

文章编号: 0254-5357(2013)01-0101-07

两种纯化方法获得脂肪酸的链长及碳同位素分布特征对比

赵江涛^{1,2}, 刘卫国^{1,3*}, 安芷生¹

(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, 陕西 西安 710075;

2. 中国科学院研究生院, 北京 100049;

3. 西安交通大学人居环境与建筑工程学院, 陕西 西安 710049)

摘要: 饱和脂肪酸及其同位素组成是重建古环境和古气候的重要代用指标, 目前存在多种提取及纯化流程。在全球变化研究中, 基于不同原理的纯化流程得到的脂肪酸含量及其同位素组成是否一致, 直接影响着该指标应用于不同区域重建结果的对比。本文用两种常见的脂肪酸纯化流程提取脂肪酸标准、现生植物和泥炭样品类脂物, 通过对比发现: 对脂肪酸标准两种流程都可以得到纯净的单体脂肪酸, 而且回收率均较高(85%以上), 都是较为可靠的脂肪酸纯化流程; 然而对于天然样品, 虽然高碳数脂肪酸(碳数 $> C_{24}$) 的回收率相近, 流程 1 却能够获得相对较多的低碳数饱和脂肪酸, 如泥炭样品中该流程获得的 $n-C_{22}$ 脂肪酸是流程 2 的 3 倍; 两种流程纯化狗尾草(*Setaria viridis*) 和三叶草(*Trifolium repens*) 得到 $n-C_{16}$ 脂肪酸的 $\delta^{13}C$ 不同, 流程 1 分别为 -21.1‰ 和 -36.2‰ ; 流程 2 分别为 -23.3‰ 和 -34.9‰ , 表明两个实验流程得到的低碳数脂肪酸的含量、脂肪酸链长分布模式以及碳同位素组成均存在明显的差异。实验结果显示, 流程 2 分离纯化样品可得到几乎全部的游离态脂肪酸, 而流程 1 可提纯样品中游离态和酯态存在的总脂肪酸。由于在沉积物中游离态脂肪酸和酯态脂肪酸可以相互转化, 因此使用流程 1 分析样品中的总脂肪酸更为合适, 也可以将类脂物皂化使酯态脂肪酸释放为游离态, 然后使用流程 2。

关键词: 脂肪酸; 链长分布特征; 碳同位素组成; 脂肪酸纯化流程

中图分类号: O613.71; O628

文献标识码: A

脂肪酸是许多有机体的主要组成部分, 普遍存在于各种地质样品中, 饱和脂肪酸及其同位素组成作为古气候代用指标已广泛应用于重建古环境^[1-5]。Hughen 等^[5]利用饱和脂肪酸的平均链长及碳同位素组成重建了北美地区末次冰消期古植被的变化特征; Naraoka 等^[3]通过长链脂肪酸的分子特征及碳同位素组成探讨了西北太平洋沉积物中有机质的来源; Gao 等^[6]通过建立数学模型研究了湖泊沉积物中 $n-C_{20}$ 和 $n-C_{22}$ 脂肪酸主要来源; Tierney 等^[4]使用湖泊沉积物中脂肪酸氢同位素重建了非洲 Tanganyika 湖六万年以来降水的变化。

目前各实验室关于饱和脂肪酸的提取及纯化流程并不一致, 甚至同一实验室在不同时期使用的方法也有所差异, Sessions 等^[7]、Li 等^[8]在分离脂肪酸时所使用甲酸的浓度并不相同。不同方法纯化得到

的脂肪酸含量及其同位素组成是否一致, 直接影响着该指标应用于不同区域研究结果的对比, 然而目前还未见报道不同脂肪酸纯化方法之间的对比试验。本文通过对比两种常见的脂肪酸纯化流程, 研究实验流程的差异是否会影响脂肪酸的含量及其同位素组成。使用两种流程分别处理了标准物质、植物叶片及泥炭等样品, 对比饱和脂肪酸的分布模式及碳同位素组成的差异, 讨论了样品中脂肪酸的来源及存在形式, 并对如何选取适当的脂肪酸纯化流程处理样品提出建议。

1 实验部分

1.1 样品和主要试剂

饱和脂肪酸标准样品(含 $C_{12} \sim C_{24}$ 和 C_{30}) 为色谱纯级, 德国 Meker 公司产品, 其余实验样品来自植

收稿日期: 2012-07-12; 接受日期: 2012-08-27

基金项目: 国家自然科学基金项目(41073018); 国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2010CB833400); 黄土与第四纪地质国家重点实验室开放基金(SKLLQG1048)

