计算 GDGTs 分布时可能误差较大 (Lengger et al, 2012), 尤其是样品中 IP-GDGTs 相对于 C-GDGTs 含量较低的时候。因此, 根据本文的结果, 只能说两种方法提取湖泊沉积物和土壤样品引起的 IP-GDGTs 分布的差异可能不会太大, 但是是否有差异或者具体有多大程度的差异仍需进一步的确认。

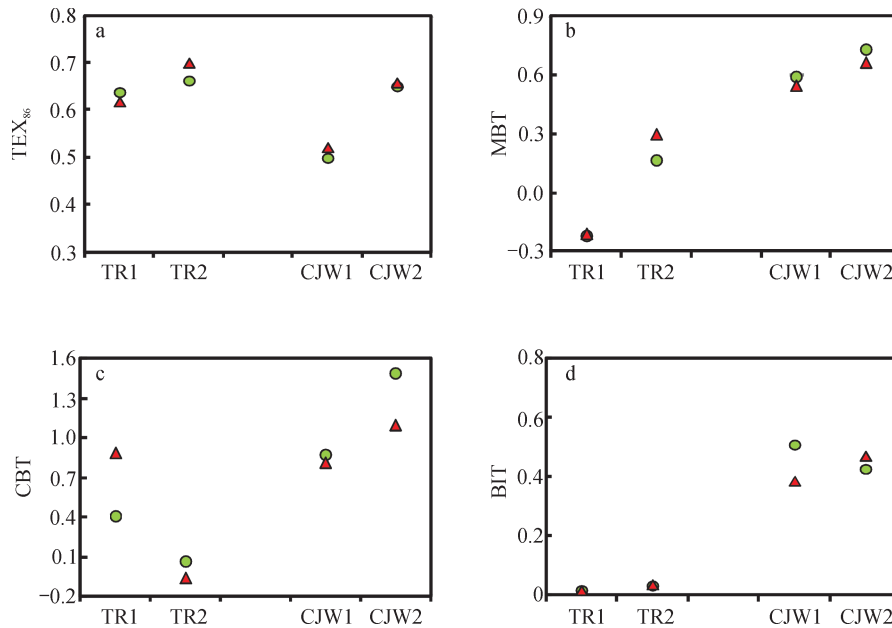


图 4 超声波有机溶剂萃取法 (圆圈) 与 BD 法 (三角) 提取的 IP-GDGTs 各指标对比  
Fig.4 Comparison of IP-GDGT indices extracted using ultrasound-assisted organic solvent extraction (circles) and Bligh-Dyer extraction (triangles)

### 3 结论

本研究分别采用 BD 法和超声波有机溶剂萃取法提取了两个土壤样品和两个湖泊沉积物样品中的 C-GDGTs 和 IP-GDGTs。结果显示: (1) 超声波有机溶剂萃取法提取出的 C-GDGTs 含量较高而 BD 法通常能提取出更多的 IP-GDGTs, 但两者对 GDGTs 的提取效率并没有数量级上的差异。(2) 两种方法得到的 C-GDGTs 中 TEX<sub>86</sub>、MBT 和 CBT 指标基本相同, 但 BD 法得到的 C-GDGTs 的 BIT 稍微偏高。(3) 两种方法提取 IP-iGDGTs 组分的 TEX<sub>86</sub> 值比较一致, 而 MBT、CBT 和 BIT 指标具有一定差异 (但不是很大)。考虑到本研究 IP-GDGTs 是由差减法计算的, 尚无法确定两种提取方法会导致 IP-GDGTs 分布的何种差异。

**致谢:** 感谢中国地质大学 (武汉) 蒋宏忱教授和杨渐博士等在野外采样工作中给予的帮助。

### 参考文献

- 曹 鹏, 沈菊培, 贺纪正. 2012. 古菌细胞膜脂在古菌群落组成及其对环境响应研究中的应用 [J]. *应用生态学报*, 23(9): 2609–2616. [Cao P, Shen J P, He J Z. 2012. Applications of archaeal membrane lipids in investigating archaeal community composition and its responses to environmental factors [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 23(9): 2609–2616.]
- 王欢业, 刘卫国, 张传伦, 等. 2011. 基于甘油二烷基甘油四醚类化合物的指标在陆地系统中的研究进展 [J]. *地球环境学报*, 2(4): 516–524. [Wang H Y, Liu W G, Zhang C L, et al. 2011. Advances in application of GDGT

