2016年1月 第九期

跬步集

中国科学院广州地球化学研究所 有机地球化学国家重点实验室 张干课题组内部刊物



功能基因与微生物分类信息关联方案

江龙飞

实验室开展稳定性同位素探针实验已有数年,在 DNA-SIP 方面的技术已臻 至成熟,然而如何进行后续研究,进一步把握功能微生物的信息,成为科研过程 中最大的障碍。

目前,我们期望通过 MNP(磁性纳米颗粒)技术及单细胞拉曼技术等方式 获得功能细胞群或者单个功能细胞,对它们进行生理生化或测序分析,挖掘其内 在信息。但是,受限于科研设备,样品复杂度,技术难度等因素,要想在短期内 获得成功,仍有极大的难度。为了研究的顺利进行,在此推荐一种生物信息分析 方法,希望能在一定程度上解决这一问题。

在宏基因组研究过程中,存在着与我们类似的一个问题,当标记基因(例如 16S rRNA)缺乏时,无法将功能基因片段与微生物的种属分类结合起来。为了 解决这一问题,科研人员常常利用 GC 含量,密码子的使用偏好来对不同的基因 片段这行分类,然而,结果差强人意,虽然在一定程度上对基因片段进行了分组, 但是结果往往具有较大偏差,模糊,不确切。

早在上世纪,人们就发现基因组中的寡核苷酸的频率具有种属的信号特征 (Karlin, 1998; Karlin and Ladunga, 1994)。利用这一特征,人们可以研究 DNA 的 水平转移(Dalevi et al., 2006),重建微生物之间的进化关系(van Passel et al., 2006), 推断噬菌体的生活方式等(Mrazek and Karlin, 2007)。对于我们的研究来说,其最 为重要的作用在于可以将宏基因组片段归附到相应的微生物分类上,该过程被称 为装箱 (binning) (McHardy and Rigoutsos, 2007)。Gregory et.al 等人选取了 Richmond 矿山的两个生物膜样品对该方法在环境样品中的应用进行了测试(Dick et al., 2009)。他们对两个样品分别进行文库构建和桑格测序,提取其中无法分类 的 DNA 片段,构建成一个统一的数据库,计算长度为 2 至 5kb 序列的四核苷酸 频率,以 1bp 为步长,构建计算窗口。通过无导师神经网络算法对四核苷酸频率 特征进行分类,发现频率特征对于亲缘关系较远的 DNA 片段具有很好的聚类效 果,但是对于同种属的微生物,由于其共有大量的 DNA 信息,导致它们难以被 很好的区分开。此外,由于转移元件导致 DNA 片段在微生物之间频繁交换,含

跬步集 2016年1月 第九期

有转座子、整合质粒、前噬菌体和 CRISPR 元件等移动元件的 DNA 片段也常常 会发生聚类错误。

由于我们对功能微生物的种属鉴定往往在属水平,故通过分析功能基因以及 功能微生物基因组信息的四核苷酸频率特征,我们可以在很大程度上将功能基因 与所得到的功能微生物分类信息联系起来,这无疑可以为实验结果提供强力支 持。当然,如果我们获得的功能基因序列含有转座元件,可能会导致聚类错误, 但是,我们同样可以按图索骥,找到该功能基因的最初来源,为功能基因的产生、 进化和转移提供研究数据。

参考文献:

Dalevi, D., Dubhashi, D., Hermansson, M., 2006. Bayesian classifiers for detecting HGT using fixed and variable order Markov models of genomic signatures. Bioinformatics 22, 517-522.

Dick, G.J., Andersson, A.F., Baker, B.J., Simmons, S.L., Yelton, A.P., Banfield, J.F., 2009. Community-wide analysis of microbial genome sequence signatures. Genome Biol 10.

Karlin, S., 1998. Global dinucleotide signatures and analysis of genomic heterogeneity. Curr Opin Microbiol 1, 598-610.

Karlin, S., Ladunga, I., 1994. Comparisons of Eukaryotic Genomic Sequences. P Natl Acad Sci USA 91, 12832-12836.

McHardy, A.C., Rigoutsos, I., 2007. What's in the mix: phylogenetic classification of metagenome sequence samples. Curr Opin Microbiol 10, 499-503.

Mrazek, J., Karlin, S., 2007. Distinctive features of large complex virus genomes and proteomes. P Natl Acad Sci USA 104, 5127-5132.

van Passel, M.W.J., Kuramae, E.E., Luyf, A.C.M., Bart, A., Boekhout, T., 2006. The reach of the genome signature in prokaryotes. Bmc Evol Biol 6.

大气棕色碳研究检测技术初探

莫扬之

有机气碳(OC)是大气气溶胶的重要组成,对人体健康,空气质量和气候变 化有着重要的影响。当前的气候模型假设大气吸光物主要是 BC 与矿尘(致热), OC 只是单纯的散光(致冷),然而最近学者发现部分 OC 也有一定的吸光能力, 并且吸光能力随着波长变短而增强,并且在紫外光区的吸光能力不亚于 BC,称 这类 OC 为棕色碳(BrC),改变了之前对 OC 气候效应的认识。因此,加强对 BrC 的检测研究将十分必要。目前对 BrC 的检测手段主要有遥感、在线非滤膜、在线 滤膜和离线溶剂提取技术,本文将对以上几种 BrC 的技术手段进行简要的介绍举 例。

1. 在线非滤膜技术:

非滤膜技术基于把吸光信号转化为其他的物理信号,如声学信号。这里以光 声光谱仪为例说明。光声光谱仪(Photo—Acoustic Spectroscopy, PAS)的主 要原理是光声效应:用一束强度可调制的单色光照射到密封于光声池中的样品 上,样品吸收光能,并以释放热能的方式退激,释放的热能使样品和周围介质按 光的调制频率产生周期性加热,从而导致介质产生周期性压力波动,这种压力波 动可用灵敏的微音器或压电陶瓷传声器检测,并通过放大得到光声信号。Yuan et al. (2015)用三波段的光声烟尘光谱仪(Photo-acoustic soot spectrometer, PASS-3)对珠三角城郊区域冬秋季节的 BrC 进行检测,研究发现 OC/EC 与吸收埃 斯特朗指数(Absorption Angstrom Exponent, AAE)呈正相关,说明 OC 中含有 对颗粒物吸光性有影响的 BrC。当 OC/EC=0 时所对应的 AAE 认为是纯 BC 状态下 的 AAE,其值与一般认为 BC 的 AAE 为 1 不同,在受不同源组分影响的区域其值 在 0.8—1.02 之间变动。假设没有矿尘的影响下,BrC 对城区冬季,城区秋季和 郊区秋季总吸光的贡献在 405nm 分别为 11.7,6.3,12.1%,在 532 波段分别为 10.0,4.1,5.5%,总的来说 BC 还是主要的吸光物质,但 BrC 的吸光能力在短波 长处不容忽视。

2. 在线基于滤膜技术:

基于滤膜气溶胶光学在线监测技术主要原理是测定一定波长的光束在负载 有沉积颗粒滤膜上的投射或反射光衰减系数,再根据采样流量和有效采样面积得 出相应的吸光系数。国际上主流的滤膜在线监测仪器有三种:烟尘颗粒物吸收光 度计 (Particle-Soot Absorption Photometer, PASP),黑碳仪 (Aethalometer) 和多角度吸收光度计 (Multi-Angle Absorption Photometer, MAAP),前两者 基于透射光的衰减而后者结合了透射光与反射光的衰减信号计算吸光系数。

BC与 BrC 都具有吸光性,区分两者的方式主要有以下两种方式:

2.1 根据其 AAE 不同(一般认为 BC 的 AAE 为 1)。

此方法假设主要的吸光物质是 BC 与 BrC,并根据以下方程联立计算得出各 自的吸光贡献:

$$B_{abs,\lambda} = B_{abs,bc,\lambda} + B_{abs,brc,\lambda}$$
(1)

$$\frac{b_{abs,bc,\lambda_1}}{b_{abs,bc,\lambda_2}} = \left(\frac{\lambda_1}{\lambda_2}\right)^{-AAE_{bc}}$$
(2)

$$\frac{b_{abs,brc,\lambda_1}}{b_{abs,brc,\lambda_2}} = \left(\frac{\lambda_1}{\lambda_2}\right)^{-AAE_{brc}}$$
(3)

