

2019.12

跬步集

不积跬步，
无以至千里。
-荀子



2019.12

跬步集

不积跬步，
无以至千里。
-荀子



辞旧岁，迎新年



寒来暑往，转眼又是一年。

按中国人的说法，大年三十儿就是要大家聚在一起吃团圆饭的时候了，而要是按洋人的讲究，每年的头一天就是理所当然的新年了，也就是我们说的元旦。往常的印象里元旦和春节往往要差上月余，今年二者竟都凑到了一个月中，一个月初一个月尾。而从国家统一规定的假期长度来看，显然春节更受人们的重视和青睐了。

作为一个土生土长的北方人，曾经在过年方面我一向是有些“自负”的，常想当然的认为

家里的“年味儿”要比南方来的更足些，更醇厚些。一方面，总感觉南方少了几分寒冬的萧瑟和凛冽，体味不到譬如“瑞雪兆丰年”的期待和喜悦，另一方面，南方过年的习俗较为简单，甚至有时连北方看来最为重要的饺子也不吃上一顿，实在令人颇为“侧目”。

而长大以后来南方求学，当我真正身处于年前腊月里温暖的广州之时，望着熙熙攘攘的一德路市场和流光溢彩的越秀花市，我才明白原来年味儿这东西早就深深植根于每个中国人的骨血里，只是“闻上去”有些不同罢了。

大家对来年美好的愿景和向往都是相通的，这年味儿也就根本谈不上什么浓淡之别了。

了。除开各地因饮食习惯和风物气候造成习俗上的细微不同，大家对来年美好的愿景和向往都是相通的，这年味儿也就根本谈不上什么浓淡之别了。

凡是见过两年之前的我的，应该从体型便能看出，我当了20多年不折不扣的吃货，而对于过年来讲自然也毫无例外。除了惯常的放烟花、压岁钱等等，最深的记忆都和这口腹之欲密切相关。记忆中最深刻，只有在过年才能吃到的美食有两样儿——肉糕和炸丸子。

肉糕是由炖完年猪肉后留下的荤汤所制，经过大人的巧手调制，再加上寒冷的天气帮忙，待其凝固后便宣告完成。形状上有点类似老豆腐和肉皮冻，吃之前需将其盛于碗中入锅蒸上片刻，蘸上酱油醋汁切片食之，味道咸香扑鼻，或夹馒头食之，大口咀嚼，满嘴流油，煞是满足。

至于炸丸子，以新鲜的五花肉为上品，贵的里脊之流因为没有油水，反倒不适合这普罗大众的美食了。在馅料粒度和调味的掌握上，好比老北京的炸酱面，家家都有秘而不宣的诀窍，人人都说自己家的丸子才是最美味的。于我家而言，记得大人会剁碎一些馒头进去，混合肉馅后不仅增加粘度，还能改善口感。彼时最快乐的事儿莫过于一听到说要炸丸子了便早早守到油锅边上，看着锅里一个个肉球翻滚腾挪，直至金黄饱满。大人一遍呵斥着莫离太近以免危险，一边颇为无奈的用筷子夹起一个刚出锅的丸子喂入我口中。虽然烫的呼哈呼哈，却仍忙不迭的一边用力咀嚼，一边大笑着跑去放炮仗了。

“你回家了，我在等你呢。”

年关将至，是期盼归家的日子，亦是总结得失的时候。恰巧，本期的三位美女的稿子都可归为review一类，也算是另一种对各自研究领域的总结了。方才打开电脑里跬步集的文件夹才忽而发觉，这已是我主编的第八本跬步集，也是撰写的第八篇专栏了。前些天闲逛知乎时看到一个很有趣的提问：2019年最令你震惊的数据是什么？回答也可谓是神回复：再过十天，20后即将出生。20后看90后，就像90后看60后一样。

90后看60后，那不就是我们看自己的爸妈吗？

时间过得可真快啊。

可是我想，不管是谁看谁，怎么看，总有些东西是不变的，比如年味儿，比如家的温暖，比如对未来的期待。

比如可能关于过年，最美的永远是宋胖子《安河桥》里那一句：

“你回家了，我在等你呢。”

主编伯龙

对大气颗粒物氧化潜势的认识

孙悦



1.引言

大气颗粒物暴露引起负健康效应的潜在机理尚未被完全阐明，但目前普遍认为，由活性氧物种过度积累而引起的机体氧化应激效应是颗粒物导致机体损伤最重要的机理之一。颗粒物中部分有机物可以被活化为亲电活性代谢产物，进而增加或者产生细胞内活性氧自由基(Reactive oxygen species, ROS)，

且颗粒物中的过渡金属如铁、铜、钒和锰可通过Fenton反应诱导产生活性氧自由基。由于机体本身存在一个平衡，但是当机体受到外界刺激后，生成过量的活性氧自由基，机体本身的氧化与抗氧化的平衡被打乱（例如活性氧自由基的浓度超过还原性细胞抗氧化剂，如谷胱甘肽），进而产生更多的氧化应激和负健康效应。活性氧自由基可以通过氧化、蛋白质氧化修饰和DNA变异等损害细

胞。

自由基对正常生命活动的许多重要反应必不可少，它参与生物活性物质的合成，解毒反应、吞噬细胞杀灭细菌的过程等。

自由基 (Free radical) 是具有不配对电子的原子、原子团、分子或离子。自由基对正常生命活动的许多重要反应必不可少，它参与生物活性物质的合成，解毒反应、吞噬细胞杀灭细菌的过程等。但是，过量的自由基也可引起广泛的损伤反应，与炎症、肿瘤、免疫性疾病及衰老有密切关系。1968年，在Fridovich指导下发现了需氧生物体内的超氧化物歧化酶以后，自由基生物学的发展进入到一个新的阶段，即把注意力转移到氧化过程中产生的超氧阴离子自由基、过氧化氢和羟基自由基，以及由此而衍生的有机过氧化物自由基和氢过氧化物等，它们被统称为活性氧自由基，其中，羟基自由基的氧化能力最强，毒性最大。氧所形成的自由基，无论在正常或病理变化中均极为重要。地球大气层中的氧本身就是自由基，又是细胞中自由基反应的主要促进者。氧略高出正常浓度就使需氧生物中毒。氧的毒性是由于氧分子还原成水时产生的许多中间产物，其中有些产物不是自由基而是分子，因此统称为活性氧，它包括超氧阴离子 (Superoxide anion)、羟基自由基 (Hydroxyl radical)、过氧化氢分子 (Hydrogenperoxide)、氢过氧基 (Hydroperoxyl radical)、烷氧基 (Alkoxy radical)、烷过氧基 (Peroxy radical)、氢过氧化物 (Hydroperoxide)、单线态氧 (Singlet oxygen)。

2.氧化潜势的研究进展

目前大气颗粒物的氧化潜势研究主要集中在氧化潜势的时空变化特征、氧化组分和化学组分的广西，颗粒物粒径对氧化潜势的影响、影响氧化潜势的排放源、不同测试方法得到的氧化潜

2002年，Kumagai等人首次采用DTT法测定了颗粒物ROS的生成，此后因其易操作、实验设备低廉等优点在国内外被广泛用于测定大气颗粒物的氧化潜势。

势之间的关系等方面。2002年，Kumagai等人首次采用DTT法测定了颗粒物ROS的生成，此后因其易操作、实验设备低廉等优点在国内外被广泛用于测定大气颗粒物的氧化潜势。为了更好地理解大气颗粒物的健康效应和颗粒物的氧化潜势，美国东南部空气污染和流行病学研究中心与2012-2013年在美国东南部（三个城市点，一个农村点，一个亚特兰大的固定点和不同点之间的移动采样）收集了483个PM_{2.5}样品，并且开发了DTT半自动分析系统以便进行大量样品分析，结果表明美国东南部水溶性PM_{2.5}的OPDTT与PM_{2.5}质量浓度呈现相关关系，并且相关系数和斜率随采样点和采样季节的变化而变化。夏季PM_{2.5}中WSOC及冬季生物质燃烧标志物种与OPDTT具有强的相关关系；城市和道路交通点OPDTT与一些氧化还原性金属也具有相关关系。如Cho等人对洛杉矶盆地不同站点三种粒径颗粒物的氧化潜势开展研究；Verma、Charrier等人发现美国东南部和夫勒斯诺市的颗粒物氧化潜势存在季节差异。近年国内也开始关注大气颗粒物氧化潜势，Dou和Lin等人分别测量了广州市、珠江三角区地区大气PM_{2.5}中HULIS的ROS生成；Wang等人研究了杭州2017年四个季节PM_{2.5}水溶性氧化潜势，结果显示年平均OPDTTv为0.62nmol/min/m⁻³，并且四个季节的OPDTTv消耗速率差别不大；二次无机离子与OPDTTv相关性良好，并且相关性具有明显的日变化特征，白天呈现强的或中等相关性，但是夜晚相关性较弱，表明了二次生成对OPDTTv的贡献；年平均OPDTTv比较低，并且具有明显的季节变化特征：秋季 > 冬季 > 春季 > 夏季，OPDTTv与PM_{2.5}的相关性大于OPDTTm的相关性，表明了氧化潜势主要受化学组分的影响。Liu等人发现渤海沿海区域3个代表城市PM_{2.5}氧化潜势的季节变化远大于PM_{2.5}的浓度变化，表明了化学组分对OPDTT有明显影响，OPDTT与

WSOC和一些水溶性金属具有较强的相关关系；不同的季节排放源对OPDTTV的贡献不同，当地供暖期煤燃烧对OPDTT的贡献较大，而夏季则是二次生成贡献较高。综上所述，DTT法测定颗粒物氧化潜势存在很大的地区差异，各个站点过渡金属对颗粒物氧化潜势贡献大小不一；大气颗粒物氧化潜势与OC、EC、PM_{2.5}质量浓度等组分存在相关关系；不同粒径颗粒物的氧化潜势存在差异。

3.引起氧化应激的因素

第一，颗粒物粒径 (Particle size) 的大小。颗粒物直径越小，其比表面积越大，可能具有越大的毒性和生物活性，Niziachristo等人⁷研究了2003到2005年不同月份采集的PM_{0.15}和PM_{2.5}样品产生活性氧自由基的能力，结果显示PM_{0.15}颗粒物的氧化潜势最大 ($0.088 \pm 0.040 \text{ nmol/min/}\mu\text{g}$)，其次为PM_{2.5}的氧化潜势($0.038 \pm 0.022 \text{ nmol/min/}\mu\text{g}$)，最小的为粗颗粒物的氧化潜势 ($0.023 \pm 0.009 \text{ nmol/min/}\mu\text{g}$)。Cho等人⁸也研究了粗颗粒物 (Coarse PM) (2.5-10 μm)、细颗粒物 (Fine PM) ($< 2.5 \mu\text{m}$) 与超细颗粒物 (Ultrafine PM) ($< 0.15 \mu\text{m}$)与其氧化潜势的关系，结果与Niziachristo等人的结果相同，即氧化潜势的大小为超细颗粒物大于细颗粒物大于粗颗粒物。这可能也是因为大气粗颗粒物因为人体呼吸道自身的屏障作用不能进入人体，但是当颗粒物粒径减小时，具有更高毒性的细颗粒物、超细颗粒物可以进入人体，从而直接刺激或者产生活性氧自由基。

第二，金属组分。可吸入颗粒物中的金属组分具有不可降解的特性。金属组分可造成人体氧化损伤，诱导转录调节核因子产生活性，致使呼吸系统疾病及癌症的患病风险大大提高。金属组分在人体内和人体外都会造成由氧化反应引起的损伤。Charrier等人的研究表明，在典型的PM_{2.5}样品中，过渡金属引起的氧化应激反应高达80%（尤其是铜和锰）。过渡金属具有氧化还原活性，如铁、锰、铜、锌等，它们可以通过Fenton反应产生活性氧自由基，从而影响人体内的氧化及抗氧化平衡。铁的化学性质活泼，其胞内浓度变化可直接影响到细胞内氧化还原体系的平衡。Fenton反应是1894年法国科学家Fenton在一项科学研究中发现酸性水溶液中，当亚铁离子和过氧化氢共存条件下可以有效地将酒石酸氧化，后人为纪念这位伟大

的科学家，将 $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ 命名为Fenton试剂，使用这种试剂的反应称为Fenton反应（如下所示）：