作者简介: 赵江涛, 博士研究生, 第四纪地质学专业, 主要研究方向为稳定同位素地球化学。E-mail: zhaojt@ieecas.cn。

通讯作者: 刘卫国, 研究员, 从事同位素生物地球化学研究。E-mail: liuwg@loess.llqg.ac.cn。

物叶片样品和内蒙古多尔计沼泽泥炭样品抽提所得脂类成分。

正己烷(色谱纯), 100 g/L 硝酸银硅胶: 约 0.074 mm(美国 Sigma - Aldrich 公司产品); 硅胶: 0.074 ~ 0.038 mm(美国 Merck 公司产品); LC - NH₂(美国 SUPLCO 公司产品); 二氯甲烷(DCM)、甲醇和乙酰氯: 均为色谱纯(德国 Meker 公司产品); 氯化钠: 分析纯(天津市北方天医化学试剂厂产品); 冰乙酸: HPLC 级(天津科密欧化学试剂有限公司产品); 异丙醇(IPA)和乙酸乙酯: 色谱纯(德国 CNW Technologies GmbH 公司产品)。

1.2 饱和脂肪酸的提取及纯化流程

流程1(下文的图表以 SNS 代替)^[9-11]将获得的类脂物在微弱 N₂ 下吹干后直接用盐酸化甲醇在 60℃ 加热条件下酯化 12 h(盐酸化甲醇的配制方法, V(甲醇): V(乙酰氯) = 95: 5, 为避免反应过于剧烈, 将乙酰氯缓慢滴入到经过冷冻的甲醇中, 甲醇冷冻时间要大于 30 min, 在酯化后的样品中加入 1 mL 50 g/L NaCl 溶液, 用 4 mL 正己烷分三次萃取, 然后通过硅胶柱(柱内径为 6 mm、硅胶填充长度为 4 cm, 硅胶使用前需在 40℃ 条件下活化至少 24 h)进行纯化, 即先用 4 mL 正己烷将烷烃组分洗脱(洗脱过程中需要使用氮气加压), 再用 4 mL 二氯甲烷将脂肪酸甲酯及酮类化合物洗脱下来。接着将得到的脂肪酸甲酯等样品加到硝酸银硅胶柱上(柱内径为 6 mm、硅胶填充长度为 4 cm, 100 g/L 硝酸银硅胶使用前需在 40℃ 条件下活化至少 24 h), 分别用 15 mL 正己烷 - 二氯甲烷(体积比 4: 1)和 4 mL 二氯甲烷 - 乙酸乙酯(体积比 4: 1)将饱和脂肪酸甲酯与不饱和脂肪酸甲酯及酮类分离^[9]。最后将饱和脂肪酸甲酯组分可进行气相色谱以及单体脂肪酸稳定碳同位素分析。

流程2(下文的图表以 SPE 代替)^[2,12]将抽提得到的类脂物直接加到氨基硅胶柱(LC - NH₂, 不用活化), 分别用 4 mL 二氯甲烷 - 异丙醇(体积比 2: 1)和 4 mL 含 4% 乙酸的乙醚将中性组分与酸性组分洗脱(固相萃取法, 洗脱过程中需要 N₂ 加压), 然后将酸性组分吹干后在 60℃ 加热条件下用甲醇 - 乙酰氯(体积比 95: 5, 1 mL)进行酯化, 酯化后的样品经过萃取后在硅胶柱(柱内径为 6 mm、硅胶填充长度为 4 cm, 硅胶使用前需在 40℃ 条件下活化至少 24 h)上进一步纯化除去带羟基的脂肪酸, 所得样品即纯净的脂肪酸甲酯可进行色谱以及单体脂肪酸稳定碳同位素分析^[13]。为保证实验流程的质量, 实验过程中均

附有空白实验, 测试结果未发现文中所讨论的有机组分。

1.3 仪器及工作条件

Agilent 6890 气相色谱仪(美国 Agilent 公司), 色谱柱为 HP - 1MS 型毛细管柱(60 m × 0.32 mm × 0.25 μm)。载气为氦气(流量 1.3 mL/min), 分流比为 4: 1, 汽化室温度 310℃, 进样量 1 μL, FID 检测。升温程序: 40℃ 保持 1 min, 10℃/min 升温至 150℃, 6℃/min 升温至 315℃, 恒温 20 min。饱和脂肪酸定性由标准样品和碳数规律得出。