AAE_{be}一般为1,而AAE_{bre}可根据源样品和¹⁴C测定值估算。

Sandradewi et al. (2008) 最先使用此方法估算了冬季瑞士地区生物质燃烧 与交通源并与¹⁴C 数据做对比。研究表明由光学系统得出的 PM_{wb}/PM_{traffic}与¹⁴C 得 出的 TCM_{nonfossil}/TCM_{fossil}相关性良好,且斜率接近 1。PM_{wb}和 PM_{traffic}对 PM1 的贡献 分别为 88%与 12%。值得一提的是此方程的前提条件是忽略了来自于生物性气溶 胶。Favez et al. (2009)用同样的方式估算出法国巴黎冬季的生物质燃烧对 PM2.5 的贡献为 20±10%。Mohr et al. (2013)结合气溶胶质谱进一步估算单个 硝基苯酚化合物对 BrC 的吸光贡献,尽管四个硝基苯酚化合物的总浓度最高只达 到 90 ng/m³平均占 0A 不到 0.5%,但在 370nm 对 BrC 吸光值贡献平均达到 4±2%, 最高能达到 29%。值得注意的是用黑碳仪测得的吸光值需要进行误差校正。

2.2 假设 BrC 在长波处的吸光可以忽略不计,在长波长度计算出 BC 的浓度,总

吸光度减去 BC 的吸光后得出 BrC 的吸光贡献。

Yang et al. (2009)用上述方式结合黑碳仪, PASP 和浊度仪测定了中国香 河区域 BC、BrC 和矿尘的吸光散光性质。假设 950nm 处的吸光全部源自于 BC, 从而计算出 BC 的质量浓度得到 BC 的全波段吸光度,再假设在沙尘暴时期的吸光 只来自于 BC 和矿尘,再应用 Mie 折射散射理论估算每个波长的折射系数,得出 矿尘的吸光值,最后用总吸光度减去 BC 和矿尘相应的吸光值即可得出 BrC 的吸 光。BC、BrC 和矿尘在 550nm 的质量吸光系数分别为 9.5, 0.5 和 0.03m²/g,计 算 BrC 的质量吸光系数时并没有考虑到 0C 中没有吸光能力的组分,因此 BrC 的 0C 值有可能被低估。

以上的两种方法只是把 BC 与 BrC 对总的吸光的贡献,并没有估算出 BrC 的 量,有意大利学者利用自主研发多波段多角度吸收光度计(MWAAP)结合透射法 的 OCEC 分析仪首次定量分析 BrC (Massabò et al., 2013; Massabò et al., 2015a; Massabò et al., 2015b)。热光法测定 OCEC 的前提是除了 EC 外没有其他的吸光 物质,然而 OC 中部分具有吸光性质的 BrC 则会令 EC 值高估。MWAAP 可以离线得 到 EC 和 BrC 在 632nm 波段所应有的吸光值,在 OCEC 仪上扣除 BrC 在 632nm 的吸 光值后得到真正 EC 所对应的吸光值,从而重新定义 OCEC 的切割点,更准确的得 到 EC 值和定量 BrC,该方法得到 BrC 在 632nm 的质量吸光系数为 7 m²/g,这个 值明显比其他方法所得到的要大得多。



Fig. 5. Example thermogram showing the original split point – empty square dot (identified by the ATNs value, i.e. non-corrected for BrC presence) and the new split point – empty round dot (identified by ATNs sheet, i.e. corrected for BrC presence). The new split point is rightmost of the original one leading to a new EC/OC separation.

3. 离线膜分析技术

热光法测定 OCEC 主要是根据透射或反射激光信号在焦化前后的强度来确定 切割点,主要前提是: (1) 0C 不具有吸光性。(2) 焦化的 0C 具有和 EC 一样

的吸光能力。显然 BrC 的存在对 OCEC 的测定会造成影响,为了评估 BrC 对 OCEC 测定的影响,Chen et al. (2015)改制沙漠所 OCEC 分析仪,使其能够探测分析 过程中 7 个波段 (404,450,532,635,780,808,980)的相对应的反射和透 射信号变化,从而用函数模拟估计 BrC 对 OCEC 测定的影响,此台仪器相当于传 统的 OCEC 仪集成了能测反射信号的黑碳仪。其研究发现在短波长处 450nmBrC 对 OCEC 的切割影响更明显,反射信号得到的 EC 值比在 635nm 得到的值更高,然 而透射信号得到的 EC 值并没有明显变化这可能是透射法 EC 值会随波长缩短而降 低的特性与 BrC 相抵消造成的,在 635nmBrC 相对 BC 的吸收光学厚度贡献随着源 样品的不同也有着相应的变化,最高的生物质燃烧原样品能达到 46%,但汽车尾 气样只有 1%不到。光学公式计算得出的 BC 浓度 (BC=tabe,635mm/MAE635mm)除汽车尾 气外其他源样品均与透射和发射法得出的 EC 浓度有较大差别,这正好与上述汽 车尾气样品的 BrC 光学厚度贡献相对较小一致。在生物质燃烧样品中含有大量焦炭 影响了透射信号,但在汽车尾气样上两者差别较小。



Figure S5. Decomposition of measured absorption optical depth $(\tau_{a,\lambda})$ from (a) Fresno ambient and (b) Reno wildfire samples into the BC and BrC contributions based on their distinct spectral dependence of light absorption. See text for details.

由于普遍认为BC是不溶于溶剂的,所以最常见离线分析BrC的方法是使用不同极性的溶剂萃取0C在进一步分析溶解在溶剂中BrC的性质,这种方法已经得到了广泛的认可和应用。此外,还有研究者应用带有积分球的分光光度计同时测定泡在有机溶剂中的膜的BC与BrC。BC是强吸光物质,但是当被无吸光能力的有机质包裹时其吸光能力会增强30[~]50%,当膜浸泡在混合有机溶剂时,包裹在BC上的

有机质将被溶解,测得的将是纯BC的吸光度,定量原理主要是用EC标准物和腐殖酸钠的混标分别测定在615nm和404nm的吸光度替代BC与BrC的吸光度(Wonaschütz et al., 2009)。



FIGURE 1. Setup of integrating sphere photometer.

综上所述,测定 BrC 的方法多种多样,原理也各有不同,但是缺少各种方法间的对比,特别是在线与离线方法的对比,有待进一步深入研究。

最后,在新的一年里祝大家身体健康, 工作顺利,文章多多!!!

参考文献:

Chen, L.-W., Chow, J., Wang, X., Robles, J., Sumlin, B., Lowenthal, D., Zimmermann, R., Watson, J., 2015. Multi-wavelength optical measurement to enhance thermal/optical analysis for carbonaceous aerosol. Atmospheric Measurement Techniques 8, 451-461.
Favez, O., Cachier, H., Sciare, J., Sarda-Esteve, R., Martinon, L., 2009. Evidence for a significant contribution of wood burning aerosols to PM 2.5 during the winter season in Paris, France.
Atmospheric Environment 43, 3640-3644.

Massabò, D., Bernardoni, V., Bove, M.C., Brunengo, A., Cuccia, E., Piazzalunga, A., Prati, P., Valli, G., Vecchi, R., 2013. A multi-wavelength optical set-up for the characterization of carbonaceous particulate matter. Journal of Aerosol Science 60, 34-46.

Massabò, D., Caponi, L., Bernardoni, V., Bove, M., Brotto, P., Calzolai, G., Cassola, F., Chiari, M.,

Fedi, M., Fermo, P., 2015a. Multi-wavelength optical determination of black and brown carbon in atmospheric aerosols. Atmospheric Environment 108, 1-12.

Massabò, D., Caponi, L., Bernardoni, V., Bove, M.C., Brotto, P., Calzolai, G., Cassola, F., Chiari, M., Fedi, M.E., Fermo, P., 2015b. Multi-wavelength optical determination of black and brown carbon in atmospheric aerosols. Atmospheric Environment 108, 1-12.

Mohr, C., Lopez-Hilfiker, F.D., Zotter, P., Prévôt, A.S., Xu, L., Ng, N.L., Herndon, S.C., Williams, L.R., Franklin, J.P., Zahniser, M.S., 2013. Contribution of nitrated phenols to wood burning brown carbon light absorption in Detling, United Kingdom during winter time. Environmental science & technology 47, 6316-6324.

