

doi:10.3799/dqkx.2013.099

# 南海北部冷泉碳酸盐岩中系列藿烷酸的检出及意义

管红香<sup>1,2</sup>, 吴能友<sup>1,2\*</sup>, 茅晟懿<sup>1,2</sup>, 朱小畏<sup>2</sup>, 邬黛黛<sup>1,2</sup>, 杨胜雄<sup>3</sup>

1. 中国科学院可再生能源与天然气水合物重点实验室, 广东广州 510640

2. 中国科学院广州天然气水合物研究中心, 广东广州 510640

3. 广州海洋地质调查局, 广东广州 510075

**摘要:** 对南海东沙海域九龙甲烷礁冷泉碳酸盐岩的藿烷酸系列化合物进行了研究, 结果显示冷泉碳酸盐岩中含有 17 $\beta$ (H), 21 $\beta$ (H)-30-藿烷酸至 17 $\beta$ (H), 21 $\beta$ (H)-33-藿烷酸系列化合物. 其中 site1 样品 TVG3-C2 (ANME-2 古菌群为主) 中的 17 $\beta$ (H), 21 $\beta$ (H)-32-藿烷酸化合物亏损  $^{13}\text{C}$  (-69.8‰), 且其同位素值较接近 *iso-/aizo-C*<sub>15:0</sub> 脂肪酸 (-75.2‰~ -90.0‰), 说明其母质摄入了甲烷来源的碳. 尽管 site2 (TVG13-C3 和 TVG14-C2) 和 site3 (TVG8-C5) 自生碳酸盐岩中藿烷酸化合物都表现出了非渗漏特征 (-30.7‰~ -40.3‰, ANME-1 古菌群为主), 但这些样品中藿烷酸的  $\delta^{13}\text{C}$  值同样较接近硫酸盐还原菌来源的 *iso-/anteiso-C*<sub>15:0</sub> 的  $\delta^{13}\text{C}$  值 (-32.5‰~ -49.8‰). 由此说明大多数存在于以 ANME-1 种群为主的渗漏环境中的硫酸盐还原菌并没有参与到甲烷厌氧氧化作用中, 而导致藿烷酸化合物和硫酸盐还原菌来源的生物标志物并不明显亏损  $^{13}\text{C}$ , 并且  $\delta^{13}\text{C}$  值相近.

**关键词:** 藿烷酸化合物; 甲烷营养菌; 冷泉碳酸盐岩; 九龙甲烷礁; 微生物; 地球化学.

中图分类号: P593

文章编号: 1000-2383(2013)05-1014-09

收稿日期: 2012-12-22

## Hopanoic Acids and Their Geochemistry Significance Detected in Seep Carbonates from the South China Sea Continental Slope

GUAN Hong-xiang<sup>1,2</sup>, WU Neng-you<sup>1,2\*</sup>, MAO Sheng-yi<sup>1,2</sup>,  
ZHU Xiao-wei<sup>2</sup>, WU Dai-dai<sup>1,2</sup>, YANG Sheng-xiong<sup>3</sup>

1. Key Laboratory of Renewable Energy and Gas Hydrate, Guangzhou Institute of Energy Conversion, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China

2. Guangzhou Center for Gas Hydrate Research, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China

3. Guangzhou Marine Geological Survey, Guangzhou 510075, China

**Abstract:** The lipid biomarkers of hopanoic acids in cold seep carbonates from the South China Sea continental slope are investigated. In the hopanoic acids, 17 $\beta$ (H), 21 $\beta$ (H)-30-hopanoic acid-17 $\beta$ (H), 21 $\beta$ (H)-33-hopanoic acid are identified with 17 $\beta$ (H), 21 $\beta$ (H)-32-hopanoic acid being the most abundant. The 17 $\beta$ (H), 21 $\beta$ (H)-32-hopanoic acid depleted in  $^{13}\text{C}$  and the  $\delta^{13}\text{C}$  value (-69.8‰) fall close to the range of SRB (sulfate-reducing bacteria)-derived *iso-/anteiso-C*<sub>15:0</sub> (-75.2‰ to -90.0‰) in site1 seep carbonate (TVG3-C2, ANME-2 dominated), suggesting the incorporation of methane-derived carbon. Although they show non-seep isotopic signatures (-30.7‰ to -40.3‰, ANME-1 dominated) in site3 (TVG8-C5) and site2 seep carbonates (TVG13-C3 and TVG14-C2), hopanoic acids  $\delta^{13}\text{C}$  values fall close to the range of SRB-derived *iso-/anteiso-C*<sub>15:0</sub> (-32.5‰ to -49.8‰). The majority of SRB are not involved in AOM (anaerobic oxidization of methane) possibly because ANME-1 cells often occur as monospecific aggregates.

**Key words:** hopanoic acids; methanotrophy; seep carbonates; Jiulong methane reef; microorganisms; geochemistry.

**基金项目:** 中国科学院知识创新工程重要方向项目 (No. KZCX2-YW-GJ03); 国家自然科学基金 (Nos. 41103043, 41003010); 广东省重大科技专项 (No. 2011A080403021); 中国科学院重点部署项目 (No. KGZD-EW-301); 国家海洋地质专项项目 (No. GHZ2012006003); 中国科学院—国家外国专家局创新团队国际合作伙伴计划.

**作者简介:** 管红香 (1981-), 女, 高级助理, 主要从事冷泉碳酸盐岩的微生物地球化学研究. E-mail: guanhx@ms.giec.ac.cn

\* **通讯作者:** 吴能友, E-mail: wunyu@ms.giec.ac.cn

由甲烷厌氧氧化古菌和硫酸盐还原菌相互作用的甲烷厌氧氧化(anaerobic oxidization of methane, AOM)作用,是海洋沉积环境中最重要的甲烷沉降过程(Reeburgh, 1976, 1996; Boetius *et al.*, 2000). 厌氧海洋环境中产生的甲烷高达 90% 都是被厌氧氧化的(Reeburgh, 1976; Reeburgh *et al.*, 1993), 这不仅会对大气中的甲烷浓度产生重大影响,而且将对海洋的氧化还原条件及碳循环产生深远的影响(Hinrichs and Boetius, 2003; Pape *et al.*, 2005; Bouloubassi *et al.*, 2006). 甲烷厌氧氧化作用中,微生物作用形成过量的孔隙水溶解无机碳(dissolved inorganic carbon, DIC),使周围环境碱度增加,从而更加有利于自生碳酸盐岩的形成(Reeburgh, 1980; Ritger *et al.*, 1987),甲烷厌氧氧化作用的总反应式如下:



到目前为止,在冷泉渗漏系统中共发现了 3 个古菌群(ANME-1、ANME-2 和 ANME-3),其中种群 ANME-1 和 ANME-2 与硫酸盐还原菌(sulfate-reducing bacteria, SRB)中的脱硫叠球菌属及脱硫球菌属共生(*Desulfosarcina/Desulfococcus*, DSS)(Boetius *et al.*, 2000; Orphan *et al.*, 2001; Knittel *et al.*, 2003; Blumenberg *et al.*, 2004),并且发现 ANME-1 常常以单一集体甚至单细胞的形式存在(Orphan *et al.*, 2002);而 ANME-3 则与脱硫球茎菌属紧密共生 *Desulfobulbus* spp. (DBB)(Knittel *et al.*, 2005; Niemann *et al.*, 2006; Losekann *et al.*, 2007). 这些古菌群不仅以不同的集体形式出现,并且出现在不同条件的海洋环境中,比如,ANME-1/DSS 集体主要出现在中低甲烷浓度的海洋环境中,而 ANME-2/DSS 集体则在高甲烷分压的环境中更加活跃(Blumenberg *et al.*, 2004).

近几十年内,世界范围内有大量针对海洋冷泉渗漏环境中古菌和细菌特征性生物标志物的研究报道(Boetius *et al.*, 2000; Orphan *et al.*, 2001; Pancost *et al.*, 2001; Knittel *et al.*, 2003; Blumenberg *et al.*, 2004, 2006; Sinninghe Damsté *et al.*, 2004; Birgel and Peckmann, 2008; Birgel *et al.*, 2011),这些脂类生物标志物结合其单体碳同位素特征研究,使人们能够鉴别甲烷渗漏系统中的主导微生物种群和他们的碳固定路径(Alberts *et al.*, 2002; Peckmann *et al.*, 2004; Brocks and Pearson, 2005). 在古菌和 SRB 来源的生物标志物中常常伴随着五环三

萜类生物标志物,尤其是藿烷酸系列化合物,但人们通常将注意力集中在碳同位素值极低的甲烷氧化古菌和硫酸盐还原菌来源的生物标志物上,而疏于对藿烷酸化合物的探讨与研究. 虽然这些藿烷酸化合物的先质有可能来源于各种各样的细菌(Rohmer *et al.*, 1984, 1992; Waston and Farrimond, 2000; Sinninghe Damsté *et al.*, 2004; Blumenberg *et al.*, 2006),但冷泉碳酸盐岩中的藿烷酸化合物通常与样品中典型 SRB 来源的 *iso-/aiso-C*<sub>15:0</sub> 脂肪酸具有相接近的碳同位素特征,这说明藿烷酸化合物同样可能来源于硫酸盐还原菌,甚至能够通过其碳同位素特征来判断与 SRB 共生的古菌种群类别. 因此,本文将重点研究南海冷泉碳酸盐岩中的藿烷酸化合物对甲烷厌氧氧化作用及古菌种群的指示意义.

## 1 样品及分析方法

### 1.1 样品采集

南海是西太平洋最大的边缘海之一,位于亚欧板块、太平洋板块和印度洋板块的交汇处,被动大陆边缘与西部和北部相接近,东部则深切入了古马尼拉海沟(Taylor and Hayes, 1980; Pautot *et al.*, 1986; Han *et al.*, 2008). 东沙海域水合物调查区位于南海北部被动大陆边缘的东北端,其东部临近活动陆缘,在台湾岛附近,碰撞带沿岛弧挤入台湾东北部. 九龙甲烷礁(22°03'N, 118°46'E)位于南海北部东沙群岛东北部陆坡,是 2004 年 6 月中德合作 SO-177 航次发现的大片碳酸盐岩区,总面积约 430 km<sup>2</sup>,是世界上面积最大的冷泉碳酸盐岩分布区域. 这些冷泉碳酸盐岩分布在 2 个临近海脊的 3 个区域内,其中 site1 最浅,水深约 473~498 m,海底多处可见大量管状、烟囱状、面包圈状、板状和块状的自生碳酸盐岩产出;烟囱状自生碳酸盐岩及其碎片在 site2 非常普遍;在 site3,命名为“九龙甲烷礁”的巨大碳酸盐岩建隆在海底屹立,出露的自生碳酸盐岩多为灰绿色不规则的凝块或壳壳(图 1, 表 1).

### 1.2 实验分析

将样品干燥,磨碎至 200 目,用二氯甲烷/甲醇(9:1)混合溶剂索氏抽提 72 h. 抽提前,向抽提液接收瓶中加入适量经活化处理的铜片,用以脱去样品中可能存在的元素硫. 抽提完成后,将接收瓶中抽提物旋转蒸发浓缩,并转移到合适的瓶子中,再用氮气吹干得可溶有机质. 将所得有机质用 KOH/CH<sub>3</sub>OH(1 mol/L)溶液皂化(即 70 °C 加热回流

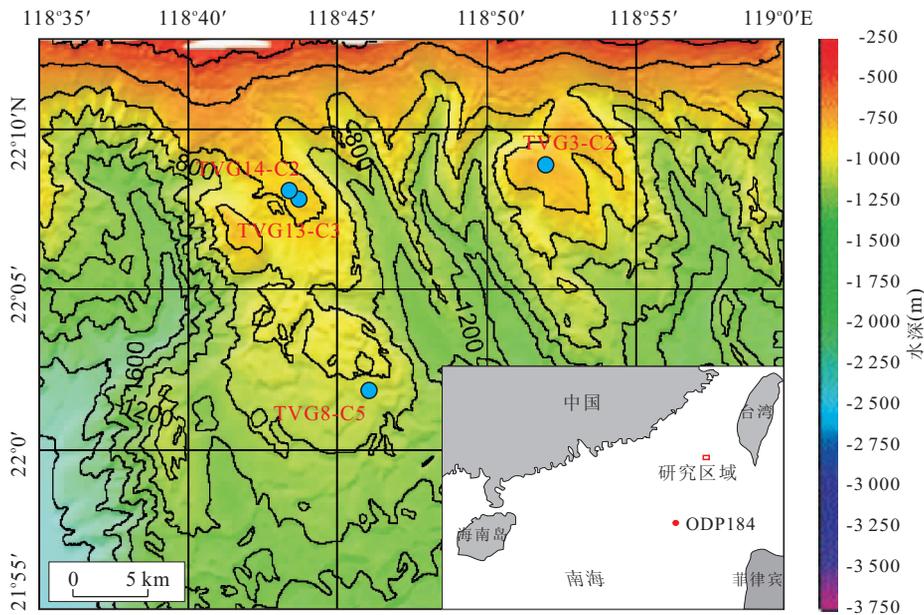


图 1 采样点位置

Fig.1 Bathymetry of portion of the northern slope of the South China Sea  
 样品 TVG3 采自 1 号站位;TVG13 和 TVG14 采自 2 号站位;TVG8 采自 3 号站位

