

分类号\_\_\_\_\_

密级\_\_\_\_\_

U D C\_\_\_\_\_

编号\_\_\_\_\_

**中国科学院地球化学研究所**  
**博士后 研究工作 报告**

氨基酸的氮同位素值示踪大气氮沉降的来源

---

朱仁果

工作完成日期 2013 年 12 月—2019 年 11 月

报告提交日期 2019 年 11 月

中国科学院地球化学研究所

2019 年 11 月

## 内 容 摘 要

本文研究工作围绕以下三个方面的内容展开:首先,收集了细叶小羽藓样品。测定样品中的游离氨基酸(FAA)的浓度和游离氨基酸单体的同位素组成( $\delta^{15}\text{N}_{\text{FAA}}$ ),并将其与苔藓组织中总氮浓度和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 值进行比较,探讨是否能用高度变化的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{FAA}}$ 值示踪大气氮源。其次,测定了不同来源释放的游离甘氨酸( $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$ )的氮同位素组成用于探讨 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$ 值是否可用于示踪气溶胶的来源。并测定了于都森林中大气总悬浮颗粒物(TSP)中的游离Gly的浓度和其 $\delta^{15}\text{N}$ 值。然后,将于都森林气溶胶中的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$ 值与火点数据以及气溶胶中的 $\text{K}^+$ (传统的生物质燃烧示踪分子)含量进行比较。最后,测定了南昌区域5个采样点PM2.5中游离氨基酸和结合氨基酸的浓度、占比和甘氨酸的氮同位素值,用于探讨南昌区域游离氨基酸的来源和甘氨酸在大气转化过程中可能的分馏。本文的主要结论是:

1. 苔藓组织中TFAA浓度加权的平均氮同位素值和总N同位素值很接近。氨基酸代谢过程中氮同位素分馏是平衡的,也就是说 $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}} \approx \delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}} \approx \delta^{15}\text{N}_{\text{source}}$ 。
2. 苔藓组织中游离谷氨酸、丙氨酸和赖氨酸的代谢过程氮同位素分馏很小,因此苔藓组织中 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}$ ,  $\delta^{15}\text{N}_{\text{Ala}}$ 和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Lys}}$ 值可以有效的示踪大气氮沉降源。
3. 生物质燃烧释放的游离甘氨酸氮同位素值(+16.9‰~+27.3‰)比自然源中游离甘氨酸氮同位素值显著偏正(高达21‰)。这为利用气溶胶中 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$ 值示踪生物质燃烧源提供了基础。
4. 烟煤燃烧和机动车尾气不会释放游离Gly
5. 于都森林气溶胶中游离甘氨酸和火点数量的时间规律性一致。并且 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$ 值和非海源钾离子浓度有很好的相关性,进一步证明气溶胶中 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$ 是示踪值生物质燃烧有效工具。
6. 气溶胶中结合态氨基酸的百分比组成能反映当地新鲜释放的生物气溶胶颗粒源。
7. 大气中的光化学氧化过程会改变气溶胶有游离氨基酸的百分比组成,使游离Gly成为占比最高的游离氨基酸。
8. 大气过程由蛋白质多肽转(CAA)化为游离甘氨酸过程的氮同位素分馏很小。
9. 下雨天雨水会促进生物质气溶胶的释放。

**关键词:** 氨基酸, 甘氨酸, 大气, 氮同位素, 生物质燃烧

**Abstract**

This paper focuses on the following three aspects: firstly, Free amino acids (FAAs) concentrations and  $\delta^{15}\text{N}_{\text{FAAs}}$  values were determined and compared to the bulk N concentrations and N isotope compositions ( $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ ) in mosses (*Haplocladium microphyllum*) sampled in Nanchang (China), aiming at revealing how to use strongly variable  $\delta^{15}\text{N}_{\text{FAAs}}$  in moss tissues to indicate atmospheric N source. Secondly, the nitrogen isotope composition of free glycine ( $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$ ) in atmospheric particulates from different sources was measured to explore whether  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  can be used to indicate the sources of particulates. Furthermore, the free Gly levels and  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  values of total suspended particles (TSP) collected in the Yudu forest are analyzed. Then, the  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  values in Yudu forest aerosol are compared with the date of the fire point and the  $\text{K}^+$  levels, which is used to indicate biomass burning. Lastly, concentrations, distributions of each individual amino acids (as CAA and FAA) in PM<sub>2.5</sub> collected in Nanchang area (southeast China) and compared with those in emission sources collected in surrounding environment. Furthermore,  $\delta^{15}\text{N}$  values of free and combined Gly in PM<sub>2.5</sub> and emission sources were measured to explore the sources of CAAs and FAAs in PM<sub>2.5</sub> and the possible nitrogen fractionation occurred in the transformation from combined Gly to free Gly. Main conclusion can be summarized as follows:

- A nitrogen isotope balance exists in amino acids metabolism and there is little isotope disparity between concentration-weighted TFAA and bulk N.  $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}} \approx \delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}} \approx \delta^{15}\text{N}_{\text{Source}}$ .
- Low isotope fractionation accompanied with Glu, Ala and Lys metabolic pathway, suggesting that  $\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}$ ,  $\delta^{15}\text{N}_{\text{Ala}}$  and  $\delta^{15}\text{N}_{\text{Lys}}$  in moss can effectively indicate the source of atmospheric N deposition.
- The  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  released by biomass combustion (range: +16.9 to +27.3‰) was significantly higher than that from natural sources (up to 21.6‰). These results provided the basis for using the  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  values in aerosol to identify biomass combustion.
- The concentration of free Gly in particulates released from fossil fuel combustion (bituminite combustion and vehicle emission) was very low.

- The same temporal pattern with fire points and a link between the  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  values and  $\text{nss-K}^+$  levels was found. These results further confirmed that the  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  value in aerosol is a good indicator for biomass burning.
- CAA in aerosols may reflect the sources of fresh bioparticles proteins emitted locally.
- Photooxidative processes occurring in the atmosphere may lead to substantial modification of the FAA distributions.
- Isotope effect associated with Gly transformation in aerosols may small.
- Bioparticles could be released by droplets.

**Keywords: amino acids, glycine, atmosphere, nitrogen isotope, biomass burning.**

# 目录

第一章 绪论.....	1
1.1 植物组织中氨基酸的合成和代谢.....	1
1.2 植物组织中游离氨基酸对环境氮的响应.....	4
1.3 植物组织中游离氨基酸氮同位素示踪环境氮源.....	8
1.4 大气中的氨基酸.....	10
1.5 甘氨酸氮同位素值示踪大气颗粒物来源.....	12
第二章 苔藓中游离氨基酸 $\delta^{15}\text{N}$ 组成示踪大气氮源.....	14
2.1 材料与方法.....	14
2.1.1 样品收集和处理.....	14
2.1.2 总 N 和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 分析.....	14
2.1.3 FAA 的提取、纯化和衍生化.....	15
2.1.4 确定氨基酸浓度和 $\delta^{15}\text{N}$ 值.....	16
2.1.5 统计分析.....	18
2.2 结果.....	19
2.2.1 总的氮浓度和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ .....	19
2.2.2 FAA 浓度.....	20
2.2.3 单个 FAAs 中 $\delta^{15}\text{N}$ 值 ( $\delta^{15}\text{N}_{\text{FAA}}$ ) .....	24
2.2.4 TFAA 的浓度加权平均 $\delta^{15}\text{N}$ 值 ( $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}}$ ) .....	25
2.2.5 FAA 单体相对于 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 值的分馏.....	25
2.2.6 $\delta^{15}\text{N}_{\text{FAA}}$ 、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}}$ 之间的 spearman 相关性.....	27
2.3 讨论.....	29
2.4 结论.....	32
第三章 气溶胶中游离 Gly 的氮同位素组成.....	34
3.1 样品采集.....	34
3.1.1 TSP 样品收集.....	34
3.1.2 植物收集.....	34
3.1.3 土壤收集.....	34
3.1.4 生物质燃烧排放.....	34
3.1.5 厨房油烟.....	35
3.1.6 煤的燃烧排放.....	35
3.1.7 车辆排放.....	35
3.2 AA 浓度和同位素分析.....	35
3.3 其他化学成分分析.....	39
3.4 统计分析.....	39
3.5 结果.....	39
3.5.1 主要排放源的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$ 值.....	39
3.5.2 气溶胶中的游离甘氨酸.....	42
3.6 讨论.....	44
3.6.1 与生物质燃烧相关的 Gly 的氮同位素分馏.....	44
3.6.2 与烹饪相关的 Gly 的氮同位素分馏.....	49