气相色谱 - 燃烧 - 同位素比值质谱仪(GC - GC/C - IRMS)进行单体饱和脂肪酸甲酯单体化合物碳同位素测定。GC - GC/C - IRMS 由 Thermo Trace Ultra 气相色谱仪与高温裂解装置在线连接的 Thermo Delta V Advantage 同位素比值质谱仪组成。单个化合物经气相色谱分离后依次进入热解装置, 并在 950℃ 下与 CuO 反应生成 CO₂, 然后 CO₂ 被载气带入同位素比值质谱仪进行碳同位素组成的测定。色谱柱和升温程序与进行 GC 分析时完全一致。在每 6 次样品注射后均测量一套具有已知同位素值的饱和脂肪酸标准来检测分析的准确性, 分析误差小于 ±0.3‰。土壤类脂物饱和脂肪酸组分分布和碳同位素分析实验均在中国科学院地球环境研究所同位素实验室完成。酯化中引入甲基的碳同位素校正方法如下:

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{real}} = \frac{(n+1) \times \delta^{13}\text{C}_{\text{measured}} + 50.5}{n}$$

式中, n 代表单体化合物中碳的个数, $\delta^{13}\text{C}_{\text{real}}$ 为脂肪酸的真实值, $\delta^{13}\text{C}_{\text{measured}}$ 为测量值^[14]。

2 结果与讨论

2.1 实验流程回收率的检验

为考察两种脂肪酸纯化流程的可靠性, 本文首先使用脂肪酸标准检验实验的流程回收率。分别称取约 3 mg 的 $n - \text{C}_{12} \sim n - \text{C}_{24}$ 和 $n - \text{C}_{30}$ 脂肪酸溶于 15 mL 甲苯中, 在超声振荡条件下混合均匀。分别量取 0.2 mL 脂肪酸标准样品通过流程 1(Sed - SNS) 和流程 2(Sed - SPE) 实验流程进行纯化, 样品纯化后使用气相色谱定量, 然后计算实验流程的回收率(图 1)。从实验结果可以看出两种流程对单体脂肪酸标准的回收率均较高, 除 $n - \text{C}_{12}$ 脂肪酸外回收率都超过了 85%, $n - \text{C}_{12}$ 脂肪酸回收率较低可能是由于实验过程中过度吹干样品导致的(图 1)。因此, 两种方法都是较为可靠的脂肪酸纯化流程。

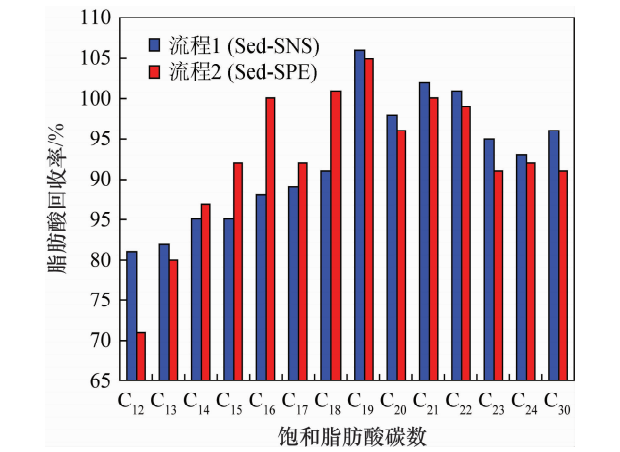


图 1 脂肪酸标准在不同实验流程中的回收率

Fig. 1 The recovery rate of standard fatty acids by different purification procedures

2.2 不同方法得到的饱和脂肪酸组分分布及碳同位素组成

2.2.1 泥炭样品脂肪酸链长分布对比

本文选取 3.2 g 冷冻干燥的内蒙古多尔计沼泽泥炭样品,使用约 50 mL 二氯甲烷-甲醇混合液(体积比 9:1)在超声振荡条件下分 3 次抽提,然后将抽提物平均分为 8 份,在微弱高纯氮气下吹干,分别用两种流程对其中两份样品进行脂肪酸提纯实验。

实验结果如图 2 所示,两种流程均可以得到纯净的各单体脂肪酸,而且高碳数脂肪酸(碳数 > C₂₄)含量相近,但流程 1(Sed-SNS)得到的低碳数脂肪酸明显高于流程 2(Sed-SPE,图 2,其原因将在下文中详细讨论),其中 *n*-C₂₂脂肪酸含量达流程 2 的 3 倍,以致单体脂肪酸分布模式差别很大。两种方法纯化同一样品得到的饱和脂肪酸平均链长 ACL₁₆₋₃₂ 分别为 23.7(流程 1)和 26.2(流程 2,表 1)。