Sandradewi, J., Prevot, A.S., Szidat, S., Perron, N., Alfarra, M.R., Lanz, V.A., Weingartner, E., Baltensperger, U., 2008. Using aerosol light absorption measurements for the quantitative determination of wood burning and traffic emission contributions to particulate matter. Environmental science & technology 42, 3316-3323.

Wonaschütz, A., Hitzenberger, R., Bauer, H., Pouresmaeil, P., Klatzer, B., Caseiro, A., Puxbaum, H., 2009. Application of the integrating sphere method to separate the contributions of brown and black carbon in atmospheric aerosols. Environmental science & technology 43, 1141-1146. Yang, M., Howell, S., Zhuang, J., Huebert, B., 2009. Attribution of aerosol light absorption to black carbon, brown carbon, and dust in China–interpretations of atmospheric measurements during EAST-AIRE. Atmospheric Chemistry and Physics 9, 2035-2050.

Yuan, J.-F., Huang, X.-F., Cao, L.-M., Cui, J., Zhu, Q., Huang, C.-N., Lan, Z.-J., He, L.-Y., 2015. Light absorption of brown carbon aerosol in the PRD region of China. Atmospheric Chemistry and Physics Discussions 15, 28453-28482.



近五年来我国大气气溶胶源解析中 OC 及 EC 主要来源 ——被严重低估的生物质燃烧

苏涛

大气颗粒物物是 2006 年我国城市空气质量的主要污染物,由于其来源广泛, 弄清楚城市大气颗粒物的来源及各来源所占比例,成为环境管理和科学决策一个 非常重要而又复杂的课题(井鹏, 2008)。其中,碳是大气颗粒物大气颗粒物中几 种主要富含元素之一,它主要以有机碳(OC)和元素碳(EC)形式存在。Chen 曾报道总悬浮颗粒物(TSP)中有 81.9%的 OC 和 84.9%的 EC 集中于粒径<2.5µm 的颗粒物中,有高于 93%的 OC 和 EC 集中在粒径<10µm 的颗粒物中(Chih-Chung et al., 1997)。唐小玲等人研究广州市荔湾区冬季的大气颗粒物样品也表明 OC 和 EC 主要存在于细粒子中(傅家谟, 2006)。因此研究细粒子中 OC 和 EC 是具有代 表性的,即应用源解析技术对细粒子中 OC 和 EC 进行定性和定量分析,为制定 科学合理的控制排放政策法规提供理论依据。源解析技术大体上可分为排放清单

(Emission Inventory)、以污染源为对象的扩散模型(Diffusion Model)和以污染区域为对象的受体模型(Receptor Model)三种(井鹏,2008)。其中,扩散模型需知道污染源个数和方位,颗粒物扩散过程中详细气象资料,以及颗粒物在大气中生成、消除和输送等重要特征参数。这些资料和参数难以获取,限制了扩散模型的应用(龙红艳,2012)。因此本文重点放在了排放清单和受体模型上。排放清单是通过观测和模拟大气颗粒物的源排放量、排放特征及排放地理分布等,建立列表模型。但如果缺乏部分源排放因子,则估算存在较大的不确定性(井鹏,2008)。例如 Street 等人的东亚地区排放清单(TRACE-P)清单给出了中国地区2000 年元素碳(BC)和有机碳(BC)的排放(G et al.,2001)。受体模型以污染区域为对象,着眼于研究排放源对受体的贡献,通过对采样点污染物的特征进行分析,解析污染源对污染物的贡献情况(龙红艳,2012)。受体模型主要包括显微镜法、物理法、化学法三类,其中化学法发展最成熟,主要有化学质量平衡法(CMB)、二重源解析法、因子分析法(FA)和富集因子法(EF)等(李鹏,2015)。但二重源解析法和富集因子法都有着其局限性。前者是将扬尘这类复合源作为受体,建筑尘等单一源作为排放源进行二重解析求出各单一源对扬尘的贡献值。后

者可以帮助人们推测污染物在某一地区富集和污染源类型(天然源和人为源), 但是富集因子法给不出各种不同类型污染源相对贡献的定量结果,只能做出定性 的判断(井鹏,2008)。因此,对于受体模型我们主要应用 CMB 和 FA 法对细粒子 中 OC 和 EC 进行定性和定量分析。其中 FA 法是根据大量样品的化学物种相关 关系,从中归纳总结公因子,计算因子载荷,通过因子载荷以及源类特征示踪物 推断源类别,主要包括 PMF、PCA、ME2、UNMIX 等方法(张远航,2015)。其 中,PMF 是常用的源解析技术。张延君等人以美国亚特兰大采集的 PM2.5 及化 学成分为公共数据平台,评价了几种不同源解析技术 CMB-无机、CMB—LGO、 CMB—MM、PMF、PMF-new、CMAQ、Ensemble model 的特点以及适用性(张 远航,2015)。

除此之外,对于碳质气溶胶,测定碳质气溶胶样品 EC 的放射性 14C,能很 好区分生物质燃烧或化石燃料燃烧这两大来源。本文将收集用源清单、CMB、 PMF 源解析技术分析的 20 几个城市大气细颗粒物各组分的排放情况,以此来计 算比较大气细颗粒物中 OC、EC 排放情况。

参考文献:

Chih-Chung, L., Shi-Hu, L., Shui-Jen, C., Wei-Jain, J., 1997. Particle size distribution of aerosol carbons in ambient air. Environment International, 475-488.

G, S.D., Bo, Y., Shalini, G., Q, W.M., C, B.T., T, W.S., 2001. Black carbon emissions in China. Atmospheric Environment, 4281-4296.

傅家谟, 唐毕, 陈.盛, 2006. 不同粒径大气颗粒物中有机碳(OC)和元素碳(EC)的分布. 环境科学研究, 104-108.

井鹏,张叶,2008. 城市大气颗粒物源解析技术的研究进展. 能源与环境,130-133.

李鹏,张张,2015. 大气颗粒物的源解析技术. 资源节约与环保,193-194.

龙红艳, 2012. 大气细颗粒物 PM25 的源解析技术. 能源与环境, 46-49.

张远航,张郑,蔡闫,2015.PM2.5 源解析方法的比较与评述.科学通报,109-121.

真菌与细菌联合培养降解高分子量多环芳烃

李启虔

高分子量多环芳烃(HWM-PAHs)是一类由4个或4个以上苯环以线状、角状 或簇状排列的稠环化合物。高分子量多环芳烃因其亲脂性、疏水性以及高稳定性, 不易被微生物降解,易于在自然环境中累积并持久地存在(Peng et al., 2008)。

研究表明,低分子量多环芳烃在环境中易被细菌利用,作为唯一碳源而矿化。 随着相对分子量的增加,生物可利用性持续降低,细菌降解高分子量多环芳烃的 报道非常有限。然而,真菌利用分泌到细胞外的非特异性氧化还原酶,对高分子 量多环芳烃具有较强的降解能力(Harms et al., 2011)。在土壤高分子量多环芳 烃的降解过程中,真菌分泌的胞外酶同细菌起降解作用的胞内酶相比,更易于攻 击到土壤中的污染物。生成的氧化代谢产物与其母体分子相比,具有更大的水溶 性和生物可利用性,易于进一步被细菌降解(Johnsen et al., 2005)。真菌菌丝 的生长使其能够穿透土壤并分散到土壤污染物周围,在增强土壤透气性的同时, 真菌菌丝还能作为运输载体,将具有降解污染物功能的微生物菌群运载、分散到 污染物附近,增进降解效果(Kohlmeier et al., 2005)。Kotterman 使用白腐真 菌 Bjerkandera sp. BOS55 和土著微生物联合降解¹⁴C 标记的苯并(a)芘,发现 Bjerkandera sp. BOS55 单独培养时,在15天内可以降解 82%的苯并(a) 芘,但 是只有少量的被矿化,大部分以水溶性代谢产物的形式存在。加入菌群后,苯并 (a) 花的最终矿化率从 13.5%上升至 34%, 同时 ¹⁴C 标记的水溶性代谢产物从 61% 下降至 16% (Kotterman et al., 1998)。Boonchan 等人的研究也观察到相同的结 果,单独在无机盐培养基内生长的真菌 P. janthinellum VUO 10,201 不能利用 任何高分子量多环芳烃,但是当加入细菌菌群 VUN 10,009 和 VUN 10,010 后,高 达 53%的被¹⁴C 标记的苯并(a) 芘在百日内矿化为 CO₂(Boonchan et al., 2000)。