表 1 南海北部陆坡冷泉碳酸盐岩采样信息

Table 1 Locations of seep carbonates from the northern slope of the South China Sea

位置	年份-航次编号	纬度 N	经度 E	水深(m)	
site1	TVG3-C2	2004-SO-177-1	22°08.98'	118°52.34'	473
site3	TVG13-C3	2004-SO-177-2	22°08.54'	118°43.45'	555
	TVG14-C2	2004-SO-177-1	22°08.63'	118°43.39'	533
site2	TVG8-C5	2004-SO-177-1	22°02.85'	118°46.55'	769

2 h),皂化液加入适量蒸馏水后用正己烷萃取得中性组分,然后在剩余溶液中加入 10%的 HCl 将 pH 值调为 1,再用正己烷萃取其中的酸性组分.酸性组分浓缩后,氮气吹干恒重,加入  $\text{BF}_3\text{-CH}_3\text{OH}$  1~2 mL后,放入 60 °C 烘箱加热 1 h 以上.衍生化后的脂肪酸甲酯,用正己烷进行萃取,氮气吹干准备上机.酸类化合物通过连有 Thermo Scientific TRACE GC ULTRA 气相色谱的 Thermo Scientific DSQ II 进行测定.气相色谱分离通过 DB-1 毛细管柱 (60 m×0.32 mm×0.25 μm) 进行.升温程序为 100 °C 始温,保留 3 min,然后以 3 °C/min 速度升到 315 °C,保留 30 min.氦气为载气,流速为 1 mL/min.色谱-同位素质谱 (GC-IR-MS) 分析:酸类化合物通过连有 Hewlett-Packard 7890 气相色谱的 GV IsoPrime100 系统进行单体烃碳同位素测定.色谱柱为 DB-1 柱 (60 m×0.32 mm×0.25 μm).酸类化合物升温程序与 GC-MS 类似.氦气为载气,流速为

1 mL/min.每个样品至少测试 2 次,同位素测定误差小于 0.6‰.碳同位素以  $\delta$  表示,V-PDB 标准,并对脂肪酸甲酯化增加的碳进行了校正.

## 2 结果与讨论

### 2.1 藿烷酸甲酯化合物的鉴定

藿烷酸甲酯化合物一般可通过色谱保留时间与已发表的该化合物的质谱特征比对进行确认.在色谱图中,藿烷酸化合物一般出峰在正构脂肪酸  $n\text{-C}_{30:0}$  之后. $\text{C}_{31-}$ 、 $\text{C}_{32-}$ 藿烷酸甲酯的质谱图可以在参考书目(王培荣,2001)中找到,总体上,藿烷酸甲酯系列化合物的分子离子峰明显可见,藿烷酸甲酯类化合物比与其对应的藿烷类化合物增加质核比  $m/z$  44.它继承了藿烷类化合物的质谱特征,主要特征峰有  $m/z$  191,235( $191+44$ )+ $n14$ (文中  $n=0\sim3$ ),369 等,基峰一般为  $m/z$  191.可用  $m/z$  191 和  $m/z$  235+ $n14$  的相对强度来确定其 C-17 和 C-21 位的立体构型,当 191 远大于 235+ $n14$  时,为  $\alpha\beta$  构型;当 191 小于 235+ $n14$  时,则为  $\beta\beta$  构型.图 2 展示了 TVG14-C2 中酸类化合物总离子流图和对应的  $\beta\beta$ -32-藿烷酸质谱图,从图中可以看出,不论是色谱出峰时间还是质谱特征对比都与参考书目(王培荣,2001)中描述的  $\beta\beta$ -32-藿烷酸的特征相一致.因此,结合该化合物的色谱保留时间和质谱碎片离

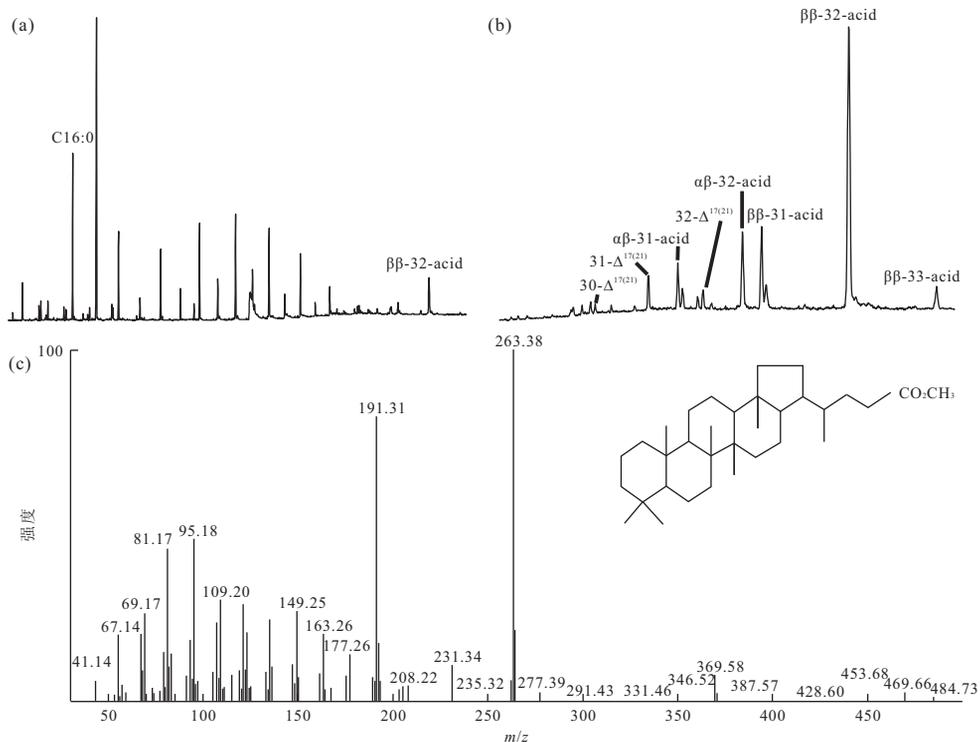


图 2 TVG8-C5 酸类化合物总离子流(a)、 $m/z$  191 离子流(b)和样品中  $\beta\beta$ -32-藿烷酸化合物质谱(c)