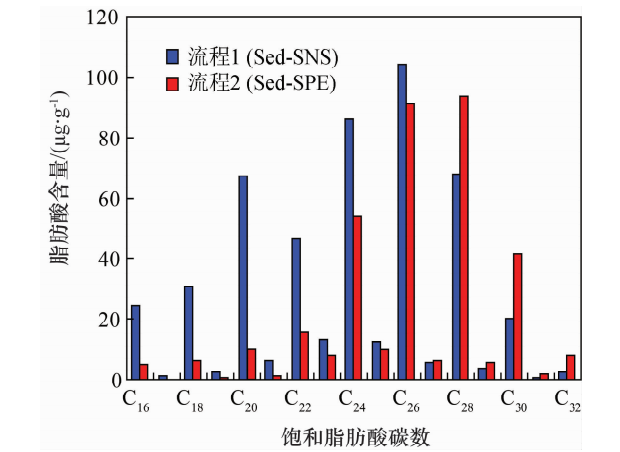


图 2 不同纯化方法得到的多尔计泥炭样品中单体脂肪酸的链长分布模式

Fig. 2 The individual fatty acids distribution patterns of Duoerji peat samples purified by different procedures

由于流程 2 中分离脂肪酸的基本原理是,氨基硅胶柱中的氨基对脂肪酸有很强的吸附力,只有酸性较强的酸(如乙酸)才能将脂肪酸从氨基硅胶柱上置换下来,然而不同的实验室使用酸的种类和浓度并不相同^[3,7,15]。为了检验洗脱试剂中酸的浓度是否影响样品中脂肪酸的回收率,本文尝试通过改变洗脱试剂中乙酸与乙醚的比例(乙酸浓度为 2%、4%、10% 和 20%),纯化等量的多尔计泥炭类脂物,试验脂肪酸的量是否有变化。结果显示,随着洗脱试剂中乙酸浓度的增加,得到脂肪酸的含量并未见显著增加,而且得到的单体脂肪酸分布模式也较为一致(表 2),ACL₁₆₋₃₂ 和 ACL₂₀₋₃₂ 分别为 25.95 ± 0.10、26.20 ± 0.07。因此,应用 SPE 法分离纯化脂肪酸时,洗脱试剂中乙酸的浓度不会对脂肪酸回收率造成影响。

表 1 不同流程纯化狗尾草、三叶草和多尔计泥炭类脂物得到的各单体脂肪酸含量

Table 1 The individual fatty acid content of *Setaira viridis*, *Trifolium repens* and Duoerji peat samples by different purification procedures

样品 编号	脂肪酸含量 $w/(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$																				ACL ₁₆₋₃₂		ACL ₂₀₋₃₂	C ₁₆ FA	SD
	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	C ₁₅	C ₁₆	C ₁₇	C ₁₈	C ₁₉	C ₂₀	C ₂₁	C ₂₂	C ₂₃	C ₂₄	C ₂₅	C ₂₆	C ₂₇	C ₂₈	C ₂₉	C ₃₀	C ₃₁	C ₃₂	$\delta^{13}\text{C}/\text{‰}$			
GW-SNS	29	0	111	40	2410	56	436	10	431	26	456	36	284	20	96	7	90	12	124	33	82	18.88	23.56	-21.1	0.05
GW-SPE	12	0	12	7	183	6	38	0	24	8	24	6	38	6	49	8	93	16	138	28	90	24.27	28.11	-23.3	0.20
SY-SNS	19	0	150	59	2354	56	699	11	322	23	206	57	202	22	50	14	60	15	65	31	23	18.02	23.15	-36.2	0.02
SY-SPE	10	0	7	7	166	6	40	5	10	5	10	7	17	5	12	7	30	12	60	11	32	21.71	28.11	-34.9	0.19
Sed-SNS	-	-	-	-	25	2	31	2	68	7	47	13	86	13	104	5	68	4	20	1	3	23.7	24.65	-	-
Sed-SPE	-	-	-	-	5	0	6	0	10	2	16	8	54	10	91	6	93	6	42	2	8	26.2	26.54	-	-

注: 样品编号中 GW、SY 和 Sed 分别代表狗尾草、三叶草、沉积物; ACL₁₆₋₃₂ 代表 C₁₆~C₃₂ 脂肪酸的平均链长 (Average chain length, ACL); SD 代表两次测量之间的标准偏差 (Standard deviation)。