3.6.3 化石燃料燃烧释放的游离甘氨酸.....	49
3.6.4 使用游离 Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$ 值识别生物质燃烧.....	50
3.7 结论.....	51
第四章 PM2.5 中蛋白质和游离氨基酸的来源与转化.....	52
4.1 材料和方法.....	52
4.1.1 采样地点和样品采集.....	52
4.1.2 气象信息和空气质量数据.....	53
4.1.3 后向轨迹和火点.....	53
4.1.4 样品制备和化学分析.....	53
4.1.5 FAA 分析的提取.....	53
4.1.6 CAA 的水解.....	54
4.1.7 标准溶液.....	54
4.1.8 AA 浓度分析.....	54
4.1.9 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Gly}}$ 值的分析.....	56
4.2 贝叶斯模型计算源贡献.....	56
4.3 统计分析.....	57
4.4 结果.....	57
4.4.1 PM2.5 中氨基酸的主要释放源.....	57
4.4.2 PM2.5 中 AAs 的浓度、分布和 $\delta^{15}\text{N}$ 组成.....	62
4.4.3 PM2.5 中 $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$ 和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$ 值之间的相关性.....	67
4.5 讨论.....	71
4.5.1 大气中 CAAs 的自然源.....	71
4.5.2 大气中 FAAs 的自然源与转化.....	72
4.5.3 大气中 Gly 转化与氮分馏.....	79
4.5.4 生物质燃烧中 CAAs 和 FAAs 的转化.....	79
4.5.5 雨季生物质颗粒的释放.....	81
4.6 结论.....	83
参考文献.....	85
致谢.....	96

## 第一章 绪论

氨基酸 (amino acid) 是同时含有氨基和羧基的一类有机化合物的通称。生物功能大分子蛋白质的基本组成单位。迄今为止,自然界中已发现 180 多种氨基酸,其中能参与蛋白质合成的氨基酸只有 20 多种。此外在某些蛋白质中还寻在若干种不常见的氨基酸,它们都是在已合成的肽链上由常见的氨基酸经专一酶催化的化学修饰转化而来的。这些氨基酸不参与蛋白质合成的,被称为非蛋白质氨基酸 (王镜岩 et al., 2002)。

各种氨基酸的区别就在于侧链 R 基的不同,常见的 20 种氨基酸按 R 基的化学结构可以分为脂肪族、芳香族和杂环族三类,其中以脂肪族氨基酸为最多。脂肪族氨基酸包括中性氨基酸、含羟基或硫氨基酸、酸性氨基酸和酰胺以及碱性氨基酸;芳香族氨基酸包括含有苯环的苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸;杂环氨基酸包括组氨酸和脯氨酸(表 1)。按 R 基的极性性质,20 种常见蛋白质氨基酸可以分为以下四组:(1)非极性 R 基氨基酸;(2)不带电荷的极性 R 基氨基酸;(3)带正电荷的 R 基氨基酸;(4)带负电荷的 R 基氨基酸。

氨基酸在植物中主要有两种存在形式,一种是以游离态存在,另一种是以结合态存在于肽和蛋白质中。作为小分子,氨基酸对生物大分子的活性及其生理功能起着极为重要的作用。

### 1.1 植物组织中氨基酸的合成和代谢

氮是植物生长必需的大量元素,也是陆地植物生长主要的限制性营养元素,通过大气氮沉降或人为施氮而引起的可利用性氮的增加,必然会引起植物对氮的吸收增加进而在体内含氮化合物发生积累。植物吸收无机氮包括硝酸盐、铵离子、氨气、或者固氮菌固定空气中的氮气并且在特殊土壤组成中植物能吸收氨基酸。除此之外植物还能吸收大气中的氮。大气氮 ( $\text{HNO}_3$ 、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NH}_3$ 、 $\text{NO}_3^-$ ) 可以通过 2 种方式进入植物:表皮扩散和气孔吸收。但是由于大气含氮化合物的亲水性,主要通过气孔扩散吸收氮而不是通过光滑疏水的表皮。