Fig.2 Total ion chromatogram (TIC) of the carboxylic acid fraction of TVG8-C5 (a); the  $m/z$  191 chromatograms of methyl esters of hopanoic acids in sample TVG8-C5 (b); the mass spectrum of  $17\beta(H)$ ,  $21\beta(H)$ -32-hopanoic acid (c)

$31-\Delta^{17(21)}$  为  $C_{31}\Delta^{17(21)}$  藿烯酸,  $\beta\beta$ -32-acid 为  $17\beta(H)$ ,  $21\beta(H)$ -32-藿烷酸

子特征可以确认该化合物为  $\beta\beta$ -32-藿烷酸。

检测到的系列藿烷酸化合物在所有样品中的分布基本一致,以  $17\beta(H)$ ,  $21\beta(H)$ -32-藿烷酸含量最高,  $17\beta(H)$ ,  $21\beta(H)$ -31-藿烷酸或  $17\alpha(H)$ ,  $21\beta(H)$ -32-藿烷酸含量次之(图 2)。但各冷泉碳酸盐岩中检测到的  $17\beta(H)$ ,  $21\beta(H)$ -32-藿烷酸的  $\delta^{13}C$  差异很大,如 TVG3-C2 中  $17\beta(H)$ ,  $21\beta(H)$ -32-藿烷酸的  $\delta^{13}C$  值为  $-69.8\%$ ,而在 TVG13-C3, TVG14-C2 和 TVG8-C5 中  $17\beta(H)$ ,  $21\beta(H)$ -32-藿烷酸的  $\delta^{13}C$  值分别为  $-40.3\%$ ,  $-32.8\%$  和  $-30.5\%$ (表 1)。另外, TVG8-C5 和 TVG14-C2 中还检测到较高相对含量的  $C_{30}\Delta^{17(21)}$  藿烯酸,  $C_{31}\Delta^{17(21)}$  藿烯酸和  $C_{32}\Delta^{17(21)}$  藿烯酸,其他样品中含量很低。藿烷酸化合物及 3 个藿烯酸根据保留时间及与已发表的色谱图对照进行了确认(王培荣等, 1995; 屈定创等, 1996; Hiroyuki and Noriyuki, 2007), 图 3 为样品中检测到的藿烷酸化合物质谱图。

## 2.2 冷泉碳酸盐岩中藿烷酸化合物的检出意义

文中研究的自生碳酸盐岩的  $\delta^{13}C$  值几乎全部低于  $-50\%$ (Han *et al.*, 2008), 单体分子生物标志物碳同位素值最低可达  $-141.5\%$ (Guan *et al.*,

2013), 已被证明是形成于甲烷厌氧氧化作用。冷泉渗漏环境中不同的主导微生物种群很有可能是不同冷泉渗漏环境所造成的, 在已有的冷泉渗漏系统中微生物种群生存环境研究认为, ANME-1/DSS 集合体主要存在于海底表面以下的沉积物中(Knittel *et al.*, 2005)或微生物礁(Michaelis *et al.*, 2002), 通常甲烷分压较低; 而 ANME-2/DSS 集合体则主要存在于分解甲烷水合物之上的海底表面或高甲烷分压环境中(Blumenberg *et al.*, 2004)。在以上两种环境中产生的生物标志物, 无论是组成分布还是碳同位素特征都会有极大的不同, 其中最明显的是藿烷酸系列化合物和 SRB 来源的生物标志物的碳同位素特征。

样品 TVG3-C2 中检测到的  $17\beta(H)$ ,  $21\beta(H)$ -32-藿烷酸化合物亏损  $^{13}C$  ( $-69.8\%$ ), 并且其同位素值较接近 *iso-/aizo*- $C_{15:0}$  脂肪酸 ( $-75.2\% \sim -90.0\%$ ), 说明其母质摄入了甲烷来源的碳。尽管 site2 (TVG13-C3 和 TVG14-C2) 和 site3 (TVG8-C5) 碳酸盐岩中藿烷酸化合物都表现出了非渗漏特征 ( $-30.7\% \sim -40.3\%$ ), 但藿烷酸的  $\delta^{13}C$  值都较接近硫酸盐还原菌来源的 *iso-/anteiso*- $C_{15:0}$  的  $\delta^{13}C$