表 2 不同浓度的乙酸洗脱多尔计泥炭样品的各单体脂肪酸相对于 C₂₆脂肪酸的含量

乙酸浓度	脂肪酸相对含量 $w/\%$ (相对于 $n - C_{26}$ FA)																	ACL ₁₆₋₃₂	ACL ₂₀₋₃₂
	C ₁₆	C ₁₇	C ₁₈	C ₁₉	C ₂₀	C ₂₁	C ₂₂	C ₂₃	C ₂₄	C ₂₅	C ₂₆	C ₂₇	C ₂₈	C ₂₉	C ₃₀	C ₃₁	C ₃₂		
2%	5	0	6	2	16	3	21	10	64	6	100	14	96	11	32	8	6	25.85	26.14
4%	4	0	5	0	15	2	20	10	61	11	100	8	102	6	37	3	7	26.08	26.30
10%	5	0	5	1	16	3	21	10	63	11	100	10	98	8	35	8	7	25.95	26.21
20%	5	0	5	2	15	3	21	10	63	6	100	11	99	6	34	1	4	25.90	26.16
平均值/%	5	0	5	1	15	3	21	10	63	8	100	11	99	8	34	5	6	25.95	26.20
标准偏差	0.57	0.00	0.39	0.94	0.63	0.38	0.70	0.33	1.14	3.06	0.00	2.79	2.58	2.40	2.06	3.27	1.40	0.10	0.07

2.2.2 现生植物脂肪酸链长分布及碳同位素组成对比

为了进一步对比两种流程纯化结果的差别,本文再次对狗尾草(*Setaira viridis*)和三叶草(*Trifolium repens*)两种植物进行对比试验。植物叶片采集后用去离子水清洗,在通风干燥箱内烘干(40℃)。然后分别称取 0.21 g 狗尾草(GW)和 0.15 g 三叶草(SY,植物只选取叶片),在超声条件下各自用 15 mL 二氯甲烷-甲醇(体积比 9:1)抽提 3 次,得到的溶液在柔弱的氮气下吹干后分别使用两种流程纯化样品。

如表 2 所示,实验结果与泥炭样品的实验结果相似,高碳数部分(>C₂₄)两者相当,流程 1 得到的低碳数脂肪酸要远高于流程 2(图 3)。单体脂肪酸的分布模式也存在较大的差异,流程 2 得到的脂肪酸 ACL₁₆₋₃₂ 远高于流程 2(表 1)。饱和脂肪酸碳同位素组成在重建古环境的研究中扮演着越来越重要的角色,本文进一步分析不同流程纯化得到的脂肪酸的碳同位素组成是否一致。两种流程纯化狗尾草和三叶草得到 $n - C_{16}$ 脂肪酸的 $\delta^{13}C$ 分别为 -21.1‰ 和 -36.2‰(流程 1), -23.3‰ 和 -34.9‰(流程 2),存在明显差异。

从本文的实验结果可以看出,不同的实验流程纯化天然样品得到的低碳数脂肪酸的含量、分布模式以及碳同位素组成存在明显的差异。类脂物的链长分布用于判定有机物来源有较广泛的应用,如 Ficken 等^[16]的研究表明中等链长的类脂物主要来源于水生植物,Gao 等^[6]通过建立数学模型认为其研究的湖泊沉积物中 $n - C_{20}$ 和 $n - C_{22}$ 脂肪酸主要来源于水生高等植物。还有学者研究表明,类脂物的平均链长(ACL)与温度之间存在正相关关系^[17]。因此,很有必要探讨不同的实验流程得到的脂肪酸分布模式存在明显差异的原因。