Fenton反应是生物体内存在 $\cdot\text{OH}$ 的体外模拟反应。羟基自由基是氧化能力最强，毒性最大的活性氧自由基，至今尚未找到相应的清除酶。Cho等人在2005年在菲醌 (Phenanthrenequinone) 中加入了低浓度 (50nM) 的铁和铜，发现菲醌的氧化潜势并没有增加，说明氧化潜势对金属不敏感（使用DTT方法，下文会讲到）。最近有研究表明加热柴油或环境超细颗粒物可使其氧化潜势降低，但是加热过程中不会改变可溶性金属含量，表明半挥发颗粒物主导其氧化潜势。Liu和Yu等人在2011年发现铜（二价）和锌（二价）会增加其氧化潜势，而不是铁。部分研究表明，金属是产生活性氧自由基的主要因素。例如，环境中PM样品产生过氧化氢 (HOOH) 和羟基自由基 ($\cdot\text{OH}$) 的能力取决于颗粒物中金属的含量，尤其是铁和铜。此外，Ayres等人在非细胞实验中发现谷胱甘肽和抗坏血酸的消耗也与金属有关，尤其是铜。Valavanidis等人通过实验证明铁和钒与DNA损伤标志物8-羟基脱氧鸟苷的形成密切相关。由于8-羟基脱氧鸟苷被广泛应用于各种氧化损伤的研究，因此该实验结果可以说明颗粒物中的无机成分，尤其是过渡金属是诱发氧化损伤的关键因素。

第三，有机物(Organics)。包括有机碳(Organic carbon OC)，OC中的PAHs及醌类，类腐殖质物质 (Human-like substances, HULIS)。1) 在美国，希腊，中国各国的研究表明OC或者水溶性有机碳与颗粒物的氧化潜势在不同的季节都有相关性。洛杉矶盆地中88%的氧化潜势都与水溶性有机碳 (Water-soluble organic carbon, WSOC)，非水溶性有机碳 (Water-insoluble organic carbon, WIOC)，元素碳 (Element carbon, EC)，以及藿烷类化合物有关。特别地，Verma等人在2012年的研究中发现颗粒物中WSOC与WIOC对颗粒物的氧化潜势都有贡献（图1）。2) PAHs是公认的致癌物质之一，PAHs自身可以刺激机体产生氧化应激反应，导致谷胱甘肽过氧酶消耗过多或者合成不足，脂质过氧化酶激增，打破机体自由基与抗氧化之间的平衡。通常，PAHs与颗粒物的氧化潜势具有相关性，例如菲和芘，当它们发生氧化时，会形成具有更高氧化潜势的醌类，例如菲醌，1,2-萘醌，1,4-萘醌。可以转换成醌类的PAHs

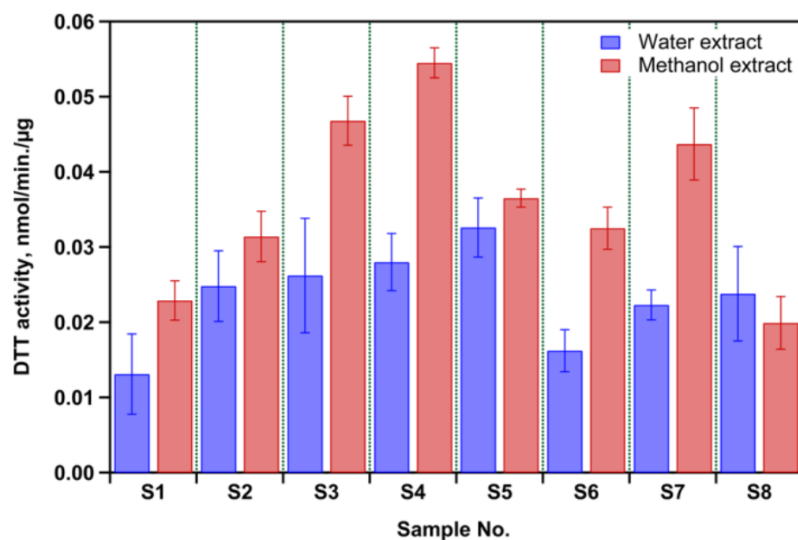


图 1. PM2.5 样品中水提取物质（紫色）和甲醇提取物质（红色）的氧化潜势

同作用增加·OH的生成，但是溶解性的锰与醌类并不会协同增加·OH的生成。除了溶解性金属可以促进PAHs转变成具有DTT活性的醌类物质，光化学老化也是一个重要因素。Verma、Saffari等人在洛杉矶收集了中午时段的样品和早上时段的样品，发现中午时段样品的氧化潜势要高于早上时段的样品，这主要是因为相比早上时段的样品，中午时段的样品参与了更多的光化学过程，从而形成了更多的具有氧化还原性质的有机物质。3) 大气中存在着一类高分子量的化合物，由于其物理化学性质类似于自然水体和土壤中的腐殖酸和黄腐酸，所以称此类有机物为大气中的类腐殖质。许多研究已经证实HULIS相对于WSOC拥有更高的共轭程度。Lin Peng等人发现在HULIS的介导下会促进活性氧自由基的生成（图2）。作者发现

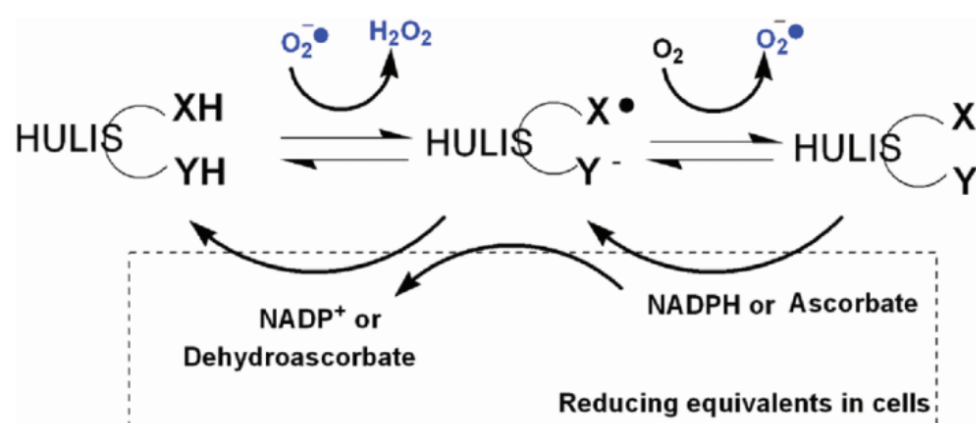


图 2. HULIS 介导的 ROS 产生

可以附在soot表面，表明附着了1,4-萘醌的显著增加了BC的氧化潜势。甲醇提取的组分的氧化潜势要高于水提取组分（1.6倍），因为甲醇可以提取更多的亲水的和疏水的有机物。值得注意的是在可溶性的金属，包括铁和铜的存在下，与醌类有协同作用，增加·OH的生成。

虽然溶解性的铁和铜会与醌类有协

同作用增加·OH的生成，但是溶解性的锰与醌类并不会协同增加·OH的生成。除了溶解性金属可以促进PAHs转变成具有DTT活性的醌类物质，光化学老化也是一个重要因素。Verma、Saffari等人在洛杉矶收集了中午时段的样品和早上时段的样品，发现中午时段样品的氧化潜势要高于早上时段的样品，这主要是因为相比早上时段的样品，中午时段的样品参与了更多的光化学过程，从而形成了更多的具有氧化还原性质的有机物质。3) 大气中存在着一类高分子量的化合物，由于其物理化学性质类似于自然水体和土壤中的腐殖酸和黄腐酸，所以称此类有机物为大气中的类腐殖质。许多研究已经证实HULIS相对于WSOC拥有更高的共轭程度。Lin Peng等人发现在HULIS的介导下会促进活性氧自由基的生成（图2）。作者发现HULIS表现出高的ROS活性，这是因为HULIS中含有醌类，上文已经讨论过醌类是一类已知的具有高度ROS活性的物质。HULIS是PM中水提取有机组分的重要的氧化还原组分，很有可能是因为HULIS具有可逆的氧化还原位点，因此可以作为电子载体传递电子而促进活性氧自由基的形成。

第四，水溶性离子。水溶性离子是大气颗粒物中的重要组成部分。气溶胶中的水溶性阴离子包括F⁻，Cl⁻，NO₃⁻，SO₄²⁻，C₂O₄²⁻，阳离子包括Na⁺，K⁺，NH₄⁺，Mg²⁺，Ca²⁺。由于水溶性离子会随着颗粒物通过呼吸作用进入人体，因此对呼吸系统的损害较为直接，已经有研究证实大气颗粒物中的水溶性离子与健康效应相关。Liu Weijian等人研究了渤海附近三个沿海城市（锦州，天津，烟台）的PM2.5样品

Item	JZ	TJ	YT
WSOC (μg·m ⁻³)	0.817**	0.891**	0.862**
Na ⁺ (μg·m ⁻³)	0.409**	0.687**	0.572**
K ⁺ (μg·m ⁻³)	0.854**	0.735**	0.632**
Mg ²⁺ (μg·m ⁻³)	0.477**	0.128	0.503**
Ca ²⁺ (μg·m ⁻³)	0.222*	-0.143	0.496**
NH ₄ ⁺ (μg·m ⁻³)	0.433**	0.779**	0.686**
SO ₄ ²⁻ (μg·m ⁻³)	0.238*	0.666**	0.515**
NO ₃ ⁻ (μg·m ⁻³)	0.455**	0.737**	0.698**
Cl ⁻ (μg·m ⁻³)	0.754**	0.632**	0.708**
F ⁻ (μg·m ⁻³)	0.141**	0.778**	0.306**
Al (ng·m ⁻³)	0.047	ND	0.306**
V (ng·m ⁻³)	-0.051	ND	0.184
Cr (ng·m ⁻³)	0.339**	0.750**	0.443**
Co (ng·m ⁻³)	0.727**	0.759**	0.668**
Fe (ng·m ⁻³)	0.141	0.778**	0.306**
Ni (ng·m ⁻³)	0.349**	0.290*	0.525**
Cu (ng·m ⁻³)	0.657**	0.447**	0.682**
Zn (ng·m ⁻³)	0.670**	0.610**	0.696**
Se (ng·m ⁻³)	0.384**	ND	0.660**
Mn (ng·m ⁻³)	0.602**	0.781**	0.718**
Cd (ng·m ⁻³)	0.403**	0.613**	0.719**
Pb (ng·m ⁻³)	0.114	0.509**	0.332**

表 1. DTT 活性（氧化潜势）与水溶性 PM_{2.5} 中各组分的相关性

中可溶性离子与其氧化潜势之间的相关性（表1）。Liu Weijian等人发现 NO₃⁻，SO₄²⁻，NH₄⁺ 与DTT活性具有显著相关性 (r > 0.700, p < 0.01)。这个结果与Verma等人的研究结果一致，Verma等人发现 NO₃⁻，SO₄²⁻，NH₄⁺ 与氧化潜势也显著相关。但是已有研究表明 NO₃⁻，SO₄²⁻，NH₄⁺ 是不具有DTT活性的。同时，Verma等人发现这些无机离子与WSOC之间显著相关，说明这些无机离子并不是对DTT活性有实际的贡献。

第五，元素碳 (Element carbon, EC)。元素碳主要是由生物质或者化石燃料的不完全燃烧产生。由于其具有较大的比表面积和吸附能力，更容易吸附重金属、有机污染物、细菌、病毒等有害成分，当其有效地渗透进入肺的间隙组织，逃避巨噬细胞的清除作用，引发肺部和系统性的氧化应激反应与炎症，对人体健康造成危害。

4.氧化潜势的测定方法

虽然颗粒物的致毒机理还不甚清楚，但目前普遍认为由活性氧物种过度积累而引起的机体氧化应激是颗粒物导致机体损伤最重要的机理之一。由于不同类型的活性氧自由基具有不同的

化学特性和反应活性，直接难以测定和准确定量，一般通过检测其与特征试剂的反应过程，间接获得颗粒物的ROS信息。目前ROS主要的测量方法有电子自旋共振、二氯二氢荧光素法、荧光硝基氧探针法、对羟基苯乙酸法、呼吸道粘膜液法、抗坏血酸法以及二硫苏糖醇法 (DTT) 等。前人对以上多种方法进行了比较和分析，一般认为DTT法时最能全面反映颗粒物化学氧化潜势大小的方法。下面我们也着重讲述DTT法。