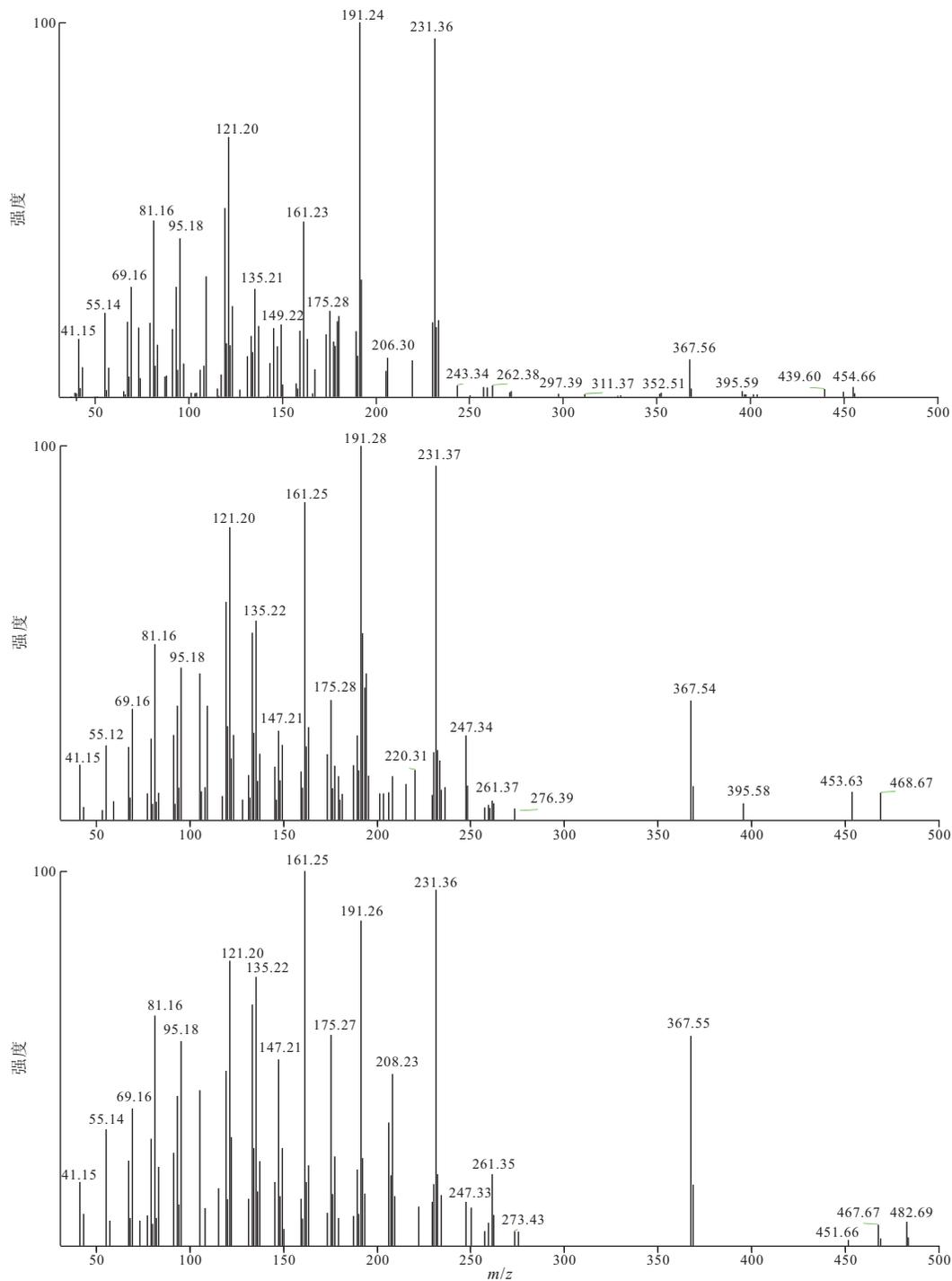


图 3  $C_{30}\Delta^{17(21)}$  藿烯酸,  $C_{31}\Delta^{17(21)}$  藿烯酸和  $C_{32}\Delta^{17(21)}$  藿烯酸系列化合物质谱图

Fig.3 The mass spectrum of  $C_{30}\Delta^{17(21)}$ -,  $C_{31}\Delta^{17(21)}$ - and  $C_{32}\Delta^{17(21)}$ - hopenoic acid

值(-32.5‰~-49.8‰)(图 4,表 2).在绝大多数现代沉积物中,藿烷酸系列化合物大多以  $17\beta(H)$ ,  $21\beta(H)$ -32-藿烷酸含量最高 (Innes *et al.*, 1997, 1998; Farrimond *et al.*, 2002; Birgel *et al.*, 2006; Birgel and Peckmann, 2008), 一般来说,  $17\beta(H)$ ,  $21\beta(H)$ -32-藿烷酸化合物是在成岩作用早期,由 4

个官能团的生物藿类先质细菌藿四醇相邻羟基官能团的氧化断裂而形成的 (Innes *et al.*, 1997; 周友平等, 1999; Watson and Farrimond, 2000). 能够合成藿类先质细菌藿多醇(BHTs)的细菌包括革兰氏阴性菌、蓝绿菌、醋酸菌、氮固定、紫非硫菌和硫酸盐还原菌等 (Rohmer *et al.*, 1984; Rohmer *et al.*, 1992;

表 2 藿烷酸化合物碳同位素组成及环境中主导种群

Table 2 The carbon composition of the hopanoid acids and the dominant archaeal consortia consortium in cold seep settings

样品编号	$\alpha\beta$ -C <sub>32</sub> -hopanoic acid	$\beta\beta$ -C <sub>32</sub> -hopanoic acid	<i>iso</i> -C <sub>15:0</sub>	<i>aiiso</i> -C <sub>15:0</sub>	主导微生物种群	参考文献
	$\delta^{13}\text{C}(\text{‰})$ (V-PDB)	$\delta^{13}\text{C}(\text{‰})$ (V-PDB)	$\delta^{13}\text{C}(\text{‰})$ (V-PDB)	$\delta^{13}\text{C}(\text{‰})$ (V-PDB)		
TVG3-C2	tr	-69.8	-90	-75.2	ANME-2	
TVG8-C5	tr	-40.3	-38.9	-41.5	ANME-1	
TVG13-C3	tr	-30.7	-45.2	-49.8	ANME-1	
TVG14-C2	tr	-32.9	-32.5	-35.5	ANME-1	
Cozzo Disi		-87	-83	-53	ANME-2	Ziegenbalg <i>et al.</i> (2012)
Gaspa-1	-52	-77	-80	-68	ANME-2	Ziegenbalg <i>et al.</i> (2012)
Monticino		-31	-33	-27	ANME-1	Ziegenbalg <i>et al.</i> (2012)

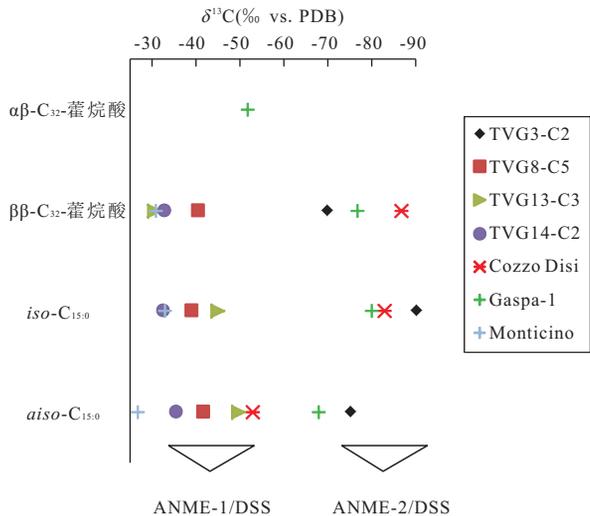


图 4 藿烷酸化合物及 *iso*-/*aiiso*-C<sub>15:0</sub> 碳同位素组成及主导微生物种群特征

Fig.4 The carbon composition of the hopanoic acids, *iso*-/*aiiso*-C<sub>15:0</sub> and the dominated consortia in cold seep settings