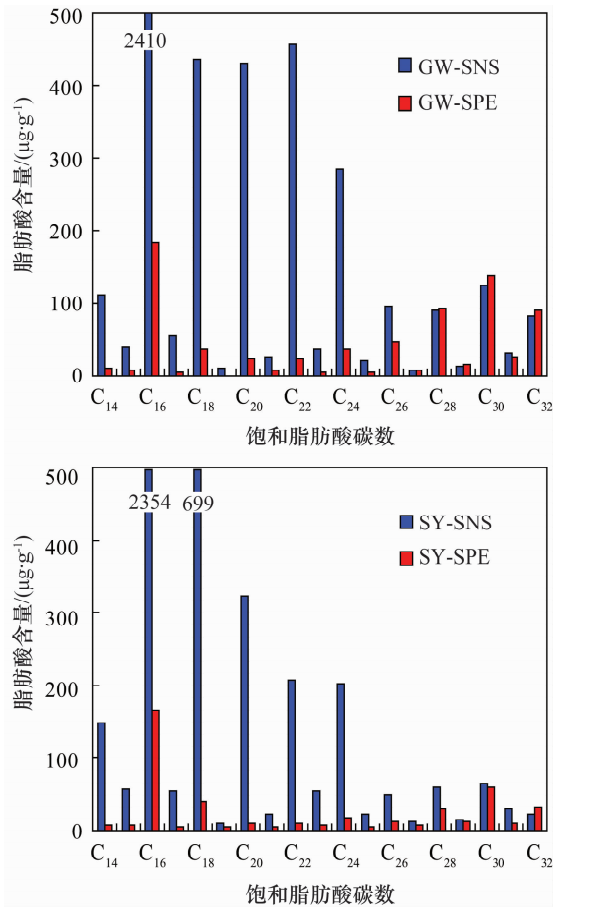


图 3 狗尾草和三叶草通过不同流程纯化得到的各单体脂肪酸含量分布图

Fig. 3 The individual fatty acids distribution patterns of *Setaira viridis* and *Trifolium repens* purified by different procedures

3 沉积物中脂肪酸的来源及意义

沉积物中的羧酸既可以游离态存在,也能够与长链脂肪醇结合为酯(Ester)的形态存在,陆生植物体内也存在大量的以叶蜡酯和甘油酯形式的 C₁₆ 和 C₁₈ 脂肪酸^[1],如磷脂脂肪酸(PLFA)是构成生物细胞膜

的主要成分^[18]。而酯类化合物在酸或碱作为催化剂的条件下可以进行水解生成相应的脂肪酸和醇。

流程 2 纯化脂肪酸的基本原理为由于呈碱性的氨基硅胶与脂肪酸之间的结合力较强,一般有机试剂很难将其洗脱,需要用较强的酸(如乙酸、甲酸等)将其置换下来,据此可将脂肪酸与其他中性类脂物分开,因此流程 2 获得的脂肪酸中不包含呈中性的酯态脂肪酸。由于流程 2 对脂肪酸标准的回收率接近 100%,因此该流程可以纯化分离出全部的游离态脂肪酸。而流程 1 中先对样品进行酯化然后纯化脂肪酸,酯化过程中的强酸在加热条件下可以促使样品中的酯类化合物进行酯交换反应(Transesterification),使样品中的酯态脂肪酸转化为脂肪酸甲酯(FAME)^[19],流程 1 得到的脂肪酸应该是游离态脂肪酸和酯态脂肪酸的混合物,从而使该流程得到了较多的低碳数饱和脂肪酸。

应用脂肪酸作为恢复古环境代用指标,研究者更关心植物体内的酯态脂肪酸能否被运移到沉积物中记录当时的环境,以及沉积物中酯态脂肪酸的存在是否会影响其作为代用指标重建古环境。Huang 等^[2]指出尽管陆生植物体内含有大量的 $n-C_{16}$ 脂肪酸,但其很难运移到湖泊中心的沉积物中,因为 $n-C_{16}$ 脂肪酸主要位于细胞内部,不能像高等植物叶子表面的叶蜡那样被风运移到湖泊沉积物中,而且在土壤表层(特别是在温带土壤中) $n-C_{16}$ 脂肪酸一般很快地被降解^[2,6,20]。在沉积物中 $n-C_{16}$ 脂肪酸的分解速率大约是 $n-C_{30}$ 脂肪酸的 10 倍^[21],在土壤中低碳数脂肪酸也可能很快地被分解,陆生植物体内的酯态脂肪酸可能很难被保存到湖泊沉积物中。因此,研究海洋和湖泊沉积物中脂肪酸的来源时,使用流程 2 提纯植物游离态脂肪酸可能更为合理。

然而,如果沉积物中含有大量的植物残体及其分解物,例如在沼泽泥炭中高等植物的遗体很可能被保存在沉积物中,陆生植物体内的酯态脂肪酸也会在一定程度上保存于沉积物中,进而对脂肪酸分布模式及同位素组成产生影响。在 多尔计泥炭样品中应用流程 2 得到的低碳数脂肪酸即属于此类酯态脂肪酸,而且这些酯态低碳数脂肪酸含量非常高,例如酯态 $n-C_{20}$ 脂肪酸含量约为游离态的 3 倍,这直接影响到沉积物中单体脂肪酸的分布模式(如游离态脂肪酸的平均链长 ACL_{20-32} 为 26.5,而加上酯态脂肪酸后平均链长为 24.7,见表 2)。在沉积物中游离态的脂肪酸和醇可以直接结合为分子量较大的酯类化合物,如果沉积环境变为酸性时,酯类化合物很