生物强化降解土壤中高分子量多环芳烃的过程中,接入的降解菌应该尽可能 的矿化多环芳烃,最大限度地减少有毒代谢产物的积累。真菌通常难以完全矿化 污染物,采用真菌与细菌联合降解培养的方法,降解高分子量多环芳烃的极性代 谢产物是土壤解毒的关键(Morelli et al., 2013)。在真菌与细菌联合培养降解 高分子量多环芳烃的研究中,也存在细菌菌群未能有效降解真菌代谢产物,并且

由于极性的增加,对环境造成潜在风险的报道(Schmidt et al., 2010)。Borràs 在利用真菌 Trametes versicolor 和 Irpex lacteus 生物修复多环芳烃污染土壤 的研究中发现,对于土壤中存在的高分子量多环芳烃,并未出现明显的真菌、细 菌协同降解作用(Borràs et al., 2010)。

综上所述,真菌与细菌联合培养是一种潜在的高分子量多环芳烃污染土壤生物修复技术,在进行土壤生物修复的过程中我们应该重点关注污染物的矿化率而不仅仅是降解率。那么,筛选具有降解真菌极性代谢产物的功能细菌菌群,明确 真菌与土著微生物之间的相互作用机制是将该技术实际应用到生物修复高分子 量多环芳烃污染场地的关键。

参考文献

Boonchan, S., Britz, M.L., Stanley, G.A., 2000. Degradation and mineralization of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by defined fungal-bacterial cocultures. Appl Environ Microb 66, 1007-1019.

Borràs, E., Caminal, G., Sarrà, M., Novotný, Č., 2010. Effect of soil bacteria on the ability of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) removal by Trametes versicolor and Irpex lacteus from contaminated soil. Soil Biology and Biochemistry 42, 2087-2093.

Harms, H., Schlosser, D., Wick, L.Y., 2011. Untapped potential: exploiting fungi in bioremediation of hazardous chemicals. Nature reviews. Microbiology 9, 177-192.

Johnsen, A.R., Wick, L.Y., Harms, H., 2005. Principles of microbial PAH-degradation in soil. Environmental pollution 133, 71-84.

Kohlmeier, S., Smits, T.H.M., Ford, R.M., Keel, C., Harms, H., Wick, L.Y., 2005. Taking the fungal highway: Mobilization of pollutant-degrading bacteria by fungi. Environmental science & technology 39, 4640-4646.

Kotterman, M.J.J., Vis, E.H., Field, J.A., 1998. Successive mineralization and detoxification of benzo[a]pyrene by the white rot fungus Bjerkandera sp. strain BOS55 and indigenous microflora. Appl Environ Microb 64, 2853-2858.

Morelli, I.S., Saparrat, M.C.N., Del Panno, M.T., Coppotelli, B.M., Arrambari, A., 2013. Bioremediation of PAH-Contaminated Soil by Fungi, Fungi as Bioremediators. Springer, pp. 159-179.

Peng, R.H., Xiong, A.S., Xue, Y., Fu, X.Y., Gao, F., Zhao, W., Tian, Y.S., Yao, Q.H., 2008.
Microbial biodegradation of polyaromatic hydrocarbons. Fems Microbiol Rev 32, 927-955.
Schmidt, S.N., Christensen, J.H., Johnsen, A.R., 2010. Fungal PAH-Metabolites Resist
Mineralization by Soil Microorganisms. Environmental science & technology 44, 1677-1682.



磁性纳米颗粒的主要特性

戴青

物质介于宏观结构与微观原子、分子结构之间的层次,即小尺寸效应,对材料的物理性质起着决定性的作用,可导致颗粒的磁性、光吸收、热阻、催化性、熔点等诸多性质产生巨大的变化(石士考,2001)。其中,磁性纳米颗粒的特殊性质主要体现为单磁畴结构和超顺磁性(superparamagnetic)(Lu et al., 2007)。

在强磁性材料中,由于材料内交换能、磁晶各向异性能、退磁场能等各种能量的综合作用,使得材料在微观上被分成许多磁矩规则排列(自发磁化)的小区域,这些小区域就被称为磁畴;磁畴的大小、形状以及其在铁磁体内的排列方式称为磁畴结构(许启明等,2010)。当磁性纳米颗粒尺度小于其临界体积时,构建磁畴壁(domain wall)所需的能量大于维持单个磁畴所需的静磁能,故而会形成单磁畴结构。单磁畴颗粒在磁化时,由于其没有磁畴壁,只能通过改变自旋方向产生感应磁场,因而具有高矫顽力(Iwaki et al., 2003)。

同时,由于尺寸小,大大降低了维持磁矩的磁各向异能,磁各向异性能与热能()之间的关系发生改变,热能大于磁各向异性能,颗粒的磁化方向可随意变化 (Lisa Tauxe et al., 2010)。这一过程达到临界状态时可以表达为:

$k_B \mathbf{T} = K_{eff} \mathbf{V} \tag{1}$

(1)中,为 Boltzmann 常数,T 为温度,为各向异性常数,V 为颗粒体积。由(1) 可看出,当V减小时,磁各向异能减小,热能相对大于磁各向异能,克服磁各 向异能垒,原始方向一致的磁矩随时间推移逐渐转化为随机排列。故当磁性纳米 颗粒的体积小于一定值可表现出超顺磁性。其弛豫时间(relaxating time)可表示为 表达式(Sorensen C. M., 2001):

$$\tau = \tau_0 e^{\frac{K_{eff}V}{k_BT}} \tag{2}$$

(2)中,为 Boltzmann 常数。由(2)可知,当颗粒体积 V 足够小,弛豫时间可达到 足够小尺度,颗粒可在给定磁场的情况下迅速沿外场方向排列,因而可认为无磁 滞(hysteresis)现象。

由于尺寸小,纳米颗粒的表面原子数与总原子数之比急剧增大。如面心立方

跬步集 2016年1月 第九期

晶格的钴直径大约为 1.6nm, 其表面自旋占到了总自旋数的 60%(Batlle and Labarta, 2002)。这种因表面原子数急剧增大引起的纳米颗粒表面能高、活性强等 诸多性质的变化, 被称为表面效应。表面效应引起了磁性纳米颗粒能带结构的变化, 利用磁性纳米颗粒的表面效应可对磁性纳米颗粒表面进行功能化修饰。

参考文献

石士考. 纳米材料的特性及其应用. 大学化学, 2001, 16(2), 39-42.

许启明, 张振彬, 杨永明. 磁畴观测方法现状与展望. 磁性材料及器件, 2010(4),1-4

Batlle, X., Labarta, A., 2002. Finite-size effects in fine particles: magnetic and transport properties.

J Phys D Appl Phys 35, R15-R42.

Iwaki, T., Kakihara, Y., Toda, T., Abdullah, M., Okuyama, K., 2003. Preparation of high coercivity magnetic FePt nanoparticles by liquid process. J Appl Phys 94, 6807-6811.

Lisa Tauxe, Robert F. Butler, Rob Van der Voo, Subir K. Banerjee., 2010. Essentials of Paleomagnetism, Chapter 4. University of California Press.

Lu, A.H., Salabas, E.L., Schuth, F., 2007. Magnetic nanoparticles: Synthesis, protection,

functionalization, and application. Angew Chem Int Edit 46, 1222-1244.

Sorensen, C.M., 2001. Magnetism in Nanoscale Materials in Chemistry (Ed.: K. J. Klabunde), Wiley-Interscience Publication, New York.