DTT是一种强还原剂，DTT的消耗速率可以作为颗粒物产生ROS能力的指标。DTT将具有氧化还原活性的物质氧化还原为超氧化物，自身被氧化为DTT二硫化物，未被氧化的DTT与5,5-二硫代双（2-硝基苯甲酸）（DTNB）反应生成2-硝基-5-硫代苯甲酸（TNB）（图3），TNB在412nm处具有特征吸收。我们在测定不同时间点溶液中剩余的DTT含量，计算DTT的消耗速率，进而评估被测物质的氧化潜势。

以时间t为X轴，DTT浓度变化率 $[DTT_0] - [DTT_t] / [DTT_0]$ 为Y轴，得到DTT消耗速率 R_{DTT} 。计算公式如下：

$$R_{DTT} = \frac{[DTT_0] - [DTT_t]}{[DTT_0]} \times \frac{1}{t}$$

$$DTT_m = \frac{R_{DTT}}{m}$$

$$DTT_v = \frac{R_{DTT}}{\text{Air Volumn}}$$

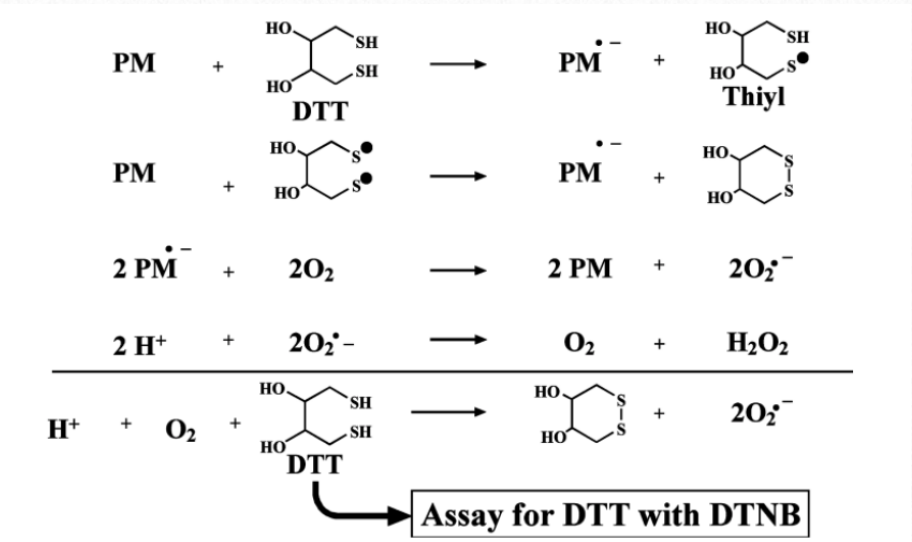


图 3. DTT 法的化学过程

[DTT₀]和[DTT_t]分别指最初和最终混合物中DTT物质的量；m为最终混合物中颗粒物的质量；Air Volume为采样时段对应的大气体积。

将DTT的消耗速率进行质量标准化，将DTT消耗量除以加入反应的颗粒物质量，以DTT_m表示，单位为pmol/min/μg，表征单位质量颗粒物的氧化潜势，可类比为氧化潜势的“密度”；当除以采样空气的体积时，以DTT_v表示，单位为nmol/min/m³，该值被认为与人类暴露的健康影响直接相关。

参考文献

- 1.Torres-Ramos, Y. D.; Montoya-Estrada, A.; Guzman-Grenfell, A. M.; Mancilla-Ramirez, J.; Cardenas-Gonzalez, B.; Blanco-Jimenez, S.; Sepulveda-Sanchez, J. D.; Ramirez-Venegas, A.; Hicks, J. J. J. F. B., Urban PM_{2.5} induces ROS generation and RBC damage in COPD patients. 2011, 3, 808-817.
- 2.Feng, S.; Gao, D.; Liao, F.; Zhou, F.; Wang, X. J. E.; safety, e., The health effects of ambient PM_{2.5} and potential mechanisms. 2016, 128, 67-74.
- 3.Schafer, F. Q.; Biology, G. R. B. J. F. R.; Medicine, Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. 30, (11), 1191-1212.
- 4.Hedayat, F.; Stevanovic, S.; Miljevic, B.; Bottle, S.; Ristovski, Z. J. C. I.; Quarterly, C. E., evaluating the molecular assays for measuring the oxidative potential of particulate matter. 2014, 21, (1-2), 201-210.
- 5.Li, N.; Sioutas, C.; Cho, A.; Schmitz, D.; Misra, C.; Sempf, J.; Wang, M.; Oberley, T.; Froines, J.; Nel, A. J. E. H. P., Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage. 111, (4), 455-460.
- 6.Oberdörster, G. J. I. A. o. O.; Health, E., Pulmonary effects of inhaled ultrafine particles. 2001, 74, (1), 1-8.
- 7.Ntziachristos, L.; Froines, J. R.; Cho, A. K.; Sioutas, C. J. P.; Toxicology, F., Relationship between redox activity and chemical speciation of size-fractionated particulate matter. 2007, 4, (1), 5.
- 8.Cho, A. K.; Sioutas, C.; Miguel, A. H.; Kumagai, Y.; Schmitz, D. A.; Singh, M.; Eiguren-Fernandez, A.; Froines, J. R., Redox activity of airborne particulate matter at different sites in the Los Angeles Basin. 99, (1), 0-47.
- 9.Blackburn, R.; Spitz, D. R.; Liu, X.; Galoforo, S.; Sim, J.; Ridnour, L.; Chen, J.; Davis, B.; Corry, P.; Lee, Y. J. F. R. B.; Medicine, Metabolic oxidative stress activates signal transduction and gene expression during glucose deprivation in human tumor cells. 1999, 26, (3), 419-430.
- 10.Ghio, A. J.; Carraway, M. S.; Madden, M. C. J. J. o. T.; Reviews, E. H.-p. B.-c., Composition of Air Pollution Particles and Oxidative Stress in Cells, Tissues, and Living Systems. 2012, 15, (1), 1-21.
- 11.Charrier, J. G.; Anastasio, C. J. A. C.; Physics, On dithiothreitol (DTT) as a measure of oxidative potential for ambient particles: evidence for the importance of soluble transition metals. 2012, 12, (5), 11317-11350.

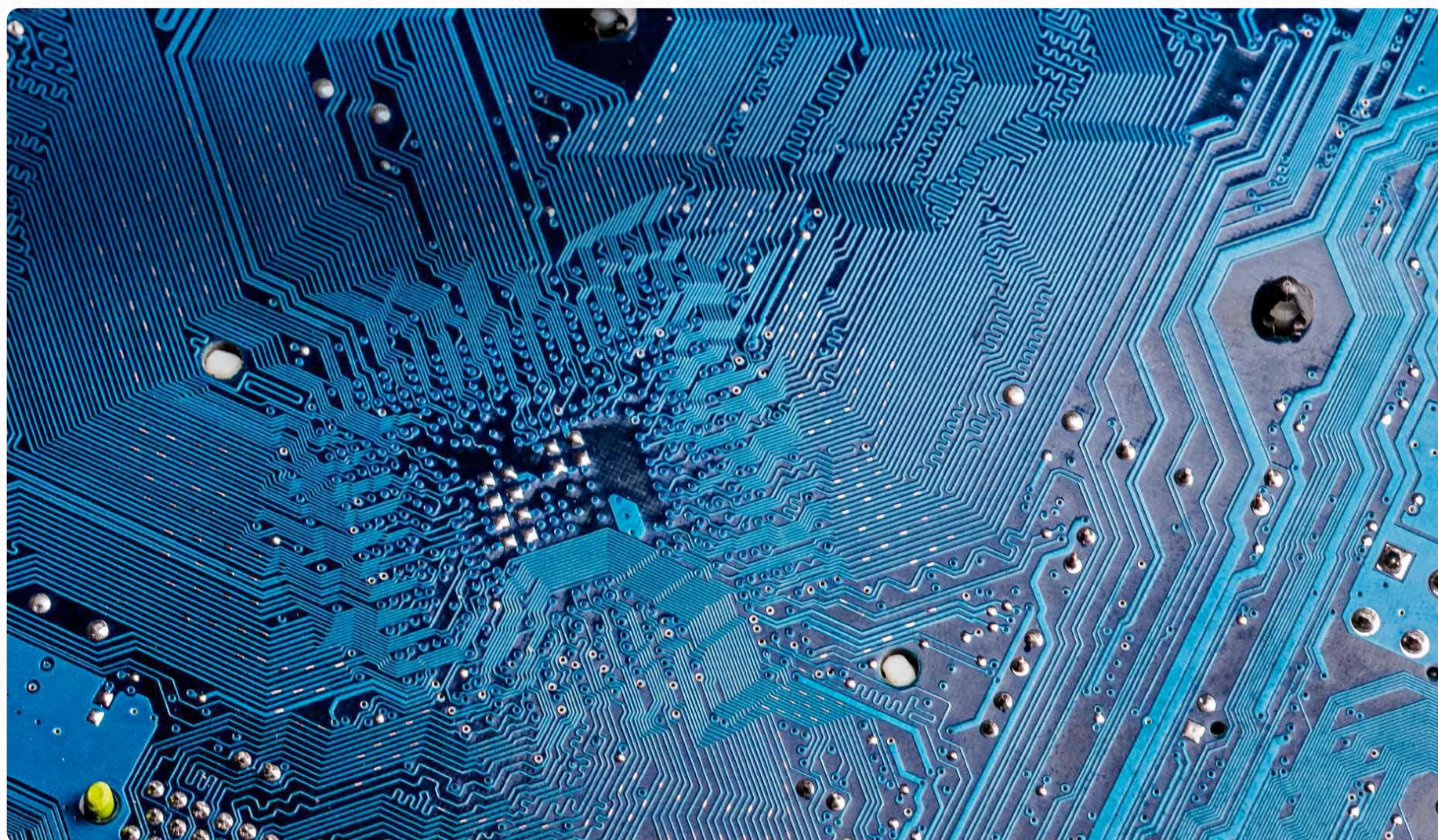
- 12.Elroy-Stein, O.; Bernstein, Y.; Groner, Y. J. T. E. j., Overproduction of human Cu/Zn-superoxide dismutase in transfected cells: extenuation of paraquat-mediated cytotoxicity and enhancement of lipid peroxidation. 1986, 5, (3), 615-622.
- 13.Cho, A. K.; Sioutas, C.; Miguel, A. H.; Kumagai, Y.; Schmitz, D. A.; Singh, M.; Eigurenfernandez, A.; Froines, J. R. J. E. R., Redox activity of airborne particulate matter at different sites in the Los Angeles Basin. 2005, 99, (1), 40-47.
- 14.Biswas, S.; Verma, V.; Schauer, J. J.; Cassee, F. R.; Cho, A. K.; Sioutas, C. J. E. S.; Technology, Oxidative Potential of Semi-Volatile and Non Volatile Particulate Matter (PM) from Heavy-Duty Vehicles Retrofitted with Emission Control Technologies. 2009, 43, (10), 3905-3912.
- 15.Verma, V.; Pakbin, P.; Cheung, K.; Cho, A. K.; Schauer, J. J.; Shafer, M. M.; Kleinman, M. T.; Sioutas, C. J. A. E., Physico-chemical and oxidative characteristics of semi-volatile components of quasi-ultrafine particles in an urban atmosphere. 2011, 45, (4), 1025-1033.
- 16.Distefano, E.; Eigurenfernandez, A.; Delfino, R. J.; Sioutas, C.; Froines, J. R.; Cho, A. K. J. I. T., Determination of metal-based hydroxyl radical generating capacity of ambient and diesel exhaust particles. 2009, 21, (9), 731-738.
- 17.Vidrio, E.; Phuah, C. H.; Dillner, A. M.; Anastasio, C. J. E. S.; Technology, Generation of Hydroxyl Radicals from Ambient Fine Particles in a Surrogate Lung Fluid Solution. 2009, 43, (3), 922-927.
- 18.Wang, Y.; Arellanes, C.; Curtis, D. B.; Paulson, S. E. J. E. S.; Technology, Probing the Source of Hydrogen Peroxide Associated with Coarse Mode Aerosol Particles in Southern California. 2010, 44, (11), 4070-4075.
- 19.Shen, H.; Anastasio, C. J. A. C.; Physics, Formation of hydroxyl radical from San Joaquin Valley particles extracted in a cell-free surrogate lung fluid. 2011, 11, (18), 9671-9682.
- 20.Shen, H.; Barakat, A. I.; Anastasio, C. J. A. C.; Physics, Generation of hydrogen peroxide from San Joaquin Valley particles in a cell-free solution. 2010, 11, (2), 753-765.
- 21.Shen, H.; Anastasio, C. J. A. E., A comparison of hydroxyl radical and hydrogen peroxide generation in ambient particle extracts and laboratory metal solutions. 2012, 46, 665-668.
- 22.Ayres, J. G.; Borm, P. J. A.; Cassee, F. R.; Castranova, V.; Donaldson, K.; Ghio, A. J.; Harrison, R. M.; Hider, R. C.; Kelly, F. J.; Kooter, I. M. J. I. T., Evaluating the Toxicity of Airborne Particulate Matter and Nanoparticles by Measuring Oxidative Stress Potential—A Workshop Report and Consensus Statement. 2008, 20, (1), 75-99.
- 23.Valavanidis, A.; Vlahoyianni, T.; Fiotakis, K. J. F. r. r., Comparative study of the formation of oxidative damage marker 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) adduct from the nucleoside 2'-deoxyguanosine by transition metals and suspensions of particulate matter in relation to metal content and redox reactivity. 2005, 39, (10), 1071-1081.
- 24.Fang, T.; Verma, V.; Bates, J. T.; Abrams, J.; Klein, M.; Strickland, M. J.; Sarnat, S. E.; Chang, H. H.; Mulholland, J. A.; Tolbert, P. E. J. A. C.; Physics, Oxidative potential of ambient water-soluble PM 2.5 in the southeastern United States: contrasts in sources and health associations between ascorbic acid (AA) and dithiothreitol (DTT) assays. 2016, 16, (6), 3865-3879.
- 25.Hu, S.; Polidori, A.; Arhami, M.; Shafer, M. M.; Schauer, J. J.; Cho, A. K.; Sioutas, C. J. A. C.; Physics, Redox activity and chemical speciation of size fractionated PM in the communities of the Los Angeles-Long Beach harbor. 2008, 8, (21), 6439-6451.
- 26.Verma, V.; Ricomartinez, R.; Kotra, N.; King, L. E.; Liu, J.; Snell, T. W.; Weber, R. J. J. E. S.; Technology, Contribution of Water-Soluble and Insoluble Components and Their Hydrophobic/Hydrophilic Subfractions to the Reactive Oxygen Species-Generating Potential of Fine Ambient Aerosols. 2012, 46, (20), 11384-11392.
- 27.Verma, V.; Fang, T.; Xu, L.; Peltier, R. E.; Russell, A. G.; Ng, N. L.; Weber, R. J. J. E. S.; Technology, Organic aerosols associated with the generation of reactive oxygen species (ROS) by water-soluble PM2.5. 2015, 49, (7), 4646-4656.
- 28.Jeng, H. A. J. E. M.; Assessment, Chemical composition of ambient particulate matter and redox activity. 2010, 169, 597-606.