- proxies in terrestrial environment [J]. *Journal of Earth Environment*, 2(4): 516–524.]
- 姚鹏, 于志刚. 2010. 海洋沉积物中现存微生物化学标志物完整极性膜脂研究进展 [J]. *地球科学进展*, 25(5): 474–483. [Yao P, Yu Z G. 2010. Advances of intact polar membrane lipids as chemical biomarkers for extant microorganisms in marine sediments [J]. *Advances in Earth Science*, 25(5): 474–483.]
- Ayari A, Yang H, Wiesenberg G L B, et al. 2013. Distribution of archaeal and bacterial tetraether membrane lipids in rhizosphere-root systems in soils and their implication for paleoclimate assessment [J]. *Geochemical Journal*, 47(3): 337–347.
- Bligh E G, Dyer W J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification [J]. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8): 911–917.
- De Rosa M, Gambacorta A. 1988. The lipids of archaebacteria [J]. *Progress in Lipid Research*, 27(3): 153–175.
- Dong L, Li Q, Li L, et al. 2015. Glacial-interglacial contrast in MBT/CBT proxies in the South China Sea: Implications for marine production of branched GDGTs and continental teleconnection [J]. *Organic Geochemistry*, 79: 74–82.
- Hopmans E C, Schouten S, Pancost R D, et al. 2000. Analysis of intact tetraether lipids in archaeal cell material and sediments by high performance liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry [J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 14(7): 585–589.
- Hopmans E C, Weijers J W H, Schefuss E, et al. 2004. A novel proxy for terrestrial organic matter in sediments based on branched and isoprenoid tetraether lipids [J]. *Earth and Planetary Science Letters*, 224: 107–116.
- Huguet C, Martens-Habbena W, Urakawa H, et al. 2010. Comparison of extraction methods for quantitative analysis of core and intact polar glycerol dialkyl glycerol tetraethers (GDGTs) in environmental samples [J]. *Limnology and Oceanography: Methods*, 8: 127–145.
- Koga Y, Morii H. 2005. Recent advances in structural research on ether lipids from archaea including comparative and physiological aspects [J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 69(11): 2019–2034.
- Jia G, Rao Z, Zhang J, et al. 2013. Tetraether biomarker records from a loess–paleosol sequence in the western Chinese Loess Plateau [J]. *Frontiers in Microbiology*. DOI: 10.3389/fmicb.2013.00199.
- Jia C, Zhang C L, Xie W, et al. 2014. Differential temperature and pH controls on the abundance and composition of H-GDGTs in terrestrial hot springs [J]. *Organic Geochemistry*, 75: 109–121.
- Langworthy T A. 1977. Long-chain diglycerol tetraethers from *Thermoplasma acidophilum* [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism*, 487(1): 37–50.
- Lengger S K, Hopmans E C, Sinninghe Damsté J S, et al. 2012. Comparison of extraction and work up techniques for analysis of core and intact polar tetraether lipids from sedimentary environments [J]. *Organic Geochemistry*, 47(6): 34–40.
- Lengger S K, Hopmans E C, Sinninghe Damsté J S, et al. 2014. Impact of sedimentary degradation and deep water column production on GDGT abundance and distribution in surface sediments in the Arabian Sea: Implications for the TEX<sub>86</sub> paleothermometer [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 142: 386–399.
- Liu W G, Wang H, Zhang C L, et al. 2013. Distribution of glycerol dialkyl glycerol tetraether lipids along an altitudinal transect on Mt. Xiangpi, NE Qinghai-Tibetan Plateau, China [J]. *Organic Geochemistry*, 57: 76–83.
- Liu X, Leider A, Gillespie A, et al. 2010. Identification of polar lipid precursors of the ubiquitous branched GDGT orphan lipids in a peat bog in Northern Germany [J]. *Organic Geochemistry*, 41(7): 653–660.
- Liu X, Lipp J S, Hinrichs K -U. 2011. Distribution of intact and core GDGTs in marine sediments [J]. *Organic Geochemistry*, 42: 368–375.
- Lipp J S, Morono Y, Inagaki F, et al. 2008. Significant contribution of Archaea to extant biomass in marine subsurface sediments [J]. *Nature*, 454(7207): 991–994.
- Lipp J S, Hinrichs K -U. 2009. Structural diversity and fate of intact polar lipids in marine sediments [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 73: 6816–6833.
- Peterse F, Hopmans E C, Schouten S, et al. 2011. Identification and distribution of intact polar branched tetraether lipids in peat and soil [J]. *Organic Geochemistry*, 42(9):