细菌的分类鉴定法

李继兵

本文对细菌经典鉴定法、化学分类法和分子分类鉴定法作了具体的介绍,从而为科研中细菌鉴定方法的选择应用提供参考依据。

目前,细菌的分类鉴定主要运用多相分类法。多相分类(Polyphasic taxonomy) 是 Colwell 于 1968 年提出的概念:它是指结合微生物多种不同信息,包括表型 特征、生理生化特性、分子生物学鉴定等,并根据所获得的数据进行聚类分析, 综合研究微生物分类和系统进化过程。多相分类方法能够更客观地反映出微生物 的系统进化关系,被认为是研究各级分类单位最有效的手段。

1 经典分类方法

经典分类是指通过表型特征来判定细菌分类的一种方法。细菌分类中最常用 的表型特征包括形态特征、培养特征、生理生化特征。细菌个体形态特征指标: 菌体形状,个体大小,运动性,鞭毛位置(侧生、周生、端生),芽孢形状(椭 圆形、柱形、球形),芽孢位置(中生到端生,端生到次端生),革兰氏染色(阳 性、阴性),严格好氧或兼性厌氧,营养(碳源利用等),代谢产物(MR 实验、 VP 实验等)。由于实验条件受到限制,传统细菌主要是根据表型特征来分类的。 表型特征虽然不能够说明物种间的亲缘关系,但它是人们认识和研究微生物和生 物进化关系的基础。表型特征是最常用且最经典的细菌分类指标,也是当前细菌 分类的重要依据。

2 化学分类

化学分类法主要是检测细菌的细胞壁化学成分,包括肽聚糖、脂多糖、氨基酸等成分分析,细胞色素组成分析,细胞膜上的类萜酯成分分析,细胞脂肪酸组成及代谢产物、磷酸类脂成分等来进行分类鉴定,常使用红外吸收光谱、色谱和质谱分析等技术(Collins et al., 1977; Tamaoka, 1986; Schleifer 1985; Minnikin et al., 1977)。

3 分子分类法

随着科学技术的发展,细菌的分类逐渐由传统分类转变为分子分类,如16S rRNA 序列测序、PCR 技术、DNA-DNA 杂交、G+C mol%等等。

聚合酶链式反应(PCR)是一种用于放大扩增特定的脱氧核糖核酸片段的分子生物学技术,PCR的最大特点是能够大幅度的扩增微量 DNA。在模板 dNTP、模板 DNA、Taq DNA 聚合酶和引物存在的条件下,经过高温变性、低温退火和中温延伸这 3 个阶段,然后重复这一循环(25~30 个循环)。PCR 反应扩增完成后需要进一步检测,最常用的检测方法是荧光素染色凝胶电泳。由于这种方法简捷易行,成为了检验 PCR 反应扩增是否成功的主要方法。目前,PCR 技术对于细菌的系统分类学研究有着十分重要的作用。如张玲等运用新兴的实时荧光定量PCR 技术来研究炭疽芽孢杆菌的系统分类,它不仅有快速、特异、敏感的特点,还能够对样品进行精确定量。

16S rRNA 鉴定是指利用细菌 16S rDNA 序列测序的方法对细菌进行鉴定,步骤一般包括细菌基因组 DNA 提取、PCR 扩增、PCR 产物纯化、DNA 测序、序列比对等步骤,是一种能够快速获得细菌种属信息的方法。由于细菌 16S rRNA 分子片段中既有高度保守的序列区域,又有中度保守和高度变化的序列区域,且 其变异不受环境等特征的影响,因此 16S rRNA 鉴定常被认为是细菌系统分类学中最常用最有效的一种强有力工具。因此,16S rRNA 序列测序及其分析在细菌的系统分类研究方面的应用具有着重要的意义。

DNA-DNA 杂交(Wilkens et al., 2003)是最近二十年以来迅速发展起来的研究技术,具有高灵敏性、广应用面等特点。DNA-DNA 杂交技术非常适用于种水平的分类研究,它不仅可以将菌株明确界定到种,为新种、或表型特征差异较小且难以区分的菌株提供可靠的判定依据,同时还能有效的修正其他分类方法在鉴定过程中错误的结果。根据 1987年的国际系统细菌学委员会(ICSB)规定,DNA 同源性不小于 60%为细菌种的界限,DNA 同源性大于 70%为同一亚种,同源性在 20~60%之间表示为同属的不同种。若两株菌的 16S rRNA 相似度大于 99%,且染色体 DNA 杂交配对率大于 70%,在基因水平上可以认定这两株菌为同一种细菌。因此,在细菌的系统分类研究中,DNA-DNA 杂交技术被认为是建立新种必要标准之一。常用方法有固相膜杂交法、液相复性速率、羟基磷灰石吸附法等。

G+C mol%分析是细菌分类鉴定的基本方法。它不仅对新菌种的命名和建立 新的分类单位等是一项必不可少的分类鉴定指标,也可用于验证已鉴定的微生物 系统分类关系是否正确。染色体 DNA 中含有 A、G、C、T 四种碱基,一般来说, 种内菌株间 G+C 含量差异不会超过 4%,属内菌株间相差不会超过 10%。芽孢 杆菌 G+C 含量变化大约在 33-65%。测定的方法有纸层析法、浮力密度法、热变 性温度(Tm) (Gonzalez et al., 2002)、高效液相色谱法等。

多相分类结合微生物多种不同信息,包括表型特征、生理生化特性、分子生物学鉴定等,并根据所获得的数据进行聚类分析,综合研究微生物分类和系统进化过程。目前,新种的系统分类大多都是采用多相分类法完成的。

参考文献:

张玲, 翟俊辉, 周冬生等. 荧光定量 PCR 快速检测炭疽芽孢杆菌的实验研究[J].中国人兽共患病杂志, 2005 21(11): 976-980.

Wilkens, L., Tchinda, J.D., Kreipe, H.H., 2003. Significant hybridization differences in comparative genomic hybridization due to nucleotides used for DNA labelling and to DNA chosen for cohybridization. Pathobiology 70, 204-208.

Gonzalez, J.M., Saiz-Jimenez, C., 2002. A fluorimetric method for the estimation of G+C mol % content in microorganisms by thermal denaturation temperature. Environ Microbiol 4, 770-773.

Collins, M.D., Pirouz, T., Goodfellow, M., Minnikin, D.E., 1977. Distribution of menaquinones in actinomycetes and corynebacteria. Journal of general microbiology 100, 221-230.

Minnikin, D.E., Patel, P.V., Alshamaony, L., Goodfellow, M., 1977. Polar lipid composition in the classification of Nocardia and related bacteria. Int J Syst Bacteriol 27, 104-117.

Schleifer, K.H., 1985. Analysis of the chemical composition and primary structure of murein. Methods Microbiol 18, 123–156.

Tamaoka, J., 1986. Analysis of bacterial menaquinone mixtures by reverse-phase high-performance liquid chromatography. Methods in enzymology 123, 251-256.

Predicting taxonomic and functional structure of microbial community

Yingtao Sun

Microbes are the most diversity organisms and play a critical role in soil environment(Fierer and Jackson, 2006). Understanding the interactions between the microbe and the environment is an essential goal in microbial ecology Larsen et al. (2012b). However, to obtain the microbial diversity data across enough samples, which can harbor thousands of taxa, at the spatiotemporal resolution are prohibitively expensive and could be a daunting task. The enormous advances in high-throughput DNA sequencing and bioinformatics tools have now made it tractable to build a more comprehensive understanding the interaction between the microbial biogeographic distributions and environment by combining environmental data and molecular analyses to generate a predictive model (Bokulich et al., 2014; Fierer and Ladau, 2012; King et al., 2010; Ladau et al., 2013; Larsen et al., 2012a; Szabo et al., 2013). Researchers have established the model to predict the relative abundance of the microbe that response to environmental changes and biogeochemical cycling, with only limited characterization of the environment (Fierer et al., 2013; Florin et al., 2011; Ladau et al., 2013; Larsen et al., 2012a; Toseland et al., 2013). The mainly community distribution models are the Microbial Assemblage Prediction (MAP) (Larsen et al., 2012b) and Predicted Relative Metabolic Turnover (PRMT)(Fierer and Ladau, 2012). Here, by summarizing the basic concepts and recent developments of the predictive model, we hope that these predictive models could be used to help direct efficient sampling and predict microbial mediated biogeochemical processes.

1. Predictive model

1.1 Microbial Assemblage Prediction (MAP)

Microbial Assemblage Prediction (MAP) generates the artificial neural network (ANN) that represents microbial community structure in terms of mathematical

跬步集 2016年1月 第九期

equations that best explain the data, and uses it to predict the relative abundance of microbe in spatiotemporal scale(Larsen et al., 2012a). The model is based on two key hypotheses: that microbe community patterns could be described as networks of interactions with environmental conditions (Barberan et al., 2012; Gilbert et al., 2012; Steele et al., 2011), and that the ecosystem maintains a persistent microbial community (Caporaso et al., 2012).

To build the model, it is necessary to have microbial community data from a large number of sites or from many time points at a single site. Second, it is necessary to have solid data on environmental characteristics that may impact the communities. However, most current methods cannot incorporate biotic interactions into predictive models (Guisan and Thuiller, 2005), and very few studies have included these interactions(Elith and Leathwick, 2009). Therefore, a bioclimatic modeling approach may leverage artificial neural networks to predict microbial community structure as a function of environmental parameters and microbial interactions.