29. Verma, V.; Ning, Z.; Cho, A. K.; Schauer, J. J.; Shafer, M. M.; Sioutas, C. J. A. E., Redox activity of urban quasi-ultrafine particles from primary and secondary sources. 2009, 43, (40), 6360-6368.
30. Vreeland, H.; Weber, R. J.; Bergin, M. H.; Greenwald, R.; Golan, R.; Russell, A. G.; Verma, V.; Sarnat, J. A. J. A. E., Oxidative potential of PM_{2.5} during Atlanta rush hour: Measurements of in-vehicle dithiothreitol (DTT) activity. 2017, 165, 169-178.
31. Liu, Q.; Zhang, Y.; Liu, Y.; Zhang, M. J. E. S.; Research, P., Characterization of springtime airborne particulate matter-bound reactive oxygen species in Beijing. 2014, 21, (15), 9325-9333.
32. Mcwhinney, R. D.; Badali, K.; Liggio, J.; Li, S.; Abbatt, J. P. D. J. E. S.; Technology, Filterable redox cycling activity: a comparison between diesel exhaust particles and secondary organic aerosol constituents. 2013, 47, (7), 3362-3369.
33. Chung, M. Y.; Lazaro, R. A.; Lim, D.; Jackson, J.; Lyon, J.; Rendulic, D.; Hasson, A. S. J. E. S.; Technology, Aerosol-Borne Quinones and Reactive Oxygen Species Generation by Particulate Matter Extracts. 2006, 40, (16), 4880-4886.
34. Totlandsdal, A. I.; Lag, M.; Lilleaas, E.; Cassee, F. R.; Schwarze, P. E. J. E. T., Differential proinflammatory responses induced by diesel exhaust particles with contrasting PAH and metal content. 2015, 30, (2), 188-196.
35. Verma, V.; Wang, Y.; Elafifi, R.; Fang, T.; Rowland, J.; Russell, A. G.; Weber, R. J. J. A. E., Fractionating ambient humic-like substances (HULIS) for their reactive oxygen species activity – Assessing the importance of quinones and atmospheric aging. 2015, 120, 351-359.
36. Dou, J.; Lin, P.; Kuang, B.; Yu, J. Z. J. E. S.; Technology, Reactive Oxygen Species Production Mediated by Humic-like Substances in Atmospheric Aerosols: Enhancement Effects by Pyridine, Imidazole, and Their Derivatives. 2015, 49, (11), 6457-6465.
37. Ma, Y.; Cheng, Y.; Qiu, X.; Cao, G.; Fang, Y.; Wang, J.; Zhu, T.; Yu, J. Z.; Hu, D. J. A. C.; Physics, Sources and oxidative potential of water-soluble humic-like substances (HULIS WS) in fine particulate matter (PM_{2.5}) in Beijing. 2017, 18, (8), 5607-5617.
38. Xiong, Q.; Yu, H.; Wang, R.; Wei, J.; Verma, V. J. E. S.; Technology, Rethinking Dithiothreitol-Based Particulate Matter Oxidative Potential: Measuring Dithiothreitol Consumption versus Reactive Oxygen Species Generation. 2017, 51, (11), 6507-6514.
39. Pant, P.; Baker, S. J.; Shukla, A.; Maikawa, C.; Pollitt, K. J. G.; Harrison, R. M. J. S. o. t. T. E., The PM₁₀ fraction of road dust in the UK and India: Characterization, source profiles and oxidative potential. 2015, 530, 445-452.
40. Saffari, A.; Daher, N.; Shafer, M. M.; Schauer, J. J.; Sioutas, C. J. J. o. E. S.; Health, P. A., Seasonal and spatial variation in dithiothreitol (DTT) activity of quasi-ultrafine particles in the Los Angeles Basin and its association with chemical species. 2014, 49, (4), 441-451.
41. Antiñolo, M.; Willis, M. D.; Zhou, S.; Abbatt, J. P. J. N. c., Connecting the oxidation of soot to its redox cycling abilities. 2015, 6, 6812.
42. Li, Y.; Zhu, T.; Zhao, J.; Xu, B. J. E. s.; technology, Interactive enhancements of ascorbic acid and iron in hydroxyl radical generation in quinone redox cycling. 2012, 46, (18), 10302-10309.
43. Charrier, J. G.; Anastasio, C. J. E. s.; technology, Rates of hydroxyl radical production from transition metals and quinones in a surrogate lung fluid. 2015, 49, (15), 9317-9325.
44. Yu, H.; Wei, J.; Cheng, Y.; Subedi, K.; Verma, V. J. E. s.; technology, Synergistic and antagonistic interactions among the particulate matter components in generating reactive oxygen species based on the dithiothreitol assay. 2018, 52, (4), 2261-2270.
45. Saffari, A.; Hasheminassab, S.; Shafer, M. M.; Schauer, J. J.; Chatila, T. A.; Sioutas, C. J. A. e., Nighttime aqueous-phase secondary organic aerosols in Los Angeles and its implication for fine particulate matter composition and oxidative potential. 2016, 133, 112-122.
46. Graber, E. R.; Rudich, Y., Atmospheric HULIS: How humic-like are they? A comprehensive and critical review. Atmos. Chem. Phys. 2006, 6, (3), 729-753.

- 47.Laskin, A.; Laskin, J.; Nizkorodov, S. A. J. C. r., Chemistry of atmospheric brown carbon. 2015, 115, (10), 4335-4382.
- 48.Zhang, X.; Lin, Y.-H.; Surratt, J. D.; Weber, R. J. J. E. s.; technology, Sources, composition and absorption Ångstrom exponent of light-absorbing organic components in aerosol extracts from the Los Angeles Basin. 2013, 47, (8), 3685-3693.
- 49.Kiss, G.; Tombácz, E.; Hansson, H.-C. J. J. o. A. C., Surface tension effects of humic-like substances in the aqueous extract of tropospheric fine aerosol. 2005, 50, (3), 279-294.
- 50.Kiss, G.; Tombácz, E.; Varga, B.; Alsberg, T.; Persson, L. J. A. E., Estimation of the average molecular weight of humic-like substances isolated from fine atmospheric aerosol. 2003, 37, (27), 3783-3794.
- 51.Liu, W.; Xu, Y.; Liu, W.; Liu, Q.; Yu, S.; Liu, Y.; Wang, X.; Tao, S. J. E. P., Oxidative potential of ambient PM_{2.5} in the coastal cities of the Bohai Sea, northern China: Seasonal variation and source apportionment. 2018, 236, 514-528.
- 52.Kumagai, Y.; Koide, S.; Taguchi, K.; Endo, A.; Nakai, Y.; Yoshikawa, T.; Shimojo, N. J. C. r. i. t., Oxidation of proximal protein sulfhydryls by phenanthraquinone, a component of diesel exhaust particles. 2002, 15, (4), 483-489.
- 53.Fang, T.; Verma, V.; Guo, H.; King, L.; Edgerton, E.; Weber, R. J. A. M. T., A semi-automated system for quantifying the oxidative potential of ambient particles in aqueous extracts using the dithiothreitol (DTT) assay: results from the Southeastern Center for Air Pollution and Epidemiology (SCAPE). 2015, 8, (1), 471-482.
- 54.Lin, P.; Yu, J. Z. J. E. s.; technology, Generation of reactive oxygen species mediated by humic-like substances in atmospheric aerosols. 2011, 45, (24), 10362-10368.
- 55.Sauvain, J.-J.; Rossi, M. J.; Riediker, M. J. A. s.; technology, Comparison of three acellular tests for assessing the oxidation potential of nanomaterials. 2013, 47, (2), 218-227.

磷系阻燃剂（OPEs）在植物中的吸收转运及其机理研究

胡蓓蓓



阻燃剂（flame retardants, FRs）是一类被广泛应用于电子电器、家具、塑料和纺织等产品中抑制火焰传播的工业添加剂。曾经被广泛生产和使用的多溴联苯醚（Polybrominated diphenyl ethers, PBDEs）由于其具有长距离迁移性、持久性、累积性和生物毒性等特征，部分PBDEs同系物已陆续在全球范围内被禁用[9-11]。

随着国际公约的限制，一些磷系阻燃剂（phosphate flame retardants, PFRs）和新型溴代阻燃剂（“novel” brominated flame retardants, NBFRs）作为新型或者替代型阻燃剂被大量地生产和使用。例如，十溴二苯乙烷（DBDPE）可用作十溴联苯醚（Deca-BDE）的替代品。据统计，新型的阻燃剂DBDPE作为添加型溴代阻燃剂其使用量位

居中国第二，2006年DBDPE 在中国的年产量就高达1.2万吨并以80%的年产量增长率快速增长[7]；磷酸三(2,3-二氯丙基)酯(TDCPP) 则可作为五溴联苯醚(Penta-BDEs) 的替代品应用于工业生产和生活中等[7,12]。随着对新型阻燃剂(emerging FRs) 的逐步了解，有研究指出，部分新型阻燃剂仍然具有与PBDEs相类似的性质，能够随着大气长距离迁移，具有生物累积性、毒性等特征[7,8,12,13]。

PFRs是一类磷酸酯类化合物，大多数具有低烟、低溴等特点，也可以用作塑化剂和增塑剂。

PFRs是一类磷酸酯类化合物 (Organophosphate Esters, OPEs)，大多数具有低烟、低溴等特点，也可以用作塑化剂和增塑剂。OPEs属于添加型而非化学键合型阻燃剂，因此它们很容易被释放到环境中[8,13]。Zheng等人对我国30座森林背景点土壤中PBDEs和NBFRs的污染状况进行调查研究，发现我国森林背景点土壤中NBFRs的污染水平普遍高于PBDEs（除BDE-209）的污染水平；同时有研究也指出同一区域的室内灰尘中，PFRs和DBDPE的浓度与PBDEs的浓度相当[14,15]，这说明目前新型阻燃剂的污染程度不低于PBDEs，需要引起更多的关注。而释放到环境中的新型阻燃剂可以通过多种途径进入人体，其中食物摄入是主要方式之一[8]。Poma等对生活中食物食品分析，检测出11种OPEs，且加工过的食物对人体摄入OPEs的贡献率更高，人均的摄入量是406-3266ng/day。尽管新型阻燃剂在全球范围内已被广泛地生产和使用，但国际上关于它们的环境污染研究尚处于初级阶段，有关OPEs在农作物中的研究报道十分贫乏。我国是农业大国，同时也是全球阻燃剂的主要生产国和重要的消费市场之一，开展新型阻燃剂在农作物中的相关研究具有十分重要的现实意义。