容易被水解成相应的脂肪酸和醇,即转变为游离态的类脂物^[22],在沉积物中游离态脂肪酸和酯态脂肪酸可以相互转化,由于植物叶片中两种流程得到的 $n-C_{16}$ 脂肪酸碳同位素组成并不一致(表 2),这很可能会影响到沉积物中游离态脂肪酸的同位素组成。因此使用流程 1 分析样品中总脂肪酸可能更为合适,也可以将类脂物皂化使酯态脂肪酸释放为游离态,然后使用流程 2^[23],甚至可以直接酯化样品^[19]来分析样品中脂肪酸的特征。

4 结语

通过一系列对比试验,本研究发现两种流程都可以得到比较纯净的脂肪酸,而且回收率均较高(85% 以上),都是较为可靠的脂肪酸纯化流程。并且应用流程 2 分离脂肪酸时,洗脱试剂中乙酸的浓度(2%、4%、10% 和 20%)不会对脂肪酸回收率造成明显的影响,因此使用 4% 的乙酸即可。

流程 2 分离纯化样品可得到几乎全部的游离态脂肪酸,而流程 1 可提纯样品中游离态和酯态存在的总脂肪酸。两种流程纯化狗尾草和三叶草得到 $n-C_{16}$ 脂肪酸的 $\delta^{13}C$ 值有所差异,分别为 -21.1‰ 和 -36.2‰ (流程 1), -23.3‰ 和 -34.9‰ (流程 2)。因此,有必要在将来的研究中对比更多的试验流程,以及不同纯化方法获得单体脂肪酸氢同位素之间的差异。

研究结果显示,由于在沉积物中游离态脂肪酸和酯态脂肪酸可以相互转化,因此使用流程 1 分析样品中是总脂肪酸较为合适,也可以将类脂物皂化使酯态脂肪酸释放为游离态,然后使用流程 2。而研究海洋或湖泊沉积物中脂肪酸来源时,使用流程 2 提纯植物中的游离态脂肪酸可能更为合理。

致谢:感谢中国科学院地球环境研究所王政助理研究员和曹蕴宁高级工程师在实验过程中提供的帮助。

5 参考文献

[1] Cranwell P. Lipids of aquatic sediments and sedimenting particulates [J]. *Progress in Lipid Research*, 1982, 21: 271.
[2] Huang Y, Shuman B, Wang Y, Webb T. Hydrogen isotope ratios of palmitic acid in lacustrine sediments record late Quaternary climate variations [J]. *Geology*, 2002, 30: 1103.