1.2 Microbial Relative Metabolic Potential (PRMT)

Going beyond predictions of the membership of microbial communities, to predict their functions, has been an elusive goal. However, physical, chemical and biological data collected provide a unique opportunity to generate and validate microbial community distribution models(Fierer and Ladau, 2012) that can predict microbial relative metabolic potential (PRMT).

PRMT, validated against observations in marine ecosystem(Fierer and Ladau, 2012), is a translation tool that uses the changing relative abundance of functional genes in metagenomic data, or functional transcripts in metatranscriptomic data, between samples to predict the changing capacity of that community to consume or generate metabolites, for example, CO2, NO3, NH4, CH4 and so on (Larsen et al., 2011; Mason et al., 2014; Scott et al., 2014). Community structure is used to predict the community metagenome (as the relative abundance of unique enzyme activities, using a technique similar to PiCRUST(Langille et al., 2013), which is translated, using PRMT, into the relative capacity of the community to consume or generate

different metabolites.

Larsen et al. (2015) firstly combined MAP and PRMT approaches to generate a system-scale model of marine microbial metabolism over broad spatial and temporal scales in the Western English Chanel, and found that the predictive models were highly correlated with their observations. Though the PRMT scores and the correlation should in no way be used to infer true metabolic dynamics, the PRMT scores of all metabolites can be used to explore interesting extrapolated dynamics across a region and through time. With recent efforts in microbial niche modeling showing promise in extrapolating microbial community structure across the global ocean (Ladau et al., 2013) and continental soils (Fierer et al., 2013), it is possible that such models could also help to extrapolate metabolic potential across similar scales. However, PRMT is limited to genes that can be annotated to known enzyme activities, and the attribution of these functions to known taxa is limited to the level of bacterial Order(Larsen et al., 2015).

Reference

Barberan, A., Bates, S.T., Casamayor, E.O., Fierer, N., 2012. Using network analysis to explore co-occurrence patterns in soil microbial communities. Isme Journal 6, 343-351.

Bokulich, N.A., Thorngate, J.H., Richardson, P.M., Mills, D.A., 2014. Microbial biogeography of wine grapes is conditioned by cultivar, vintage, and climate. P Natl Acad Sci USA 111, E139-E148.

Caporaso, J.G., Paszkiewicz, K., Field, D., Knight, R., Gilbert, J.A., 2012. The Western English Channel contains a persistent microbial seed bank. Isme Journal 6, 1089-1093.

Elith, J., Leathwick, J.R., 2009. Species Distribution Models: Ecological Explanation and Prediction Across Space and Time. Annual Review of Ecology Evolution and Systematics 40, 677-697.

Fierer, N., Jackson, R.B., 2006. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. P Natl Acad Sci USA 103, 626-631.

Fierer, N., Ladau, J., 2012. Predicting microbial distributions in space and time. Nat Methods 9, 549-551.

Fierer, N., Ladau, J., Clemente, J.C., Leff, J.W., Owens, S.M., Pollard, K.S., Knight, R.,

Gilbert, J.A., McCulley, R.L., 2013. Reconstructing the Microbial Diversity and Function of

Pre-Agricultural Tallgrass Prairie Soils in the United States. Science 342, 621-624.

Florin, S.T., Felicetti, L.A., Robbins, C.T., 2011. The biological basis for understanding and predicting dietary-induced variation in nitrogen and sulphur isotope ratio discrimination. Funct Ecol 25, 519-526.

Gilbert, J.A., Steele, J.A., Caporaso, J.G., Steinbrueck, L., Reeder, J., Temperton, B., Huse, S., McHardy, A.C., Knight, R., Joint, I., Somerfield, P., Fuhrman, J.A., Field, D., 2012. Defining seasonal marine microbial community dynamics. Isme Journal 6, 298-308.

Guisan, A., Thuiller, W., 2005. Predicting species distribution: offering more than simple habitat models. Ecol Lett 8, 993-1009.

King, A.J., Freeman, K.R., McCormick, K.F., Lynch, R.C., Lozupone, C., Knight, R.,

Schmidt, S.K., 2010. Biogeography and habitat modelling of high-alpine bacteria. Nat Commun 1. Ladau, J., Sharpton, T.J., Finucane, M.M., Jospin, G., Kembel, S.W., O'Dwyer, J., Koeppel,

A.F., Green, J.L., Pollard, K.S., 2013. Global marine bacterial diversity peaks at high latitudes in winter. Isme Journal 7, 1669-1677.

Langille, M.G.I., Zaneveld, J., Caporaso, J.G., McDonald, D., Knights, D., Reyes, J.A., Clemente, J.C., Burkepile, D.E., Thurber, R.L.V., Knight, R., Beiko, R.G., Huttenhower, C., 2013. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences. Nat Biotechnol 31, 814-+.

Larsen, P., Hamada, Y., Gilbert, J., 2012a. Modeling microbial communities: Current, developing, and future technologies for predicting microbial community interaction. J Biotechnol 160, 17-24.

Larsen, P.E., Collart, F., Meyer, F., Gilbert, J.A., 2011. PREDICTED RELATIVE METABOLOMIC TURNOVER Predicting Changes in the Environmental Metabolome from the Metagenome. Bioinformatics 2011, 337-345.

Larsen, P.E., Field, D., Gilbert, J.A., 2012b. Predicting bacterial community assemblages using an artificial neural network approach. Nat Methods 9, 621-+.

Larsen, P.E., Scott, N., Post, A.F., Field, D., Knight, R., Hamada, Y., Gilbert, J.A., 2015. Satellite remote sensing data can be used to model marine microbial metabolite turnover. Isme Journal 9, 166-179.

Mason, O.U., Scott, N.M., Gonzalez, A., Robbins-Pianka, A., Baelum, J., Kimbrel, J.,

Bouskill, N.J., Prestat, E., Borglin, S., Joyner, D.C., Fortney, J.L., Jurelevicius, D., Stringfellow,

W.T., Alvarez-Cohen, L., Hazen, T.C., Knight, R., Gilbert, J.A., Jansson, J.K., 2014.

Metagenomics reveals sediment microbial community response to Deepwater Horizon oil spill. Isme Journal 8, 1464-1475.

Scott, N.M., Hess, M., Bouskill, N.J., Mason, O.U., Jansson, J.K., Gilbert, J.A., 2014. The microbial nitrogen cycling potential is impacted by polyaromatic hydrocarbon pollution of marine sediments. Front Microbiol 5.

Steele, J.A., Countway, P.D., Xia, L., Vigil, P.D., Beman, J.M., Kim, D.Y., Chow, C.E.T., Sachdeva, R., Jones, A.C., Schwalbach, M.S., Rose, J.M., Hewson, I., Patel, A., Sun, F.Z., Caron, D.A., Fuhrman, J.A., 2011. Marine bacterial, archaeal and protistan association networks reveal ecological linkages. Isme Journal 5, 1414-1425.

Szabo, G., Preheim, S.P., Kauffman, K.M., David, L.A., Shapiro, J., Alm, E.J., Polz, M.F., 2013. Reproducibility of Vibrionaceae population structure in coastal bacterioplankton. Isme Journal 7, 509-519.

Toseland, A., Daines, S.J., Clark, J.R., Kirkham, A., Strauss, J., Uhlig, C., Lenton, T.M., Valentin, K., Pearson, G.A., Moulton, V., Mock, T., 2013. The impact of temperature on marine phytoplankton resource allocation and metabolism. Nat Clim Change 3, 979-984.