表 1. 20 种蛋白质氨基酸的化学结构及其分类

Table 1. Classification and chemical structure of 20 protein amino acid

氨基酸名称	缩写	分子式
<b>脂肪族氨基酸</b>		
甘氨酸 (glycine)	Gly	$\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$
丙氨酸 (alanine)	Ala	$\text{CH}_3\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$
缬氨酸 (valine)	Val	$\text{CH}_3\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$
亮氨酸 (leucine)	Leu	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$
异亮氨酸 (isoleucine)	Ile	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$
<b>含羟基或硫氨基酸</b>		
丝氨酸 (serine)	Ser	$\text{CH}_2\text{OHCH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$
苏氨酸 (threonine)	Thr	$\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$
半胱氨酸 (cysteine)	Cys	$\text{HSCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$
甲硫氨酸 (methionine)	Met	$\text{CH}_3\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$
<b>酸性氨基酸及其酰胺</b>		
天冬氨酸 (aspartic acid)	Asp	$\text{HOOCCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$
谷氨酸 (glutamic acid)	Glu	$\text{COOHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$
天冬酰胺 (asparagine)	Asn	$\text{H}_2\text{NCOCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$
谷氨酰胺 (glutamine)	Gln	$\text{H}_2\text{NCOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$
<b>碱性氨基酸</b>		
赖氨酸 (lysine)	Lys	$\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$
精氨酸 (arginine)	Arg	$(\text{H}_2\text{N})_2\text{CNHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$
<b>芳香族氨基酸</b>		
苯丙氨酸 (phenylalanine)	Phe	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$
酪氨酸 (tyrosine)	Tyr	$\text{HOC}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$
色氨酸 (tryptophan)	Trp	$\text{C}_6\text{H}_4\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$
<b>杂环族氨基酸</b>		
组氨酸 (histidine)	His	$\text{CHNCHC}(\text{NH})\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$
脯氨酸 (proline)	Pro	$\text{HNCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{HCOOH}$

根据含氮化合物的性质不同, 当其进入植物后, 会经过一系列的酶促过程。植物吸收的硝态氮需要被还原成氨后再同化为氨基酸。硝酸盐的还原在根和枝条中都会发生。硝酸盐的同化主要通过 2 步的还原作用, 在细胞质中发生硝酸盐的还原, 而叶绿体中发生亚硝酸盐的还原。硝酸盐通过硝酸盐还原酶(NR)还原为亚硝酸盐。尽管硝酸盐还原酶被认为存在于细胞质中的细胞质膜上, 但是现在玉米的根和大麦中也被发现。硝酸盐还原酶对氧化态氮化合物进入植物体内的合成很重要。但是研究表明硝酸盐还原酶的活性不能直接用于指示在美国东部森林和美国西部森林的大气氮沉降。但是硝酸盐还原酶还原大气氧化态氮的主要产物氨基

酸能用于指示大气氮沉降(Calanni et al., 1999)。

硝酸盐还原后,亚硝酸盐传输到叶绿体中被亚硝酸还原酶(NiR)还原为氨(图1)。硝酸蒸汽也是通过相似的方式还原,但最初的步骤有区别,要先将 $\text{HNO}_3$ 蒸汽解离成 $\text{NO}_3^-$ 然后再还原(Yoneyama et al., 1984)。一旦铵盐离子在细胞中形成,他们会很快的转变成其它形式的氮(如氨基酸)用于避免毒性(Baxter et al., 1992)。

由硝酸盐还原的氨,以及光呼吸和氨基酸再循环产生的氨,在色素体和叶绿体中同化成氨基酸过程被称作GS/GOGAT循环(图1)(Tcherkez, 2011)。这个循环需要通过2个酶系统分别是:谷氨酰胺合成酶(GS)和谷氨酸合成酶(GOGAT)。谷氨酰胺合成酶(GS)将氨固定在谷氨酸分子上形成谷氨酰胺,反应产生的谷氨酰胺和 $\alpha$ -酮戊二酸形成2分子的谷氨酸,其中一个重新循环作为GS的基质,而另一个用于形成其它的氨基酸。其它的氨基酸通过包括 $\alpha$ -氧化-酸的转氨过程形成,这个过程由谷氨酸合成酶(GOGAT)催化。谷氨酰胺合成酶有2种,一种是叶绿体中的谷氨酸合成酶(GS2)用于同化硝酸盐还原作用和光呼吸产生的氨;另一种是细胞质中的谷氨酸合成酶(GS1),该酶存在于不同的组织中如根和茎中并且参与了氨的再循环,如叶片衰老和在韧皮部的传输(Bernard and Habash, 2009)。植物中谷氨酸合成酶(GOGAT)也有2种形态分别是Fd-GOGAT和NADH-GOGAT, Fd-GOGAT用铁氧化还原蛋白作为电子供体,而NADH-GOGAT用NADH作为电子供体(Vanoni and Curti, 2005)。Fd-GOGAT主要存在于叶片叶绿体中而NADH-GOGAT主要存在于非光合作用的组织的质体,如根部,发黄的叶片组织以及相邻组织中。