甚至单细胞的形式存在于环境中.因此,大多数存在于 ANME-1 种群主导的渗漏环境中的 SRB 并没有参与到甲烷厌氧氧化作用中,而导致藿烷酸化合物和 SRB 来源的生物标志物 (*iso*-/*anteiso*-C<sub>15:0</sub>) 一样,并不明显亏损 <sup>13</sup>C,且  $\delta^{13}\text{C}$  值相近.硫酸盐是甲烷厌氧氧化作用中唯一的电子接收体 (Nauhaus *et al.*, 2005),如果甲烷厌氧氧化生物标志物完好的保存在冷泉碳酸盐岩中,说明在这些渗漏环境中甲烷厌氧氧化作用是由某些古菌单独完成的.因此,通过冷泉碳酸盐岩中藿烷酸化合物的组成分布及碳同位素特征大致可以区分出环境中的主导微生物种群.

目前国内外对藿烷酸的报道非常少见,前人研究认为,细菌改造 C<sub>35</sub> 的原始细菌藿多醇可以产生  $\beta\beta$ ,  $\alpha\beta$  及  $\beta\alpha$  构型的藿烷酸,而  $\alpha\beta$  及  $\beta\alpha$  构型的藿烷酸则是由  $\beta\beta$  构型藿烷酸经  $\Delta^{17(21)}$  还原而形成 (Quirk *et al.*, 1984; 屈定创等, 1996).因此,文中的 C<sub>30</sub>  $\Delta^{17(21)}$  藿烯酸, C<sub>31</sub>  $\Delta^{17(21)}$  藿烯酸和 C<sub>32</sub>  $\Delta^{17(21)}$  藿烯酸系列化合物可能是藿烷酸各构型相互转换的系列中间产物.

### 3 结论

对南海九龙甲烷礁地区冷泉碳酸盐岩的藿烷酸系列化合物进行了研究,结果显示南海东沙冷泉碳酸盐岩中含有 17 $\beta$ (H), 21 $\beta$ (H)-30-藿烷酸至 17 $\beta$ (H), 21 $\beta$ (H)-33-藿烷酸系列化合物. TVG3-C2 (ANME-2 古菌种群为主) 中检测到的 17 $\beta$ (H), 21 $\beta$ (H)-32-藿烷酸化合物亏损 <sup>13</sup>C (-69.8‰), 并且其同位素值接近 *iso*-/*aiiso*-C<sub>15:0</sub> 脂肪酸 (-75.2‰ ~ -90.0‰), 说明其母质摄入了甲烷来源的碳. 尽管 site2 (TVG13-C3 和 TVG14-C2) 和 site3 (TVG8-C5) 自生碳酸盐岩中藿烷酸化合物都表现出了非渗

Waston and Farrimond, 2000; Sinninghe Damsté *et al.*, 2004; Blumenberg *et al.*, 2006). 研究表明, 硫酸盐还原菌中的脱硫弧菌属 (*Desulfo-vibrio* Strains) 也能够产生细菌藿多醇 (BHTs) (Blumenberg *et al.*, 2006), 并且已有报道认为, 与其他亏损 <sup>13</sup>C 的细菌生物标志物同时出现的藿烷酸化合物是由甲烷厌氧氧化作用中硫酸盐还原菌产生的 (Pancost *et al.*, 2000; Ziegenbalg *et al.*, 2012). 而 site2 和 site3 中藿烷酸化合物与硫酸盐还原菌生物标志物 *iso*-/*anteiso*-C<sub>15:0</sub> 一样, 并不明显亏损 <sup>13</sup>C 的原因可能是这些冷泉碳酸盐岩形成环境中的主导微生物种群为 ANME-1, 而 TVG3-C2 中的主导微生物种群为 ANME-2 (Guan *et al.*, 2013). Orphan *et al.* (2002) 曾指出 ANME-1 并不像 ANME-2 那样与 SRB 紧密共生, ANME-1 常常以单一集合体

漏特征(ANME-1 古菌种群为主),但藿烷酸的  $\delta^{13}\text{C}$  值同样较接近硫酸盐还原菌来源的 *iso-/anteiso-C*<sub>15:0</sub> 的  $\delta^{13}\text{C}$  值(−32.5‰~−49.8‰)。因此,说明大多数存在于 ANME-1 种群主导的渗漏环境中的硫酸盐还原菌并没有参与到甲烷厌氧氧化作用中,而导致藿烷酸化合物和硫酸盐还原菌来源的生物标志物并不明显亏损<sup>13</sup>C 并且  $\delta^{13}\text{C}$  值相近。同时,样品中检测到了  $\text{C}_{30}\Delta^{17(21)}$ ,  $\text{C}_{31}\Delta^{17(21)}$  和  $\text{C}_{32}\Delta^{17(21)}$  藿烯酸化合物,目前国内外极少有关藿烯酸化合物的报道,而这些藿烯酸化合物极有可能是藿烷酸各构型相互转换的系列中间产物。

致谢:非常感谢广州海洋地质调查局提供了研究样品,本文所有实验在中国科学院广州地球化学研究所孙永革研究员实验室完成,孙永革研究员在本实验的前处理及仪器分析过程中给予了大量的指导和帮助。