KIEs 的测量计算

耿晓飞

一、定义 KIE = k₁₂/k₁₃

k₁₂: 分子中仅含有 ¹²C 的反应速率常数;
k₁₃: 分子中含有一个 ¹³C 的反应速率常数。
由于同位素效应太小,因此通常采用以下形式:
ε=[(k₁₂- k₁₃)/k₁₃]*1000‰ =(KIE-1)*1000‰

二、目前, KIEs 测量计算的主要研究对象是轻质的非甲烷烃与羟基自由基的反应。1984年, Tully 等人利用激光光解/激光诱导荧光技术测定了同位素标记的轻质非甲烷烃与•OH 的绝对反应速率常数。1985年, 他们通过这些数据修正了Arrhenius 公式并用于计算 KIEs。

当[•OH]<< [hydrocarbon], 羟基自由基与非甲烷烃反应符合拟一级动力学,即:

$[\bullet OH]_t = [\bullet OH]_0 * exp(-(k_{HC}[HC]+k_d)t) = [\bullet OH]_0 * exp(-k`t)$

k': 观测到的拟一级动力学反应速率常数(等于最小二乘法指数衰减常数); k_{HC}: •OH 与烃的双分子反应速率常数;

[HC]: 烃的浓度;

kd: •OH 减少的速率常数(由于反应物的减少或•OH 与背景中杂质的反应)。 以 k`和[HC]的数据做图,便可根据其斜率计算得到 kHC。分别以 kHC 和 1000/T 为 纵坐标和横坐标进行做图,并对数据进行非线性最小二乘法进行拟合,发现 kHC 可以用修正的 Arrhenius 公式进行表达,即¹⁻⁴:

1.乙烷与•OH 的反应

$$OH + C_2 H_6 \xrightarrow{k_1} H_2 O + C_2 H_5$$
(1)

$$OH + H_3CCD_3 \xrightarrow{k_2} \begin{cases} H_2O + H_2CCD_3 \\ HDO + H_3CCD_2 \end{cases}$$
(2)

$$OH + C_2 D_6 \xrightarrow{k_3} HDO + C_2 D_5$$
(3)

 $k_1(T) = (8.51 \times 10^{-18})T^{2.06} \exp(-855 \text{ cal mol}^{-1}/RT)$ $k_2(T) = (7.65 \times 10^{-19})T^{2.38} \exp(-817 \text{ cal mol}^{-1}/RT)$ $k_3(T) = (2.43 \times 10^{-19})T^{2.56} \exp(-1317 \text{ cal mol}^{-1}/RT)$ 若以 k_1/k_3 和 1000/T 做图,并对数据进行最小二乘法拟合,则: KIEs=k_H/k_D= k_1/k_3=exp△E_0/RT, 其中△E_0= (E_0^1-E_0^3) _{Ext} (E_0^1-E_0^3) _{XXXX}

Eo: 反应1和反应3中反应物和过渡态结构的零点震动能量。 2.丙烷与•OH的反应

$$\begin{array}{l} OH + CH_{3}CH_{2}CH_{3} \xrightarrow{A_{1}} \begin{cases} H_{2}O + CH_{2}CH_{2}CH_{3} \\ H_{2}O + CH_{3}CHCH_{3} \end{cases} \tag{1}$$

$$OH + CH_{3}CD_{2}CH_{3} \xrightarrow{A_{2}} \begin{cases} H_{2}O + CH_{2}CD_{2}CH_{3} \\ HDO + CH_{3}CDCH_{3} \end{cases} \tag{2}$$

$$OH + CH_{3}CH_{2}CD_{3} \xrightarrow{A_{3}} \begin{cases} H_{2}O + CH_{2}CH_{2}CD_{3} \\ HDO + CH_{3}CHCD_{3} \\ HDO + CH_{3}CH_{2}CD_{3} \end{cases} \tag{3}$$

$$OH + CH_{3}CD_{2}CD_{3} \xrightarrow{A_{4}} \begin{cases} H_{2}O + CH_{2}CD_{2}CD_{3} \\ HDO + CH_{3}CH_{2}CD_{2} \\ HDO + CH_{3}CD_{2}CD_{3} \\ HDO + CH_{3}CD_{2}CD_{2} \\ HDO + CH_{3}CD_{2}CD_{3} \end{cases} \tag{4}$$

$$OH + CD_{3}CH_{2}CD_{3} \xrightarrow{A_{5}} \begin{cases} HDO + CD_{2}CH_{2}CD_{3} \\ H_{2}O + CD_{3}CHCD_{3} \\ H_{2}O + CD_{3}CHCD_{3} \\ H_{2}O + CD_{3}CHCD_{3} \\ HDO + CD_{3}CHCD_{3} \\ HDO + CD_{3}CDCD_{3} \end{cases} \tag{5}$$

$$k_1(T) = 1.04 \times 10^{-16} T^{1.72} \exp(-288 \text{ cal mol}^{-1}/RT)$$

$$k_2(T) = 2.02 \times 10^{-16} T^{1.63} \exp(-762 \text{ cal mol}^{-1}/RT)$$

$$k_3(T) = 2.26 \times 10^{-17} T^{1.90} \exp(-79 \text{ cal mol}^{-1}/RT)$$

$$k_4(T) = 2.59 \times 10^{-17} T^{1.91} \exp(-602 \text{ cal mol}^{-1}/RT)$$

$$k_5(T) = 1.03 \times 10^{-17} T^{2.00} \exp(-46 \text{ cal mol}^{-1}/RT)$$

$$k_6(T) = 2.36 \times 10^{-19} T^{2.53} \exp(-29 \text{ cal mol}^{-1}/RT)$$

3.正丁烷与•OH 的反应

$$OH + H_3C(CH_2)_2CH_3 \xrightarrow{k_1} \begin{cases} H_2O + H_2C(CH_2)_2CH_3\\ H_2O + H_3CCHCH_2CH_3 \end{cases}$$
(1)

$$OH + D_{3}C(CD_{2})_{2}CD_{3} \xrightarrow{k_{2}} \begin{cases} HDO + D_{2}C(CD_{2})_{2}CD_{3} \\ HDO + D_{3}CCDCD_{2}CD_{3} \end{cases}$$
(2)
$$2k_{H}^{S}(T) = (1.20 \times 10^{-16})T^{1.64} \exp(+247 \text{ cal mol}^{-1}/RT)$$

 $2k_{\rm D}{}^{\rm S}(T) = (1.49 \times 10^{-18})T^{2.24} \exp(+300 \text{ cal mol}^{-1}/RT)$ $2k_{\rm H}{}^{\rm P}(T) = (6.86 \times 10^{-17})T^{1.73} \exp(-753 \text{ cal mol}^{-1}/RT)$ $2k_{\rm D}{}^{\rm P}(T) = (6.78 \times 10^{-17})T^{1.73} \exp(-1659 \text{ cal mol}^{-1}/RT)$ 4.KL

$$OH + c - C_5 H_{10} \xrightarrow{k_1} H_2 O + c - C_5 H_9$$
(1)

$$OH + c - C_5 D_{10} \xrightarrow{\kappa_2} HDO + c - C_5 D_9$$
(2)

$$OH + c - C_6 H_{12} \xrightarrow{k_3} H_2 O + c - C_6 H_{11}$$
(3)

$$OH + c - C_6 D_{12} \xrightarrow{k_4} HDO + c - C_6 D_{11}$$
(4)

 $k_1(T)=6.04 \times 10^{-16}T^{1.52}exp(+220cal mol^{-1}/RT)cm^3 molecule^{-1} s^{-1}$ $k_2(T)=4.50 \times 10^{-15}T^{1.21}exp(-511cal mol^{-1}/RT)cm^3 molecule^{-1} s^{-1}$ $k_3(T)=1.09 \times 10^{-15}T^{1.47}exp(+249cal mol^{-1}/RT)cm^3 molecule^{-1} s^{-1}$ $k_4(T)=3.48 \times 10^{-16}T^{1.62}exp(-112cal mol^{-1}/RT)cm^3 molecule^{-1} s^{-1}$

跬步集 2016年1月 第九期

这种方法的缺点是(1)计算反应速率常数所产生的不确定性会影响到 KIEs 的计算;(2)该数据来自人工模拟反应,温度、压力、反应物的纯度和羟基自 由基的浓度范围都受到控制,不能反映自然条件下这些反应过程所产生的同位素 分馏;(3)通过测量绝对反应速率常数来计算 KIEs 仅仅适用于同位素效应明显 的反应,即反应速率常数有明显差异。

三、对于同位素效应较弱的情况,可以通过直接测量相对反应速率来解决这个问题。

利用离子源同位素质谱仪可以得到 3 组数据: 质量 44(¹²C¹⁶O₂), 45 (¹³C¹⁶O₂) 和 ¹²C¹⁷O¹⁶O)和 46 (¹²C¹⁸O¹⁶O),通过修正 ¹⁷O⁵,便可得到 ¹³C/¹²C = (质量 45) / (质量 46), ¹²C 可由数据质量 44 获得,此外,反应速率常数与 ¹³C/¹²C 及 ¹²C 的关系可由下式表示 6:

$$\ln({}^{12}C_{t}/{}^{12}C_{0}) = \frac{k_{12}/k_{13}}{1 - (k_{12}/k_{13})} \ln\left[\frac{{}^{13}C_{t}/{}^{12}C_{t}}{{}^{13}C_{0}/{}^{12}C_{0}}\right]$$