农作物在其整个生长过程中会与周边环境介质发生一系列的交换行为，从而对周边环境介质（大气、农田土、水等）中污染物的传输、迁移、转化产生巨大的影响，交换行为主要包括污染物在大气-作物、农田土-作物、水-作物之间的迁移转化。因此，农作物体内的污染物主要来源于大气、土壤以及水中。大气中的污染物进入作物体内的途径有两种，即污染物通过大气干湿沉降后进入土壤，随后通过根系吸收进入作物体内以及大气中的污染物直接被作物叶片吸收。Tian等人对广东清远地区的植物和大气样品进行采样研究，发现植物中低溴联苯醚同系物的浓度与气相中的浓度呈正相关，说明植物主要从大气气相中吸收这些污染物[17]。土壤中的污染物进入作物体内主要有三种途径，包括作物根系从土壤直接吸收污染物、植物叶片吸收土壤中挥发出来的污染物以及植物叶片吸附悬浮着的土壤颗粒。其中，土壤的根际吸收受到更多的关注。水中的污染物一部分会被土壤所吸附，另一部分则通过渗透作用进入深层土壤。被土壤吸附的污染物可以通过上述途径被作物吸收。Wenbei等人通过测定塑料处理废弃区样品发现出9种OPEs，且这9种OPEs都可以在附近农田土中及农田土中小麦中检测发现。他们在农田土中的浓度为38-1250ng/g，在小麦中浓度高为9-51ng/g。但目前的研究普遍认为，植物体内有机物的迁移转运与化合物本身的logKow相关，疏水性较强的有机物比疏水性低的有机物更容易富集在植物的根系中，但是很难随着植物的蒸腾作用转移至植物的地上部分；土壤中的有机碳也可以影响植物根系中有机物的迁移转运，土壤中有有机质越丰富，植物根系富集的有机物越低。

OPEs的物理化学性质与旧的阻燃剂PBDEs之间存在着较大差异，大多数OPEs的logKOW值介于2~5之间，而PBDEs的logKOW值则位于6~10之间[7,13]。那么，OPEs被农作物吸收的过程和途径很可能与PBDEs之间存在着较大的差别。Eggen等人利用已知OPEs浓度的土壤，在温室培养谷类作物、油菜籽、草饲料以及蔬菜，通过计算作物各部分的富集因子发现磷酸三(2-氯乙基)酯（TCEP）在牛尾草和胡萝卜中的叶片吸收因子分别为3.9和42.3，同时磷酸三氯丙基酯（TCPP）在牛尾草和胡萝卜中的叶片吸收因子分别达到25.9和17.5。因此，该研究认为TCPP和TCEP从土壤转移到农作物叶片中的含量较高，农作物吸收TCPP和TCEP的能力较强[23]；Hyland等人利用处理过的含PFRs的污水灌溉生菜地和草莓地，通过计算作物各部分的富集因子发现，TDCPP和TCEP在生菜地和草莓地的根吸收因子主要与灌溉水中

TDCPP和TCEP的浓度有关，并且该研究认为TDCPP、TCEP和TCPP这三种磷系阻燃剂被作物吸收的能力与化合物的KOW值和体积大小有关[26]。另外，研究结果表明，植物根系吸收低分子量、高溶解性的有机化学品的能力比之前预测的要强，这说明OPEs通过根系吸收进入农作物体内的富集潜力可能更大[26, 27]。

目前的研究并不能清晰地给出土壤中影响植物根系吸收OPEs的因素，现有的为数不多的关于作物吸收OPEs的研究几乎没有涉及到不同农作物对 OPEs的吸收过程。

然而，目前的研究并不能清晰地给出土壤中影响植物根系吸收OPEs的因素，现有的为数不多的关于作物吸收OPEs的研究几乎没有涉及到不同农作物对 OPEs的吸收过程。事实上，农作物在不同土壤体系及不同品种类型农作物中，各种OPEs的吸收能力是存在着显著差异的。单一的有机污染及复合污染下有机物在植物中的吸收转运也是不同的，因为重金属离子可以破坏植物根系的细胞膜结构，使得根系细胞膜的通透性增加，外界异生质进入植物体内，从而增加植物体内有机物的污染水平。

由此可见，目前关于OPEs在环境中的迁移转化运行为、生物富集特性以及被农作物吸收的过程的研究并不完全。农作物根系组织吸收磷系阻燃剂的影响因素及过程机理尚不十分明确。我们对这些过程还缺少系统的研究以及对一些科学问题的认识不够深入，如：各类OPEs在农作物中是如何迁移转化的？是否还有其他因素（如，土壤类型、化合物结构特征等）影响农作物的根系组织吸收OPEs？这些因素又是如何影响的？不同农作物中，作物对OPEs 的吸收速率、吸收能力是否不同？等等，这些都有待我们进一步研究。

关于OPERs在农作物中污染水平、迁移转化以及归趋的报道十分少见。因此，研究对比新旧阻燃剂对植物的生理毒害及污染

水平、在不同种类农作物中的吸收转运过程、不同土壤类型和重金属离子Cu对典型OPEs在植物体内的迁移转运机理，对于自然条件下新型阻燃剂进入农作物的过程机制、研究OPEs在植物-土壤/水界面转运过程以及控制OPEs污染的提供了重要的科学基础，同时对控制污染物的释放、降低污染风险、保护农田生态系统具有十分重要的指导意义。

参考文献

- [1] Zhuang, P., M. B. McBride, H. Xia, N. Li and Z. Lia (2009). Health risk from heavy metals via consumption of food crops in the vicinity of Dabaoshan mine, South China. *Science of the Total Environment* 407(5): 1551-1561.
- [2] Koupaie, E. H. and C. Eskicioglu (2015). Health risk assessment of heavy metals through the consumption of food crops fertilized by biosolids: A probabilistic-based analysis. *Journal of Hazardous Materials* 300: 855-865.
- [3] Mumtaz, M., A. Qadir, A. Mahmood, A. Mehmood, R. N. Malik, J. Li, Z. Yousaf, N. Jamil, I. A. Shaikh, H. Ali and G. Zhang (2015). Human health risk assessment, congener specific analysis and spatial distribution pattern of organochlorine pesticides (OCPs) through rice crop from selected districts of Punjab Province, Pakistan. *Science of the Total Environment* 511: 354-361.
- [4] Wang, Y., S. Wang, C. Luo, Y. Xu, S. Pan, J. Li, L. Ming, G. Zhang and X. Li (2015). Influence of rice growth on the fate of polycyclic aromatic hydrocarbons in a subtropical paddy field: A life cycle study. *Chemosphere* 119: 1233-1239.
- [5] Zheng, Q., R. Zhang, Y. Wang, X. Pan, J. Tang and G. Zhang (2012). Occurrence and distribution of antibiotics in the Beibu Gulf, China: Impacts of river discharge and aquaculture activities. *Marine Environmental Research* 78: 26-33.
- [6] Wu, X., F. Ernst, J. L. Conkle and J. Gan (2013). Comparative uptake and translocation of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) by common vegetables. *Environment International* 60: 15-22.
- [7] Covaci A, Harrad S, Abdallah MAE, Ali N, Law RJ, Herzke D, de Wit CA. 2011. Novel brominated flame retardants: A review of their analysis, environmental fate and behaviour. *Environment International* 37(2): 532-556.
- [8] Wei GL, Li DQ, Zhuo MN, Liao YS, Xie ZY, Guo TL, Li JJ, Zhang SY, Liang ZQ. 2015. Organophosphorus flame retardants and plasticizers: Sources, occurrence, toxicity and human exposure. *Environmental Pollution* 196: 29-46.
- [9] Alaee M, Arias P, Sjödin A, Bergman Å. 2003. An overview of commercially used brominated flame retardants, their applications, their use patterns in different countries/regions and possible modes of release. *Environment International* 29:683-689.
- [10] United Nations Environment Programme (UNEP). Stockholm Convention text and annexes as amended in 2009.
- [11] US Environmental Protection Agency (EPA, 2012).
- [12] Dishaw, L. V., C. M. Powers, I. T. Ryde, S. C. Roberts, F. J. Seidler, T. A. Slotkin and H. M. Stapleton (2011). Is the PentaBDE replacement, tris (1,3-dichloropropyl) phosphate (TDCPP), a developmental neurotoxicant? *Studies in PC12 cells. Toxicology and Applied Pharmacology* 256(3): 281-289.
- [13] Van der Veen I, de Boer J. 2012. Phosphorus flame retardants: properties, production, environmental occurrence, toxicity and analysis. *Chemosphere* 88:1119-1153.
- [14] Qian Zheng, Luca Nizzetto, Jun Li, Marie D. Mulder, Ondřej Sáňka, Gerhard Lammel, Haijian Bing, Xin Liu, Yishan Jiang, Luo Chunling, Gan Zhang. 2015. Spatial Distribution of Old and Emerging Flame Retardants in Chinese Forest Soils: Sources, Trends and Processes. *Environmental Science & Technology* 49(5): 2904-2911.

- [15] Zheng X, Xu F, Chen K, Zeng Y, Luo X, Chen S, Mai B, Covaci A. 2015. Flame retardants and organochlorines in indoor dust from several e-waste recycling sites in South China: Composition variations and implications for human exposure. *Environment International* 78:1-7.
- [16] Li, P., H. Wu, Q. Li, J. Jin and Y. Wang (2015). Brominated flame retardants in food and environmental samples from a production area in China: concentrations and human exposure assessment. *Environmental Monitoring and Assessment* 187(11).
- [17] Tian, M., S.J. Chen, J. Wang, T. Shi, X.J. Luo, B. X. Mai, 2011. Atmospheric Deposition of Halogenated Flame Retardants at Urban, E-Waste, and Rural Locations in Southern China. *Environmental Science & Technology* 45, 4696-4701.
- [18] Desalme, D., P. Binet and G. Chiapusio (2013). Challenges in Tracing the Fate and Effects of Atmospheric Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Deposition in Vascular Plants. *Environmental Science & Technology* 47(9): 3967-3981.
- [19] Mueller, K. E., S. R. Mueller-Spitz, H. F. Henry, A. P. Vonderheide, R. S. Soman, B. K. Kinkle and J. R. Shann (2006). Fate of pentabrominated diphenyl ethers in soil: Abiotic sorption, plant uptake, and the impact of interspecific plant interactions. *Environmental Science & Technology* 40(21): 6662-6667.
- [20] Wang, S., Y. Wang, C. Luo, L. Jiang, M. Song, D. Zhang, Y. Wang and G. Zhang (2016). Could Uptake and Acropetal Translocation of PBDEs by Corn Be Enhanced Following Cu Exposure? Evidence from a Root Damage Experiment. *Environmental Science & Technology* 50(2): 856-863.
- [21] Tian, M., S.-J. Chen, J. Wang, Y. Luo, X.-J. Luo and B.-X. Mai (2012). Plant Uptake of Atmospheric Brominated Flame Retardants at an E-Waste Site in Southern China. *Environmental Science & Technology* 46(5): 2708-2714.
- [22] Tao, S., X. C. Jiao, S. H. Chen, W. X. Liu, R. M. Coveney, L. Z. Zhu and Y. M. Luo (2006). Accumulation and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in rice (*Oryza sativa*). *Environmental Pollution* 140(3): 406-415.
- [23] Eggen, T., E. S. Heimstad, A. O. Stuanes and H. R. Norli (2013). Uptake and translocation of organophosphates and other emerging contaminants in food and forage crops. *Environmental Science and Pollution Research* 20(7): 4520-4531.
- [24] Wang, S., Y. Wang, M. Song, C. Luo, J. Li and G. Zhang (2016). Distributions and compositions of old and emerging flame retardants in the rhizosphere and non-rhizosphere soil in an e-waste contaminated area of South China. *Environmental Pollution* 208: 619-625.
- [25] Miller, E. L., S. L. Nason, K. G. Karthikeyan and J. A. Pedersen (2016). Root Uptake of Pharmaceuticals and Personal Care Product Ingredients. *Environmental Science & Technology* 50(2): 525-541.
- [26] Dettenmaier, E. M., W. J. Doucette and B. Bugbee (2009). Chemical Hydrophobicity and Uptake by Plant Roots. *Environmental Science & Technology* 43(2): 324-329.
- [27] Hyland, K. C., A. C. Blaine and C. P. Higgins (2015). Accumulation of contaminants of emerging concern in food crops part 2: Plant distribution. *Environmental Toxicology and Chemistry* 34(10): 2222-2230.