## References

- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., et al., 2002. Molecular Biology of the Cell (4). Garland Publishing, Inc., New York.
- Birgel, D., Feng, D., Roberts, H. H., et al., 2011. Changing Redox Conditions at Cold Seeps as Revealed by Authigenic Carbonates from Alaminos Canyon, Northern Gulf of Mexico. *Chemical Geology*, 285(1–4): 82–96. doi: 10.1016/j.chemgeo.2011.03.004
- Birgel, D., Peckmann, J., 2008. Aerobic Methanotrophy at Ancient Marine Methane Seeps: Asynthesis. *Organic Geochemistry*, 39(12): 1659–1667. doi: 10.1016/j.orggeochem.2008.01.023
- Birgel, D., Thiel, V., Hinrichs, K. U., et al., 2006. Lipid Biomarker Patterns of Methane-Seep Microbialites from the Mesozoic Convergent Margin of California. *Organic Geochemistry*, 37(10): 1289–1302. doi: 10.1016/j.orggeochem.2006.02.004
- Blumenberg, M., Krüger, M., Nauhaus, K., et al., 2006. Biosynthesis of Hopanoids by Sulfate-Reducing Bacteria (Genus *Desulfovibrio*). *Environmental Microbiology*, 8(7): 1220–1227. doi: 10.1111/j.1462-2920.2006.01014.x
- Blumenberg, M., Seifert, R., Reitner, J., et al., 2004. Membrane Lipid Patterns Typify Distinct Anaerobic Methanotrophic Consortia. *PNAS*, 101(30): 11111–11116. doi: 10.1073/pnas.0401188101
- Boetius, A., Ravensschlag, K., Schubert, C. J., et al., 2000. A Marine Microbial Consortium Apparently Mediating Anaerobic Oxidation of Methane. *Nature*, 407: 623–626. doi: 10.1038/35036572
- Bouloubassi, I., Aloisi, G., Pancost, R. D., et al., 2006. Archaeal and Bacterial Lipids in Authigenic Carbonate Crusts from Eastern Mediterranean Mud Volcanoes. *Organic Geochemistry*, 37(4): 484–500.
- Brocks, J. J., Pearson, A., 2005. Building the Biomarker Tree of Life. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 59(1): 233–258. doi: 10.2138/rmg.2005.59.10
- Farrimond, P., Griffiths, T., Evdokiadis, E., 2002. Hopanoic Acids in Mesozoic Sedimentary Rocks: Their Origin and Relationship with Hopanes. *Organic Geochemistry*, 33(8): 965–977. doi: 10.1016/S0146-6380(02)00059-1
- Guan, H. X., Sun, Y., Zhu, X., 2013. Factors Controlling the Types of Microbial Consortia in Cold-Seep Environments: A Molecular and Isotopic Investigation of Authigenic Carbonates from the South China Sea. *Chemical Geology*, 354: 55–64.
- Han, X., Suess, E., Huang, Y., et al., 2008. Jiulong Methane Reef: Microbial Mediation of Seep Carbonates in the South China Sea. *Marine Geology*, 249(3–4): 243–256. doi: 10.1016/j.margeo.2007.11.012
- Hinrichs, K. U., Boetius, A., 2003. The Anaerobic Oxidation of Methane. In: Wefer, G., Billett, D., Hebbeln, D., eds., Ocean Margin Systems. Springer-Verlag, 457–477.
- Hirokyu, S., Noriyuki, S., 2007. Distributions and Sources of Hopanes, Hopanoic Acids and Hopanols in Miocene to Recent Sediments from ODP Leg 190, Nankai Trough. *Org. Geochemistry*, 38(10): 1715–1728. doi: 10.1016/j.orggeochem.2007.05.012
- Innes, H. E., Bishop, A. N., Fox, P. A., et al., 1998. Early Diagenesis of Bacterio-hopanoids in Recent Sediments of Lake Pollen, Norway. *Organic Geochemistry*, 29(5–7): 1285–1295. doi: 10.1016/S0146-6380(98)00108-9
- Innes, H. E., Bishop, A. N., Head, I. M., et al., 1997. Preservation and Diagenesis of Hopanoids in Recent Lacustrine Sediments of Priest Pot, England. *Organic Geochemistry*, 26(9–10): 565–576. doi: 10.1016/S0146-6380(97)00017-X
- Knittel, K., Boetius, A., Lemke, A., et al., 2003. Activity, Distribution, and Diversity of Sulfate Reducers and Other Bacteria in Sediments above Gas Hydrate (Cascadia Margin, Oregon). *Geomicrobiology Journal*, 20(4): 269–294. doi: 10.1080/01490450303896
- Knittel, K., Loekann, T., Boetius, A., et al., 2005. Diversity and Distribution of Methanotrophic Archaea at Cold Seeps. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(1): 467–479. doi: 10.1128/AEM.71.1.467-479.2005