- [3] Naraoka H, Ishiwatari R. Molecular and isotopic abundances of long-chain *n*-fatty acids in open marine sediments of the western North Pacific [J]. *Chemical Geology*, 2000, 165: 23–36.
- [4] Tierney J E, Russell J M, Huang Y, Damst J S, Hopmans E C, Cohen A S. Northern hemisphere controls on tropical southeast African climate during the past 60000 years [J]. *Science*, 2008, 322: 252–255.
- [5] Huguen K A, Eglinton T I, Xu L, Makou M. Abrupt tropical vegetation response to rapid climate changes [J]. *Science*, 2004, 304: 1955.
- [6] Gao L, Hou J, Toney J, MacDonald D, Huang Y. Mathematical modeling of the aquatic macrophyte inputs of mid-chain *n*-alkyl lipids to lake sediments: Implications for interpreting compound specific hydrogen isotopic records [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2011, 75(13): 3781–3791.
- [7] Sessions A, Burgoyne T, Schimmelmann A, Hayes J. Fractionation of hydrogen isotopes in lipid biosynthesis [J]. *Organic Geochemistry*, 1999, 30: 1193–1200.
- [8] Li C, Sessions A L, Valentine D L, Thiagarajan N. D/H variation in terrestrial lipids from Santa Barbara Basin over the past 1400 years: A preliminary assessment of paleoclimatic relevance [J]. *Organic Geochemistry*, 2011, 42: 15–24.
- [9] 赵江涛,刘卫国,安芷生. 贡嘎山现代植物叶蜡脂肪酸氢同位素组成及对海拔变化的响应[J]. 第四纪研究, 2011, 31(5): 856–863.
- [10] Chikaraishi Y, Suzuki Y, Naraoka H. Hydrogen isotopic fractionations during desaturation and elongation associated with polyunsaturated fatty acid biosynthesis in marine macroalgae [J]. *Phytochemistry*, 2004, 65: 2293–2300.
- [11] Wang Z, Liu W. Carbon chain length distribution in *n*-alkyl lipids: A process for evaluating source inputs to Lake Qinghai [J]. *Organic Geochemistry*, 2012, 50: 36–43.
- [12] Sessions A. Seasonal changes in D/H fractionation accompanying lipid biosynthesis in *Spartina alterniflora* [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2006, 70: 2153–2162.
- [13] Hou J Z, D'Andrea W J, Huang Y S. Can sedimentary leaf waxes record D/H ratios of continental precipitation? Field, model, and experimental assessments [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2008, 72: 3503–3517.
- [14] Yang H, Huang Y. Preservation of lipid hydrogen isotope ratios in Miocene lacustrine sediments and plant fossils at Clarkia, northern Idaho, USA [J]. *Organic Geochemistry*, 2003, 34: 413–423.
- [15] Huang Y, Street-Perrott F A, Perrott R A, Metzger P, Eglinton G. Glacial-interglacial environmental changes inferred from molecular and compound-specific $\delta^{13}\text{C}$ analyses of sediments from Sacred Lake, Mt. Kenya [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1999, 63: 1383–1404.
- [16] Ficken K, Li B, Swain D, Eglinton G. An *n*-alkane proxy for the sedimentary input of submerged/floating freshwater aquatic macrophytes [J]. *Organic Geochemistry*, 2000, 31: 745–749.
- [17] Simoneit B R T, Sheng G, Chen X, Fu J, Zhang J, Xu Y. Molecular marker study of extractable organic matter in aerosols from urban areas of China [J]. *Atmospheric Environment Part A: General Topics*, 1991, 25: 2111–2129.
- [18] 赵大勇,燕文明,冯景伟,袁守军. 磷脂脂肪酸分析在湖泊沉积物微生物生态学研究中的应用[J]. 化学与生物工程, 2009, 26(12): 17–20.
- [19] Lewis T, Nichols P D, McMeekin T A. Evaluation of extraction methods for recovery of fatty acids from lipid-producing microheterotrophs [J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2000, 43: 107–116.
- [20] Huang Y, Shuman B, Wang Y, Webb T. Hydrogen isotope ratios of individual lipids in lake sediments as novel tracers of climatic and environmental change: A surface sediment test [J]. *Journal of Paleolimnology*, 2004, 31: 363–375.
- [21] Meyers P A, Eadie B J. Sources, degradation and recycling of organic matter associated with sinking particles in Lake Michigan [J]. *Organic Geochemistry*, 1993, 20: 47–56.
- [22] 瞿文川,张平中. 太湖沉积物中长链脂肪酸甲酯化化合物的检出及意义[J]. 湖泊科学, 1999(11): 245–250.
- [23] Diefendorf A F, Freeman K H, Wing S L, Graham H V. Production of *n*-alkyl lipids in living plants and implications for the geologic past [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2011, 75(23): 7422–7485.

The Disparity of Chain Length Distribution Patterns and Carbon Isotopic Compositions between Different Fatty Acid Purification Procedures

ZHAO Jiang-tao^{1,2}, LIU Wei-guo^{1,3*}, AN Zhi-sheng¹

- (1. State Key Laboratory of Loess and Quaternary Geology, Institute of Earth Environment, Chinese Academy of Sciences, Xi'an 710075, China;
2. School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;
3. School of Human Settlement and Civil Engineering, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China)

Abstract: Saturated fatty acids and their isotopic composition are important proxies to reconstruct paleoenvironment and paleoclimate. There are several extraction and purification procedures of *n*-fatty acids based on different principles. However, a comparison test between different processes has not been reported. In this article, the agreement of fatty acid and its isotope compositions purified by different processes directly impacted on the proxies' application, especially on the comparison of reconstruction results from different regions in global change research. Two common fatty acid purification procedures were used to purify lipids of fatty acid standards, plant and peat samples. For the standards, the recovery rates of these two procedures were all greater than 85% , which indicates that these two methods are reliable to process the *n*-fatty acids. However, for the plants and peats samples, Procedure 1 obtained a relatively large amount of shorter chain length *n*-fatty acids. According to our results, Procedure 2 obtained almost all of the free fatty acids, while Procedure 1 can obtain both the free and ester state *n*-fatty acids in the samples. Since the free state fatty acids and esters state fatty acids in the sediment can be transformed into each other, using Procedure 1 to analyze the total fatty acids in the sediment sample was more appropriate. Alternatively, we can also use the Procedure 2 after the ester-state fatty acids in the lipids were released as free state acids by saponification.

Key words: fatty acids; distribution characteristics of chain length; carbon isotope composition; purification procedure of fatty acids