碳同位素自然丰度分析在土壤生态系统碳动态研究中的应用

姜懿珊



过去50年来，全球大气平均温度变暖趋势是每十年升高 0.13°C ，几乎是过去一百年来的两倍（IPCC,2007）。人类因素和自然因素排放的温室气体是现阶段驱动气候变化的主要因素。人类活动的影响，使全球二氧化碳浓度从工业革命前的280ppm上升到了2005年379ppm，远超过了冰芯记录的过去65万年

来自自然因素引起的变化范围（180-300 ppm）。为了应对气候变暖的趋势，人们先后在1997年和2009年联合国气候气候变化框架公约大会上签订了《京都议定书》和《2009哥本哈根协议》来限制人类活动向大气排放二氧化碳气体。如今，减排、低碳经济不仅是科学问题，而且带有浓厚的政治色

限“源”增“汇”显然是遏制大气二氧化碳浓度持续升高的关键，因此，有关大气二氧化碳源、汇的问题一直是科学家关注的焦点。

彩。限“源”增“汇”显然是遏制大气二氧化碳浓度持续升高的关键，因此，有关大气二氧化碳源、汇的问题一直是科学家关注的焦点。

碳循环中，大气中实际的碳增量、海洋吸收碳的总增量和化石燃烧释放碳的增量都相对容易测定，而多样的陆地生态系统类型，较大的碳循环时空变异，以及当前薄弱的陆地生态系统碳循环研究 (Bazzaz,1990; Koch and Mooney,1996)，导致陆地生物圈中的土壤很可能是碳收支平衡中的一个“未知汇”。全球土壤中具有丰富多样性的生物和有机质，共同组成了一个巨大的碳库，因此成为重要的潜在温室气体的“源”和“汇” (Torn et al., 2009)。全球土壤有机碳（1米深范围内）达到1500PgC~2500 PgC (Berg and Reich, 1993; IPCC, 2000)，约为全球陆地总碳量的三分之二，是大气层总碳量的2倍，植被碳库的4倍。土壤与大气之间的碳交换量达60PgC/年，是全球化石燃料释放量的十倍 (Fernandez et al., 1993)。森林和草地土壤约占全球土壤碳储量的39%和15% (Berg and Reich,1993)，是碳排放和碳固定的重要载体 (IPCC,2000; Trumbore,2009)。因此，自然生态系统中土壤碳库的动态研究在全球陆地生态系统碳循环中占有重要地位。这些生态系统存在于从热带到寒带，平原到高原等多样的气候条件和生态环境当中，同时包含了对应的复杂多变的植被类型 (Veresoglou et al., 2019; Wang et al., 2019)。越来越多的证据表明，自然生态系统中土壤有机碳库在频繁的人类活动干预和剧烈的气候条件变化下，越来越容易受到攻击和影响 (Jin et al., 2019)。如大范围的森林砍伐导致马来西亚在过去的29年来土壤有机碳储量下降了42%，印度东北部地区土壤有机碳密度显著降低 (Lungmuana et al.,2018;Rahman et al.,

2018)。同样的，过度开发，如草场过度放牧，导致青藏高原草地和温带草原土壤有机碳储量分别下降了26.5% (Li,2016) 和33% (Xu et al.,2013)。自然生态系统中土壤有机碳相对微小的动态变化，都将导致整个土壤层有机碳库绝对量的巨大变化，继而引起与大气碳交换加剧，最终与全球气候变化产生交互影响。想要预测和了解这些生态系统中土壤有机碳库对未来环境变化的响应，需要进一步完善对土壤有机碳循环核心成分碳动态的探索。在此过程中，碳同位素自然丰度由于其在自然生态系统中天然的示踪作用，成为研究土壤碳动态的新焦点。

1.碳同位素自然丰度分析简介及指示意义

土壤有机碳包含土壤微生物碳以及土壤有机碳组分在内的一系列核心成分 (Trumbore, 2009)，它们具有不同的物理化学属性和周转时间，所以传统的土壤普查方法很难精准的探测到几年或几十年内环境变化对土壤碳动态的影响 (Del Galdo et al.,2003; Paul et al.,2002)。但碳同位素测量方法却比土壤普查方法更加敏感地揭示了土壤碳循环的扰动和恢复过程 (De Camargo et al., 1999)。其中，土壤有机碳的稳定碳同位素 (^{13}C) 的自然丰度综合了几年到数十年尺度植被的同位素信息，成为评价生物碳同位素组成变化的最佳观测指标 (Bird et al., 2004)。而土壤有机碳的放射性同位素 (^{14}C) 自然丰度可用来确定碳动态变化以及全球变化对土壤碳的影响，并能用于检验土壤碳动力学模型的预测效果 (Trumbore, 2009)。1950至1960年代进行的核试验所释放的 ^{14}C 使大气 ^{14}C 水平上升了约1000%并由大气沉降作用逐年下降。在此过程中， ^{14}C 水平成为了天然地示踪因子，明确地区分出高 ^{14}C 水平代表的新土壤有机质和低 ^{14}C 水平代表的老土壤有机质。计算大气 ^{14}C 与不同周转速率土壤组分耦合后的 ^{14}C 水平，便可以清楚地评估这一地区土壤有机碳的周转状态 (Harkness et al.,1986; Trumbore et al.,1989)。过去由于碳同位素自然丰度检测条件不成熟，研究人员更多地应用人工控制添加实验来开展土壤碳循环机制的研究 (宋斗妍 et al.,2008; 于贵瑞 et al.,2005)。而相比于实验室培养无法完全模拟自然环境的劣势，利用碳同位素自然丰度示踪更能真实反映自然生态系统中土壤碳动态的变化。近年来，随着分析技术的发展，尤其是加速器质谱技术的出现，使检测单体化合物（如生物标志物PLFA）中低浓度的 ^{14}C 自然丰度也

得以实现 (Carbone et al.,2010; Czimczik et al.,2005; Hanson et al.,2005)。这使 ^{13}C 和 ^{14}C 同位素自然丰度分析方法成为研究不同时间尺度自然生态系统中土壤有机碳动态的一个强有力的工具。

2.微生物PLFA的碳同位素自然丰度分析技术

在同位素水平揭示土壤碳的循环周期，碳源和二氧化碳的固定产物对于解释土壤有机质的储存和循环原理尤其重要，因为这与全球碳循环紧密相关 (Trumbore,2009)。生态系统固定 CO_2 的能力主要依赖于它们固定碳产物的产量和保持碳的时间 (Fung et al.,1997)，而土壤微生物是将 CO_2 转化为土壤有机质的核心动力 (Torn et al.,2009)。土壤有机质由一系列不同周转时间的组分组成，通过这些组分的碳同位素水平可以直接反映环境因素对土壤碳组分动态变化的影响程度。比如在土地改用以后，通过碳同位素水平估计新植被类型输入后对土壤有机质造成的影响，计算旧植被残体及保留时间的指数式衰减 (Gleixner et al.,1999)。有科学家通过土壤稳定同位素 (^{13}C) 水平检测，发现在植被改变23年后土壤主体中糖和蛋白质的 ^{13}C 水平才开始减少 (Gleixner et al.,2002)。由此可见，土壤有机质并不都能很快的从同位素水平反映出环境条件的变化。然而，土壤有机质的不稳定性和易降解性，使得微生物得以对新老有机碳进行利用并快速循环 (Gleixner et al., 2005)。生物通过光合作用固碳、再通过呼吸作用或降解作用，将一部分碳返还给大气的平均周转时间，是评价生态系统在外界环境变化（如气候变化）下，碳储存和释放改变时间和改变程度的重要评价指标 (Thompson et al.,1996)。而通过对土壤有机碳组分和微生物碳同位素水平的综合评估，可以进一步生态系统中土壤碳库动态变化以及不同微生物的碳周转特性进行评价。

目前利用碳同位素技术研究微生物碳动态主要通过活体土壤微生物标志物磷脂脂肪酸 (Phospholipid fatty acids,PLFAs) 来实现。PLFA是微生物细胞膜的主要组成成分，具有比较稳定的化学性质，不容易在提取过程中丧失或转化 (Frostegård et al.,1991)。由于不同微生物细胞膜脂类结构的差异，不同PLFA可以对来对不同的功能微生物进行识别。如亚麻油酸 ($\text{C}_{18:2\omega 2}$) 可用作真菌的标记物， β -OHFA则用作革兰氏阴性细菌的标记物 (Zelles, 1999)。细胞死亡后微生物细胞膜最多一周之内便会被水解，因此，PLFAs可以作为理想的研

究微生物活细胞群体的生物标记物。活体微生物细胞膜中的磷脂通常有着与微生物碳源直接相关的碳同位素指纹特征 (Boschker and Middelburg,2002)。这已经广泛用于在实验室培养的 ^{13}C 添加实验研究中指示土壤微生物的碳源 (Abraham et al.,1998; Hanson et al.,1999)。而 ^{14}C 自然丰度分析作为一种可以精准测量微生物群落脂类 ^{14}C 水平的手段, 与PLFAs方法相结合, 可以更加准确的获得微生物的碳源以及碳周转速率的信息。例如, 通过土壤中PLFA的 ^{14}C 含量的差异, 可以评估石油污染地区, 微生物的修复作用, 即微生物否以污染物为碳源 (Ahad and Pakdel,2013; Cowie et al.,2010; Mahmoudi et al.,2013; Mills et al.,2013; Slater et al.,2006; Slater et al.,2005)。在环境科学标准参考物质的研究进展中, PLFA的单体碳同位素自然丰度分析 (Compound specific radio carbon analysis, CS-RA), 在配备加速质谱 (accelerator MS,AMS) 后得以实现, 使自然生态系统中特定微生物碳动态信息可以被直接指示和收集 (Cowie et al.,2010; Eglinton et al.,1997; Li et al., 2012; Uchikawa and Zeebe,2008)。

3.碳同位素自然丰度分析在土壤碳动态研究中的应用

3.1 土壤有机碳动态

过去几十年的研究已经较清楚的显示了土壤有机质固定的机制和时间问题, 然而对其过程, 我们却缺乏足够的了解, 因此要预测土壤有机碳在不同土壤类型、地貌和一定的气候和环境条件变化下的响应存在很大的不确定性 (Trumbore,2009)。部分原因在于过去的研究多集中在小范围的、短时间尺度上的土壤碳平衡过程。例如, 过去的土壤碳模型研究多集中于土壤表层20cm (Jenkinson and Rayner,1977; Parton et al.,1987), 而事实上, 较大部分的土壤有机碳是储存在地表20cm以下的土壤中 (Jobbágy and Jackson, 2000), 相应地, 评估这部分是否高度稳定对于研究土壤碳循环来说非常重要 (Kramer and Gleixner, 2008; Rethemeyer et al.,2005)。因此, 要了解区域性土壤有机碳的动力学过程, 长时间尺度地和大范围的研究十分重要。

对于那些有明确记录的植被类型变化的生态系统（通常是C3植被改种C4植被），新旧植被光合产物对土壤投入 ^{13}C 水平的差异，可以在几十年时间范围内通过土壤有机质 ^{13}C 的变化速率反映出来 (Balesdent et al.,1987)。土壤有机碳 ^{13}C 的自然丰度在土壤剖面中的分布和富集也可以在一定程度上反映生态系统中环境变化对土壤碳库的影响 (于贵瑞 et al.,2005)。这种方法在碳动态研究中提供了许多重要的证据，然而对于确定的、单独自然因素改变的需要使得其不能被广泛应用于自然土壤生态系统当中，也不能可靠地反映千年时间范围内的碳动态研究。