- Losekann, T., Knittel, K., Nadalig, T., et al., 2007. Diversity and Abundance of Aerobic and Anaerobic Methane Oxidizers at the Haakon Mosby Mud Volcano, Barents Sea. *Applied and Environmental Microbiology*, 73 (10): 3348—3362. doi: 10.1128/AEM.00016—07
- Michaelis, W., Seifert, R., Nauhaus, K., et al., 2002. Microbial Reefs in the Black Sea Fueled by Anaerobic Methane Oxidation. *Science*, 297 (5583): 1013—1015. doi: 10.1126/science.1072502
- Nauhaus, K., Treude, T., Boetius, A., et al., 2005. Environmental Regulation of the Anaerobic Oxidation of Methane: A Comparison of ANME-I and ANME-II Communities. *Environmental Microbiology*, 7(1): 98—106. doi: 10.1111/j.1462—2920.2004.00669.x
- Niemann, H., Duarte, J., Hensen, C., et al., 2006. Microbial Methane Turnover at Mud Volcanoes of the Gulf of Cadiz. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 70 (21): 5336—5355. doi: 10.1016/j.gca.2006.08.010
- Orphan, V.J., Hinrichs, K.U., Ussler, W., et al., 2001. Comparative Analysis of Methaneoxidizing Archaea and Sulfate-Reducing Bacteria in Anoxic Marine Sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 67 (4): 1922—1934. doi: 10.1128/AEM.67.4.1922—1934.2001
- Orphan, V.J., House, C.H., Hinrichs, K.U., et al., 2002. Multiple Archaeal Groups Mediate Methane Oxidation in Anoxic Cold Seep Sediments. *PNAS*, 99 (11): 7663—7668. doi: 10.1073/pnas.072210299
- Pancost, R.D., Chopmans, E., Sinninghe, J.S., 2001. Archaeal Lipids in Mediterranean Cold Seeps: Molecular Proxies for Anaerobic Methane Oxidation. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 65 (10): 1611—1627. doi: 10.1016/S0016—7037(00)00562—7
- Pancost, R.D., Sinninghe Damsté, J.S., de Lint, S., et al., 2000. Biomarker Evidence for Widespread Anaerobic Methane Oxidation in Mediterranean Sediments by a Consortium of Methanogenic Archaea and Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(3): 1126—1132. doi: 10.1128/AEM.66.3.1126—1132.2000
- Pape, T., Blumenberg, M., Seifert, R., et al., 2005. Lipid Geochemistry of Methane-Seep-Related Black Sea Carbonates. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 227(1—3): 31—47. doi: 10.1016/j.palaeo.2005.04.030
- Pautot, G., Rangin, C., Briais, A., et al., 1986. Spreading Direction in the Central South China Sea. *Nature*, 321: 150—154. doi: 10.1038/321150a0
- Peckmann, J., Thiel, V., Reitner, J., et al., 2004. A Microbial Mat of a Large Sulfur Bacterium Preserved in a Miocene Methane-Seep Limestone. *Geomicrobiology Journal*, 21 (4): 247—255. doi: 10.1080/01490450490438757
- Qu, D.C., Shi, J.Y., Xiang, M.J., 1996. The Identification and Significance of Two New Hopanoic Acid. *Chinese Science Bulletin*, 41(8): 731—734 (in Chinese).
- Quirk, M.M., Wardroper, A.M.K., Wheatley, R.E., 1984. Extended Hopanoids in Peat Environments. *Chemical Geology*, 42(1—4): 25—43. doi: 10.1016/0009—2541(84)90003—2
- Reeburgh, W.S., 1976. Methane Consumption in Cariaco Trench Waters and Sediments. *Earth and Planetary Science Letters*, 28(3): 337—344. doi: 10.1016/0012—821X(76)90195—3
- Reeburgh, W.S., 1980. Anaerobic Methane Oxidation: Rate Depth Distributions in Skan Bay Sediments. *Earth and Planetary Science Letters*, 47 (3): 345—352. doi: 10.1016/0012—821X(80)90021—7
- Reeburgh, W.S., 1996. “Soft Spots” in the Global Methane Budget. In: Lidstrom, M.E., Tabita, F.R., eds., *Microbial Growth on C1 Compounds*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 334—342. doi: 10.1007/978—94—009—0213—8\_44
- Reeburgh, W.S., Whalen, S.C., Alperin, M.J., 1993. In *Microbial Growth on C1 Compounds*. In: Murrell, J.C., Kelly, P.D., eds., *Proceedings of the 7th International Symposium*. Am. Soc. Microbiol., Washington, D.C., 1—14.
- Ritger, S., Carson, B., Suess, E., 1987. Methane-Derived Authigenic Carbonates Formed by Subduction—Induced Pore-Water Expulsion along the Oregon/Washington Margin. *Geological Society of America Bulletin*, 98 (2): 147—156. doi: 10.1130/0016—7606(1987)98<147:MACFBS>2.0.CO;2
- Rohmer, M., Bissere, P., Neunlist S., 1992. The Hopanoids, Prokaryotic Triterpenoids and Precursors of Ubiquitous Molecular Fossils. In: Moldowan, J.M., Albrecht, P., Philp, R.P., eds., *Biological Markers in Sediments and Petroleum*. Prentice Hall, London, 1—17.
- Rohmer, M., Bouvier-Nave, P., Ourisson, G., 1984. Distribution of Hopanoid Triterpenes in Prokaryotes. *Journal of General Microbiology*, 130(5): 1137—1150. doi: 10.1099/00221287—130—5—1137
- Sinninghe Damsté, J.S., Rijpstra, W.I.C., Schouten, S., et al., 2004. The Occurrence of Hopanoids in Planctomycetes: Implications for the Sedimentary Biomarker Record. *Organic Geochemistry*, 35 (5): 561—566. doi: 10.1016/j.orggeochem.2004.01.013
- Taylor, B., Hayes, D.E., 1980. The Tectonic Evolution of the South China Basin. In: Hayes, D.E., ed., *Tectonic and*

- Geologic Evolution of Southeast Asian Seas and Islands, *Geophys. Monogr.*, 23. American Geophysical Union, Washington, D.C., 89—104.
- Wang, P. R., 2001. Geochemistry and Application of Non-hydrocarbons. Petroleum Industry Press, Beijing, 50—52 (in Chinese).
- Wang, P. R., Yao, H. X., Chen, Q., et al., 1995. Compositional Characteristics of Organic Oxygen Compounds in Extract from Yimin Brown Coal. *Journal of Jiangnan Petroleum Institute*, 17(2): 33—38 (in Chinese with English abstract).
- Watson, D. F., Farrimond, P., 2000. Novel Polyfunctionalised Geohopanoids in a Recent Lacustrine Sediment (Priest Pot, UK). *Organic Geochemistry*, 31(11): 1247—1252. doi: 10.1016/S0146—6380(00)00148—0
- Zhou, Y. P., Shi, J. Y., Qu, D. C., 1999. Study on the Origin of  $\beta\beta$  Hopenes from Different Depositional Environment—Stable Carbon Isotopic Evidences. *Journal of South China Normal University (Natural Science)*, (3): 53—58 (in Chinese with English abstract).
- Ziegenbalg, S. B., Birgel, D., Hoffmann-Sell, L., et al., 2012. Anaerobic Oxidation of Methane in Hypersaline Messinian Environments Revealed by  $^{13}\text{C}$ -Depleted Molecular Fossils. *Chemical Geology*, 292—293(13): 140—148. doi: 10.1016/j.chemgeo.2011.11.024

### 附中文参考文献

- 屈定创, 史继扬, 向明菊, 1996. 两类新的藿酸化合物的发现及其意义. *科学通报*, 41(8): 731—734.
- 王培荣, 2001. 非烃地球化学和应用. 北京: 石油工业出版社, 50—52.
- 王培荣, 姚焕新, 陈奇, 等, 1995. 伊敏湖底褐煤抽提物中有机氧化化合物的组成特征. *江汉石油学院学报*, 17(2): 33—38.
- 周友平, 史继扬, 屈定创, 1999. 沉积有机质中  $\beta\beta$  藿烷成因研究——碳稳定同位素证据. *华南师范大学学报*, (3): 53—58.