- 1007–1015.
- Pitcher A, Schouten S, Sinninghe Damsté J S. 2009. In situ production of crenarchaeol in two California hot springs [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 75: 4443–4451.
- Pitcher A, Hopmans E C, Mosier A C, et al. 2011. Core and intact polar glycerol dibiphytanyl glycerol tetraether lipids of ammonia-oxidizing archaea enriched from marine and estuarine sediments [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 77: 3468–3477.
- Schouten S, Hopmans E C, Schefuß E, et al. 2002. Distributional variations in marine crenarchaeotal membrane lipids: a new tool for reconstructing ancient sea water temperatures [J]. *Earth and Planetary Science Letters*, 204(1): 265–274.
- Schouten S, Hugué C, Hopmans E C, et al. 2007. Analytical methodology for TEX<sub>86</sub> paleothermometry by high-performance liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry [J]. *Analytical Chemistry*, 79(7): 2940–2944.
- Schouten S, Middelburg J J, Hopmans E C, et al. 2010. Fossilization and degradation of intact polar lipids in deep subsurface sediments: a theoretical approach [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 74(13): 3806–3814.
- Schouten S, Pitcher A, Hopmans E C, et al. 2012. Intact polar and core glycerol dibiphytanyl glycerol tetraether lipids in the Arabian Sea oxygen minimum zone: I. Selective preservation and degradation in the water column and consequences for the TEX<sub>86</sub> [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 98: 228–243.
- Schouten S, Hopmans E C, Sinninghe Damsté J S, et al. 2013. The organic geochemistry of glycerol dialkyl glycerol tetraether lipids: A review [J]. *Organic Geochemistry*, 54: 19–61.
- Sturt H F, Summons R E, Smith K, et al. 2004. Intact polar membrane lipids in prokaryotes and sediments deciphered by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization multistage mass spectrometry—new biomarkers for biogeochemistry and microbial ecology [J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 18: 617–628.
- Tierney J E, Schouten S, Pitcher A, et al. 2012. Core and intact polar glycerol dialkyl glycerol tetraethers (GDGTs) in Sand Pond, Warwick, Rhode Island (USA): insights into the origin of lacustrine GDGTs [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 77: 561–581.
- Wang H, Liu W G, Zhang C L, et al. 2012. Distribution of glycerol dialkyl glycerol tetraethers in surface sediments of Lake Qinghai and surrounding soil [J]. *Organic Geochemistry*, 47: 78–87.
- Wei Y, Wang J, Liu J, et al. 2011. Spatial variations in archaeal lipids of surface water and core-top sediments in the South China Sea and their implications for paleoclimate studies [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 77: 7479–7489.
- Weijers J W H, Schouten S, Donker J C V D, et al. 2007. Environmental controls on bacterial tetraether membrane lipid distribution in soils [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 71(3): 703–713.
- Wu W, Zhang C L, Wang H, et al. 2013. Impacts of temperature and pH on the distribution of archaeal lipids in Yunnan hot springs, China [J]. *Frontiers in Microbiology*. DOI: 10.3389/fmicb.2013.00312.
- Xing L, Sachs J P, Gao W, et al. 2015. TEX<sub>86</sub> paleothermometer as an indication of bottom water temperature in the Yellow Sea [J]. *Organic Geochemistry*, 86: 19–31.
- Yang H, Ding W, Zhang C L, et al. 2011. Occurrence of tetraether lipids in stalagmites: Implications for sources and GDGT-based proxies [J]. *Organic Geochemistry*, 42: 108–115.
- Yang H, Pancost R D, Dang X, et al. 2014. Correlations between microbial tetraether lipids and environmental variables in Chinese soils: Optimizing the paleo-reconstructions in semi-arid and arid regions [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 126: 49–69.
- Zhang C L, Wang J X, Wei Y L, et al. 2012. Production of branched tetraether lipids in the lower Pearl River and estuary: effects of extraction methods and impact on bGDGT proxies [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2. DOI: 10.3389/fmicb.2011.00274.