^{14}C 有效地弥补了 ^{13}C 在时间范围上的限制，是目前唯一可以解决土壤有机碳较长时间尺度，十年至千年尺度动力学过程的工具 (Levin and Hesshaimer, 2000)。为了预测土壤有机碳在长时间尺度上的变化，有关土壤有机碳 ^{14}C 的模型研究是研究土壤有机碳动力学研究的重点之一。但目前有关研究中可以矫正模型的野外实测土壤有机碳组分 ^{14}C 自然丰度数据仍然较少(Wang and Hsieh,2002)。已有的土壤表层有机碳的 ^{14}C 年龄、土壤有机碳含量变化和土壤有机碳 ^{13}C 自然丰度分布特征已经表明土壤碳库是由至少三个具有不同更新周期的亚碳库组成 (Townsend et al.,1995; Trumbore et al.,1989; 沈承德 et al.,2000)：活动碳库（根分泌物和快速分解的植物残体，更新周期小于1年）、易分解碳库（更新周期在数年至数百年之间）和稳定碳库（矿化有机碳，更新周期大于千年） (Trumbore and Harden,1997)。在自然生态系统中，土壤有机质作为一种持续接受植物新碳输入和承受降解作用碳损失的碳库，其自然 $^{14}\text{C}/^{12}\text{C}$ 同时反映了放射性衰变和降解衰变 (Torn et al.,2009; Trumbore,2000)。

^{14}C 作为良好的示踪剂且直接与碳本身相关，早在1960s末就用作标记物用于土壤腐殖质的研究 (Campbell et al.,1967)。而随着对核爆 ^{14}C 认识的加深，核爆 ^{14}C 作为理想的示踪剂且在各生态系统广泛存在，自1970s末开始广泛应用于揭示土壤有机碳碳库大小、碳输入率和更新方面 (O'Brien and Stout,1978; Trumbore,1993)。大部分土壤有机质 ^{14}C 研究应用于单个土壤剖面中。将这些点扩散到面需要一个可以在多维角度预测这些因素对碳储量和碳动态变化的框架设计。目前比较认同的框架设计是state factor方法 (Amundson and Jenny,1997; Torn et al.,2009):将可测量的土壤性质（如有机质含量）与state factor联系起来，包括气候，植被，基质，地形和时间。Amundson & Jen-

ny在1997年又基于人类对地表塑造的巨大影响增加了第六种state factor: 人类活动。这个框架的价值在于,在开展研究过程中,我们可以在取样时缩小其它state factor差距,再分离研究其中某种state factor的影响。基于以上理论,土壤有机碳组分的 ^{14}C 的自然丰度分析可以从以下几个方面用于定量研究土壤碳循环过程:

1. 测算土壤中某恒定物质的碳年龄。如果碳自进入土壤中一直没有与土壤环境中其它的碳进行交换,那么我们就可以通过测试土壤有机碳的 ^{14}C 年龄,来判断土壤有机碳形成的时间(Trumbore and Harden,1997; 沈承德 et al.,2000)。那些公元1960年以前固定的碳,放射性碳同位素测算要进行大气 ^{14}C 波动校正。这种波动校正的精密度有限,因此 ^{14}C 在区分公元前1650至公元1950年固定的碳年龄时,可能不是十分准确。但是对于自1960以来形成的土壤有机碳 ^{14}C 年龄误差可减少到1-2年。这种手段也可以应用于烧焦的样品材料(Pessenda et al.,2001)或指认未完全分解的有机质残片中(Trumbore and Harden,1997),因为在这部分土壤的有机碳中可能有未分解的碳化物质或可识别的植物残体。

2. 指示土壤碳库与大气碳库之间的碳交换速率。土壤是一个开放系统,新鲜土壤有机质源源不断地从这个系统中进出。1960年以前的有机质的 ^{14}C 水平可以推测其对大气 ^{14}C 的平均分解速率(Torn et al.,1997)。核试验所产生 ^{14}C 的加入使 ^{14}C 水平变为示踪近几年、几十年甚至几百年土壤地气交换的一个更灵敏的示踪因子,从而估算土壤有机碳平均的分解速率(Agnelli et al.,2010)。 ^{14}C 所反映出的时间是大气碳原子通过植物固定后开始计算的,因此并不需要进行植物分解速率的直接测量就可以获得它们对大气有机碳降解速率的信息。

3. 示踪物质来源。例如比较不同土壤呼吸二氧化碳或土壤中二氧化碳气体与其潜在来源的碳同位素值来分析哪种基质作为碳源,判断其主要来源(Trumbore, 2006)。这虽然通过生态学观测的方法也能取得,但往往存在较大的不确定性(Hanson et al., 2000)。例如,易志刚(易志刚 et al., 2006)和Yi (Zhigang et al., 2007)等通过对比鼎湖山森林土壤中有植被覆盖和没有植被与根系分布情况下二氧化碳气体来源比例后指出,微生物分解作用可能是土壤二氧化碳气体的主要来源,但是由于两者并非同一剖面,因此结果存在不确定性。运用碳同位素方法,丁平等发现在同一片林区和时期(雨季)植被覆盖程度不同,差异非常大,植被茂密的

剖面土壤二氧化碳气体主要来源于根系呼吸（80%），而植被稀疏的剖面土壤二氧化碳气体主要来源于微生物分解作用（68%），深部土壤中的二氧化碳主要来源于表层0~20 cm土壤有机碳的分解 (丁平 et al., 2010)。

3.2 土壤微生物碳动态

PLFA的 ^{13}C 示踪已广泛应用于实验室培养实验中微生物对外源添加物的代谢特性研究中，包括有毒底物、有机物料以及葡萄糖碳等等 (宋斗妍 et al., 2008)。而PLFA单体的 ^{13}C 自然丰度目前最直接的指示意义就是可以区分不同微生物植物碳源是来自 C_3 或 C_4 植被，因此通常被用于 C_3 - C_4 植被演替下耕作土壤微生物的研究中，用于指示短期内植被改变后不同微生物对植物碳代谢的变化 (Balesdent et al., 1987; Boschker et al., 1998; Kramer and Gleixner, 2006)。如Kramer等在对两个经历了植被演替的农田土壤中PLFA的 ^{13}C 的自然偏移程度调查后发现，40-90%的微生物碳源在作物变化后发生了改变，微生物更多的利用新植被作为碳源 (Kramer and Gleixner, 2006)。而由于野外土壤生态系统中植被演替时间尺度较大，生物标志物的 ^{13}C 自然丰度示踪受限于其比较窄的变化范围 (Faure, 1978)，必然不能对微生物碳动态予以很好的指示变化。相反的，土壤PLFA单体的 ^{14}C 的自然丰度分布特征，可以表征长时间尺度以及在大范围空间内比较微生物新老碳源，并在平衡态生态系统中估算不同微生物碳的周转速率 (Yevdokimov et al., 2013)。如同样在 C_3 - C_4 植被演替系统的研究中，Kramer等对土壤微生物单体PLFA的测定不仅发现植被更替后微生物在植物碳源利用中的转变，还发现微生物对变化尺度较大的土壤有机碳中新碳的利用率为0-40%。此外，格兰仕阳性菌与阴性菌对植物碳和土壤碳的优先利用状态相反 (Kramer and Gleixner, 2006)。目前，利用PLFA单体 ^{14}C 的自然丰度指示土壤微生物碳动态的研究在国内外还未普及，主要由于单体PLFA的 ^{14}C 测定所需苛刻的前处理技术和加速器质谱高昂的测定费用限制所导致。从个别已有的利用单体PLFA的 ^{14}C 自然丰度分析在土壤生态系统中开展的研究来看，对大尺度时间范围内的微生物碳动态的监测 (Kramer et al., 2010)以及在大空间范围内极端生态环境中微生物碳动态的比较 (Rethemeyer et al., 2005)都已经得到了很好的应用。

4.结语

碳同位素自然丰度分析是随仪器分析技术的进步，顺应人类历史发展造就环境优势所发展起来的新技术，将成为土壤生态系统中碳循环研究的有利工具。近年来随着大气中过量的核爆¹⁴C的浓度的下降，¹⁴C自然丰度在生态系统中作为几十年尺度时间范围内碳源的天然示踪因子会逐渐失效，应抓住机遇尽早开展研究。而在大尺度时间范围内开展土壤碳动态的研究时，应利用碳同位素自然丰度在环境变化中指示灵敏的优势，对大空间范围内土壤剖面，尤其认识缺乏的深层土壤碳动态开展长期生态学实验研究。

参考文献

- Abraham, W.R., Hesse, C., Pelz, O., 1998. Ratios of carbon isotopes in microbial lipids as an indicator of substrate usage. *Applied & Environmental Microbiology* 64(11), 4202-4209.
- Agnelli, A., Trumbore, S.E., Corti, G., Ugolini, F.C., 2010. The dynamics of organic matter in rock fragments in soil investigated by ¹⁴C dating and measurements of ¹³C. *European Journal of Soil Science* 53(1), 147-159.
- Ahad, J.M.E., Pakdel, H., 2013. Direct evaluation of in situ biodegradation in Athabasca oil sands tailings ponds using natural abundance radiocarbon. *Environmental Science & Technology* 47(18), 10214-10222.
- Amundson, R., Jenny, H., 1997. On a state factor model of ecosystems. *Bioscience* 47(8), 536-543.
- Balesdent, J., Mariotti, A., Guillet, B., 1987. Natural ¹³C abundance as a tracer for studies of soil organic matter dynamics. *Soil Biology & Biochemistry* 19(1), 25-30.
- Bazzaz, F.A., 1990. The Response of Natural Ecosystems to the Rising Global CO₂ Levels. *Annual Review of Ecology and Systematics* 21, 167-196.
- Berg, E.V.D., Reich, P., 1993. Organic carbon in soils of the world. *Soil Sci.soc.am.j* 57(4), 269-273.
- Bird, M.I., Veenendaal, E.M., Lloyd, J.J., 2004. Soil carbon inventories and $\delta^{13}\text{C}$ along a moisture gradient in Botswana. *Global Change Biology* 10(3), 342-349.
- Boschker, H.T.S., Middelburg, J.J., 2002. Stable isotopes and biomarkers in microbial ecology. *FEMS Microbiol. Ecol.* 40(2), 85-95.
- Boschker, H.T.S., Nold, S.C., Wellsbury, P., Bos, D., de Graaf, W., Pel, R., Parkes, R.J., Cappenberg, T.E., 1998. Direct linking of microbial populations to specific biogeochemical processes by C-13-labelling of biomarkers. *Nature* 392(6678), 801-805.
- Campbell, C.A., Paul, E.A., Rennie, D.A., Mccallum, K.J., 1967. Applicability of the Carbon-Dating Method of Analysis to Soil Humus Studies. *Soil Science* 104(3), 217-224.
- Carbone, M.S., Czimczik, C.I., Mcduffee, K.E., Trumbore, S.E., 2010. Allocation and residence time of photosynthetic products in a boreal forest using a low-level ¹⁴C pulse-chase labeling technique. *Global Change Biology* 13(2), 466-477.