以 ln (¹²C_t/¹²C₀) 和 ln[(¹³C_t/¹²C_t)/(¹³C₀/¹²C₀)]做图,则 KIEs 可由斜率计算得到。

但是 Rebecca S. Anderson 研究团队发现通过相对反应速率分析可以证实与 羟基自由基反应是非甲烷烃损失的主要途径,但是乙烯的损失速率是预期的 2 倍,这可能是由于在反应过程中产生了 O₃,而 O₃可与乙烯反应。因此,若要得 到非甲烷烃与羟基自由基反应的 KIE 值,就需要对 O₃进行校正。

2000年, Rudolph 等人提出了稳定碳同位素比率与平均光化学寿命之间的依存关系,被称为碳氢化合物的稳定同位素钟差方程⁷:

 $\delta^{13}\mathbf{C} = t_{av} \cdot [\mathbf{OH}]_{av} \cdot {}^{\mathbf{OH}}k \cdot {}^{\mathbf{OH}}\varepsilon^{13\mathbf{C}} + {}^{0}\delta^{13}\mathbf{C}$ 则,对于乙烯 z,可表达为:

$$\delta_z - {}^{0}\delta_z = t({}^{\mathrm{OH}}k_z[\mathrm{OH}]{}^{\mathrm{OH}}\epsilon_z + {}^{\mathrm{O}_3}k_z[\mathrm{O}_3]{}^{\mathrm{O}_3}\epsilon_z)_{\mathrm{s}}$$

δz 和 ⁰δz:分别表示时间 t 和 t=0 时乙烯 z 的稳定碳同位素比值; [OH]和[O₃]:分别表示 t=0 到 t 段时间内·OH 和 O₃ 的平均浓度。 由于环己烷主要与·OH 反应,与 O₃ 的反应可忽略不计,因此,可用环己烷 来校正乙烯与 O₃ 的反应⁸:

$$\frac{\ln(_{\text{ethene}} C_n /_{\text{ethene}} C_m)}{\ln(_{\text{cyclohexane}} C_n /_{\text{cyclohexane}} C_m)} = \frac{{}^{\text{OH}} k_{\text{ethene}} [\text{OH}] + {}^{\text{O}_3} k_{\text{ethene}} [\text{O}_3]}{{}^{\text{OH}} k_{\text{cyclohexane}} [\text{OH}]}$$

四、遗憾的是上述方法不能区分不同类型的碳原子与·OH 反应的同位素分 馏, Rebecca S. Anderson 等人提出⁸链烷烃与·OH 的反应速率常数可利用在伯碳、 仲碳和叔碳等特定位置上进行 H 摘取反应的位点特异性速率常数及个体取代因 素 F(X)=1.00, F(Y)=F(Z)=1.23 来表达,其中 X=-CH3, Y=-CH2-, Z=>CH-。例 如,正丁烷的速率常数可表达如下:

 $k = k_1 \cdot F(\mathbf{Y}) + k_2 \cdot F(\mathbf{X}) F(\mathbf{Y}) + k_2 \cdot F(\mathbf{X}) F(\mathbf{Y}) + k_1 \cdot F(\mathbf{Y})$

k1°和 k2°:分别表示在-CH3 和-CH2-集团上发生反应的速率常数。则对于分子仅含有 ¹²C 的直链烷烃,其与·OH 的反应速率常数可表达如下:

$$\begin{split} N_{\rm C} &= 2 & k_{12} = 2k_{1^{\circ}12} \\ N_{\rm C} &= 3 & k_{12} = 2Fk_{1^{\circ}12} + k_{2^{\circ}12} \\ N_{\rm C} &\geq 4 & k_{12} = 2Fk_{1^{\circ}12} + [2F + (N_{\rm C} - 4)F^2]k_{2^{\circ}12} \\ \text{对于分子中}^{13}{\rm C} 随机分布的直链烷烃, 其与 · OH 的反应速率常数可表达如下: \\ N_{\rm C} &= 2 & k_{13} = k_{1^{\circ}12} + k_{1^{\circ}13} \\ N_{\rm C} &= 3 & k_{13} = (2/3)(Fk_{1^{\circ}13} + Fk_{1^{\circ}12} + k_{2^{\circ}12}) + \end{split}$$

$$\frac{(1/3)(k_{2^{\circ}13} + 2Fk_{1^{\circ}12})}{(1/3)(k_{2^{\circ}13} + 2Fk_{1^{\circ}12})}$$

$$\begin{split} N_{\rm C} &\geq 4 \qquad k_{13} = 2N_{\rm C}^{-1} \{Fk_{1^{\circ}13} + Fk_{1^{\circ}12} + \\ & [2F + (N_{\rm C} - 4)F^2]k_{2^{\circ}12}\} + 2N_{\rm C}^{-1} \{Fk_{2^{\circ}13} + \\ & [F + (N_{\rm C} - 4)F^2]k_{2^{\circ}12} + 2Fk_{1^{\circ}12}\} + \\ & (N_{\rm C} - 4)N_{\rm C}^{-1} \{F^2k_{2^{\circ}13} + [2F + (N_{\rm C} - 5)F^2]k_{2^{\circ}12} + 2Fk_{1^{\circ}12}\} \end{split}$$

k1°13、k2°13 和 k3°13: 分别表示 13C 标记的发生在伯碳、仲碳和叔碳上的位点

特异性速率常数。

结合 k12余 k13 可得到如下关系:

 $\Delta_{1^{\circ}13} = k_{1^{\circ}13} - k_{1^{\circ}12}$ $\Delta_{2^{\circ}13} = k_{2^{\circ}13} - k_{2^{\circ}12}$ $\Delta_{3^{\circ}13} = k_{3^{\circ}13} - k_{3^{\circ}12}$

显然,目前还没有有关¹³C 位点特异性反应速率常数的报道,但是由公式 ε=[(k₁₂-k₁₃)/k₁₃]*1000‰=(KIE-1)*1000‰可得到如下关系:

$k_{13} - k_{12} = - k_{12} \epsilon / (1000 + \epsilon) = \Delta_{1^{\circ}13}$

由此,我们便可以得到不同类型的碳原子与·OH 反应的同位素分馏。

参考文献:

Tully, F. P.; Droege, A. T.; Koszykowski, M. L.; Melius, C. F., Hydrogen-Atom Abstraction from Alkanes by OH. 2. Ethane. *Phys. Chem.* 1985, *90*, 691-698.

Droeget, A. T.; Tully, F. P., Hydrogen-Atom Abstraction from Alkanes by OH. 3. Propane. *Phys. Chem.* 1986, *90*, 1949-1954.

Droeget, A. T.; Tully, F. P., Hydrogen-Atom Abstraction from Alkanes by OH. 5. n-Butane. *Phys. Chem.* 1986, *90*, 5937-5941.

Droege, A. T.; Tully, F. P., Hydrogen-Atom Abstraction from Alkanes by OH. 6. Cyclopentane and Cyclohexane. *Phys. Chem.* 1987, *91*, 1222-1225.

Santrock, J.; Studley, S. A.; Hayes, J. M., ISOTOPIC ANALYSES BASED ON THE

MASS-SPECTRUM OF CARBON-DIOXIDE. Analytical Chemistry 1985, 57, (7), 1444-1448.

Anderson, R. S.; Czuba, E.; Ernst, D.; Huang, L.; Thompson, A. E.; Rudolph, J., Method for

measuring carbon kinetic isotope effects of gas-phase reactions of light hydrocarbons with the hydroxyl radical. *Journal of Physical Chemistry A* 2003, *107*, (32), 6191-6199.

Rudolph, J.; Czuba, E.; Huang, L., The stable carbon isotope fractionation for reactions of selected

hydrocarbons with OH-radicals and its relevance for atmospheric chemistry. Journal of

Geophysical Research-Atmospheres 2000, 105, (D24), 29329-29346.

Anderson, R. S.; Huang, L.; Iannone, R.; Thompson, A. E.; Rudolph, J., Carbon kinetic isotope effects in the gas phase reactions of light alkanes and ethene with the OH radical at 296 +/- 4 K. *Journal of Physical Chemistry A* 2004, *108*, (52), 11537-11544.