- Cowie, B.R., Greenberg, B.M., Slater, G.F., 2010. Determination of microbial carbon sources and cycling during remediation of petroleum hydrocarbon impacted soil using natural abundance C-14 analysis of PLFA. *Environmental Science & Technology* 44(7), 2322-2327.
- Czimczik, C.I., Treseder, K.K., Carbone, M.S., Trumbore, S.E., 2005. Radiocarbon--a low-impact tool to study nutrient transport by soil fungi under field conditions. *New Phytologist* 166(2), 595-600.
- De Camargo, P.B., Trumbore, S.E., Martinelli, L.A., Davidson, E.A., Nepstad, D.C., Victoria, R.L., 1999. Soil carbon dynamics in regrowing forest of eastern Amazonia. *Global Change Biology* 5(6), 693-702.
- Del Galdo, I., Six, J., Peressotti, A., Francesca Cotrufo, M., 2003. Assessing the impact of land-use change on soil C sequestration in agricultural soils by means of organic matter fractionation and stable C isotopes. *Global Change Biology* 9(8), 1204-1213.
- Eglinton, T.I., BenitezNelson, B.C., Pearson, A., McNichol, A.P., Bauer, J.E., Druffel, E.R.M., 1997. Variability in radiocarbon ages of individual organic compounds from marine sediments. *Science* 277(5327), 796-799.
- Faure, G., 1978. Principles of isotope geology. *Earth Science Reviews* 14(2), 190-191.
- Fernandez, I.J., Son, Y., Kraske, C.R., Rustad, L.E., David, M.B., 1993. Soil Carbon Dioxide Characteristics under Different Forest Types and after Harvest. *Soil Science Society of America Journal* 57(4), 1115-1121.
- Frostegård, Å., Tunlid, A., Bååth, E., 1991. Microbial biomass measured as total lipid phosphate in soils of different organic content. *Journal of Microbiological Methods* 14(3), 151-163.
- Fung, I., Field, C.B., Berry, J.A., Thompson, M.V., Randerson, J.T., Malmstrom, C.M., Vitousek, P.M., Collatz, G.J., Sellers, P.J., Randall, D.A., 1997. Carbon 13 exchanges between the atmosphere and biosphere. *Global Biogeochemical Cycles* 11(4), 507-533.
- Gleixner, G., Bol, R., Balesdent, J., 1999. Molecular insight into soil carbon turnover. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 13(13), 1278.
- Gleixner, G., Kramer, C., Hahn, V., Sachse, D., 2005. The effect of biodiversity on carbon storage in soils. *Ecological Studies* 176(2005), 165-183.
- Gleixner, G., Poirier, N., Bol, R., Balesdent, J., Largeau, C., Lichtfouse, E., 2002. Molecular dynamics of organic matter in a cultivated soil. *Org. Geochem.* 33(3), 357-366.
- Hanson, J.R., Macalady, J.L., Harris, D., Scow, K.M., 1999. Linking toluene degradation with specific microbial populations in soil. *Applied & Environmental Microbiology* 65(12), 5403-5408.
- Hanson, P.J., Edwards, N.T., Garten, C.T., Andrews, J.A., 2000. Separating root and soil microbial contributions to soil respiration: A review of methods and observations. *Biogeochemistry* 48(1), 115-146.
- Hanson, P.J., Swanston, C.W., Garten, C.T., Todd, D.E., Trumbore, S.E., 2005. Reconciling Change in Oi-Horizon ¹⁴C With Mass Loss for an Oak Forest. *Soil Science Society of America Journal* 69(5), 1492-1502.
- Harkness, D.D., Harrison, A.F., Bacon, P.J., 1986. The Temporal Distribution of 'Bomb' ¹⁴C in a Forest Soil. *Radiocarbon* 28.
- IPCC, 2000. Land use, land-use change and forestry, Cambridge University Press, UK.
- IPCC, 2007. Changes in atmospheric constituents and radiative forcing; Observations: Changes in Snow, Ice and Frozen Ground; Observations: Ocean Climate Change and Sea Level. 129,337,385.

- Jenkinson, D.S., Rayner, J.H., 1977. The Turnover of Soil Organic Matter in Some of the Rothamsted Classical Experiments. *Soil Science* 123(5), 298-305.
- Jin, Z., Guo, L., Fan, B.H., Lin, H., Yu, Y.L., Zheng, H., Chu, G.C., Zhang, J., Hopkins, I., 2019. Effects of afforestation on soil and ambient air temperature in a pair of catchments on the Chinese loess plateau. *Catena* 175, 356-366.
- Jobbágy, E.G., Jackson, R.B., 2000. The vertical distribution of soil organic carbon and its relation to climate and vegetation. *Ecological Applications* 10(2), 423-436.
- Koch, G.W., Mooney, H., 1996. Response of Terrestrial Ecosystems to Elevated CO₂: A Synthesis and Summary. *Carbon Dioxide and Terrestrial Ecosystems*.
- Kramer, C., Gleixner, G., 2006. Variable use of plant- and soil-derived carbon by microorganisms in agricultural soils. *Soil Biology & Biochemistry* 38(11), 3267-3278.
- Kramer, C., Gleixner, G., 2008. Soil organic matter in soil depth profiles: Distinct carbon preferences of microbial groups during carbon transformation. *Soil Biology & Biochemistry* 40(2), 425-433.
- Kramer, C., Trumbore, S., Fröberg, M., Dozal, L.M.C., Zhang, D.C., Xu, X.M., Santos, G.M., Hanson, P.J., 2010. Recent (<4 year old) leaf litter is not a major source of microbial carbon in a temperate forest mineral soil. *Soil Biology and Biochemistry* 42(7), 1028-1037.
- Levin, I., Hesshaimer, V., 2000. Radiocarbon – A Unique Tracer of Global Carbon Cycle Dynamics. *Radiocarbon* 42(1), 69-80.
- Li, W., 2016. Grazing management influence on soil C and N stock of alpine meadows and plants. (Doctoral dissertation), Gansu Agriculture University.
- Li, X., Mei, Z., Xiang, D., Edgerton, E.S., Reddy, C.M., 2012. Modern and fossil contributions to polycyclic aromatic hydrocarbons in PM_{2.5} from North Birmingham, Alabama in the southeastern U.S. *Environmental Science & Technology* 46(3), 1422.
- Lungmuana, Choudhury, B.U., Saha, S., Singh, S.B., Das, A., Buragohain, J., Dayal, V., Singh, A.R., Boopathi, T., Dutta, S.K., 2018. Impact of postburn jhum agriculture on soil carbon pools in the north-eastern Himalayan region of India. *Soil Res.* 56(6), 615-622.
- Mahmoudi, N., Porter, T.M., Zimmerman, A.R., Fulthorpe, R.R., Kasozi, G.N., Silliman, B.R., Slater, G.F., 2013. Rapid degradation of deepwater horizon spilled oil by indigenous microbial communities in Louisiana saltmarsh sediments. *Environmental Science & Technology* 47(23), 13303-13312.
- Mills, C.T., Slater, G.F., Dias, R.F., Carr, S.A., Reddy, C.M., Schmidt, R., Mandernack, K.W., 2013. The relative contribution of methanotrophs to microbial communities and carbon cycling in soil overlying a coal-bed methane seep. *FEMS Microbiol. Ecol.* 84(3), 474-494.
- O'Brien, B.J., Stout, J.D., 1978. Movement and turnover of soil organic matter as indicated by carbon isotope measurements. *Soil Biology & Biochemistry* 10(4), 309-317.
- Parton, W.J., Schimel, D.S., Cole, C.V., Ojima, D.S., 1987. Analysis of Factors Controlling Soil Organic Matter Levels in Great Plains Grasslands. *Soil Sci.soc.am.j* 51(5), 1173-1179.
- Paul, K.I., Polglase, P.J., Nyakuengama, J.G., Khanna, P.K., 2002. Change in soil carbon following afforestation. *Forest Ecology and Management* 168(1), 241-257.
- Pessenda, L.C.R., Gouveia, S.E.M., Aravena, R., 2001. Radiocarbon dating of total soil organic matter and humin fraction and its comparison with ¹⁴C ages of fossil charcoal. *Radiocarbon* 43(6), 595-601.
- Rahman, N., de Neergaard, A., Magid, J., van de Ven, G., Giller, K.E., Bruun, T.B., 2018. Changes in soil organic carbon stocks after conversion from forest to oil palm plantations in Malaysian Borneo. *Environ. Res. Lett.* 13(10), 10.

- Rethemeyer, J., Kramer, C., Gleixner, G., John, B., Yamashita, T., Flessa, H., Andersen, N., Nadeau, M.J., Grootes, P.M., 2005. Transformation of organic matter in agricultural soils: radiocarbon concentration versus soil depth. *Geoderma* 128(1-2), 94-105.
- Slater, G.F., Nelson, R.K., Kile, B.M., Reddy, C.M., 2006. Intrinsic bacterial biodegradation of petroleum contamination demonstrated in situ using natural abundance, molecular-level C-14 analysis. *Org. Geochem.* 37(9), 981-989.
- Slater, G.F., White, H.K., Eglinton, T.I., Reddy, C.M., 2005. Determination of microbial carbon sources in petroleum contaminated sediments using molecular C-14 analysis. *Environmental Science & Technology* 39(8), 2552-2558.
- Thompson, M.V., Randerson, J.T., Malmström, C.M., Field, C.B., 1996. Change in net primary production and heterotrophic respiration: How much is necessary to sustain the terrestrial carbon sink? *Global Biogeochemical Cycles* 10(4), 711-726.
- Torn, M.S., Swanston, C.W., Castanha, C., Trumbore, S.E., 2009. Storage and turnover of organic matter in soil. John Wiley & Sons, Inc.
- Torn, M.S., Trumbore, S.E., Chadwick, O.A., Vitousek, P.M., Hendricks, D.M., 1997. Mineral control of soil organic carbon storage and turnover. *Nature* 389(6647), 170-173.
- Townsend, A.R., Vitousek, P.M., Trumbore, S.E., 1995. Soil Organic Matter Dynamics Along Gradients in Temperature and Land Use on the Island of Hawaii. *Ecology* 76(3), 721-733.
- Trumbore, S.E., 1993. Comparison of carbon dynamics in tropical and temperate soils using radiocarbon measurements. *Global Biogeochemical Cycles* 7(2), 275-290.
- Trumbore, S.E., 2000. Age of soil organic matter and soil respiration: radiocarbon constraints on belowground C dynamics. *Ecological Applications* 10(2), 399-411.
- Trumbore, S.E., 2006. Carbon respired by terrestrial ecosystems - recent progress and challenges. *Global Change Biology* 12(2), 141-153.
- Trumbore, S.E., 2009. Radiocarbon and soil carbon dynamics. *Annu Rev Earth PI Sc* 37, 47-66.
- Trumbore, S.E., Harden, J.W., 1997. Accumulation and turnover of carbon in organic and mineral soils of the BOREAS northern study area. *Journal of Geophysical Research Atmospheres* 102(D24), 28817-28830.
- Trumbore, S.E., Vogel, J.S., Southon, J.R., 1989. AMS 14C Measurements of fractionated Soil Organic Matter: An Approach to Deciphering the Soil Carbon Cycle. *Radiocarbon* 31(3), 644-654.
- Uchikawa, J., Zeebe, R.E., 2008. Influence of terrestrial weathering on future ocean acidification. *Geophysical Research Letters* 35(23), 383-388.
- Veresoglou, S.D., Liu, L., Xu, T.L., Rillig, M.C., Wang, M., Wang, J.T., Chen, Y.L., Hu, Y.J., Hao, Z.P., Chen, B.D., 2019. Biogeographical constraints in glomeromycotinan distribution across forest habitats in China. *Journal Of Ecology* 107(2), 684-695.
- Wang, J.S., Sun, J., Yu, Z., Li, Y., Tian, D.S., Wang, B.X., Li, Z.L., Niu, S.L., 2019. Vegetation type controls root turnover in global grasslands. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 28(4), 442-455.
- Wang, Y., Hsieh, Y.-P., 2002. Uncertainties and novel prospects in the study of the soil carbon dynamics. *Chemosphere* 49(8), 791-804.
- Xu, J.C., Zhang, Y., Gao, H.P., Jin, X.W., 2013. The impact of different ways of grassland use on soil carbon sequestration in typical areas of Inner Mongolia. *China Land Sciences* 27(09), 51-55.
- Yevdokimov, I.V., Larionova, A.A., Stulin, A.F., 2013. Turnover of "new" and "old" carbon in soil microbial biomass. *Microbiology* 82(4), 505-516.

Zelles, L., 1999. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review. *Biol.fertil.soils* 29(2), 111-129.

Zhigang, Y., Shenglei, F., Weimin, Y., Guoyi, Z., Jiangming, M., Deqiang, Z., Mingmao, D., Xinming, W., Lixia, Z., 2007. Partitioning soil respiration of subtropical forests with different successional stages in south China. *Forest Ecology & Management* 243(2), 178-186.

丁平, 沈承德, 王宁, 易惟熙, 丁杏芳, 付东坡, 刘克新, 赵平, 2010. 鼎湖山季风常绿阔叶林土壤CO₂气体碳同位素组成、更新特征及来源比例. *科学通报* 55(9), 779-787.

沈承德, 易惟熙, 孙彦敏, 邢长平, 杨英, 彭少麟, 李志安, 2000. 鼎湖山森林土壤¹⁴C表观年龄及 $\delta^{13}\text{C}$ 分布特征. *第四纪研究* 20(4), 335-344.

宋斗妍, 白震, 何红波, 张旭东, 解宏图, 郑立臣, 2008. PLFAs稳定同位素技术及其在土壤微生物学中的应用. *土壤通报* (06), 1475-1479.

易志刚, 蚁伟民, 丁明懋, 周丽霞, 张德强, 王新明, 2006. 鼎湖山自然保护区土壤有机碳、微生物生物量碳和土壤CO₂浓度垂直分布. *生态环境学报* 15(3), 611-615.

于贵瑞, 王绍强, 陈泮勤, 李庆康, 2005. 碳同位素技术在土壤碳循环研究中的应用. *地球科学进展* (05), 568-577.