除了谷氨酰胺/谷氨酸循环外,还有3种酶参与了氨的同化。一种是细胞质中的天门冬酰胺合成酶(AS),该酶能催化谷氨酰胺的氨基到一分子的天冬氨酸上形成谷氨酸和天冬酰胺同时天冬酰胺合成酶(AS)也能利用氨作为基质合成天冬酰胺(Masclaux-Daubresse et al., 2006)。天冬酰胺比谷氨酰胺有着高的N/C,可以作为长距离传输和储存化合物,特别是在豆类中(Limpens and Berendse, 2003)。另外,氨基甲酰磷酸合成酶(CPS)能利用磷酸氢盐,ATP,氨和谷氨酰胺的氨基。催化合成氨基甲酰磷酸盐,该化合物在是植物质体中用磷酸氢盐合成瓜氨酸和精氨酸的前体(Potel et al., 2009)。最后一种是线粒体中的NADH-谷氨酸脱氢酶,该酶能在高的氨浓度条件下将氨合成谷氨酸(Skopelitis et al., 2006)。但是,在植

物细胞中的 GDH 的主要催化活性是催化谷氨酸脱氨并且 GDH 的活性对植物在黑暗处生存是很重要。大量不同的植物组织的实验显示, 至少 95%的氮同化成有机形式是通过谷氨酰胺, 也有足够的证据表明谷氨酸脱氢酶在蛋白质氨基酸的代谢中具有重要作用(Tcherkez, 2011)。

可溶性氨基酸是植物氮新陈代谢主要的有机成分。所有的氮的新陈代谢都是通过 Glu-Gln 循环开始(Werner and Schmidt, 2002)。Glu 是许多氨基酸的前体, 如 Pro, Asp, Asn 和 Cit, Arg, Orn 等参加尿素循环的氨基酸。所以研究集中在参加 Glu-Gln 循环和尿素循环的氨基酸。用  $\text{NH}_3$  和  $\text{NO}_2$  或是混合  $\text{O}_3$  和  $\text{SO}_2$  熏蒸, 使总氨基酸含量和每种氨基酸浓度的升高(Baxter et al., 1992; Berg et al., 2008)。在熏蒸实验中 Gln、Glu, 特别是 Arg 的含量升高。用  $^{15}\text{N}$  标记的  $\text{NO}_2(60\text{nl l}^{-1})$  熏蒸 4d 有最高的  $^{15}\text{N}$  丰度的氨基酸是 Glu 和 Gln。这表明  $\text{NO}_2$  作为植物多余的氮源其同化过程通过硝酸盐还原和 Glu-Gln 循环(Nussbaum et al., 1993)。

## 1.2 植物组织中游离氨基酸对环境氮的响应

已有研究应用同位素稀释技术, 对植物用  $^{15}\text{NO}_2$  熏蒸后计算植物中稀释的  $^{15}\text{N}$  含量, 实验结果表明大气中的  $\text{NO}_2$  可以作为植物的氮营养源。植物在受  $\text{NO}_2$  熏蒸后 NR 和 NiR 的活性都在最初的时间段都有所上升(Nussbaum et al., 1993)。5 周大的小麦植物暴露于  $60\text{nl}\cdot\text{l}^{-1}$   $^{15}\text{NO}_2$  的空气中, NR 的活性在开始的 24 小时增加了 30%, 随后开始下降, 到 96 小时小麦叶片中的 NR 活性回落到与暴露于纯化空气中小麦叶片中的 NR 活性相一致。而暴露于  $60\text{nl}\cdot\text{l}^{-1}$   $^{15}\text{NO}_2$  的空气中小麦叶片中的 NiR 活性在开始的 48 小时增加了 100%, 在随后的 24 小时, NiR 的活性也下降到与纯化空气中小麦叶片中的 NiR 活性相一致。 $\text{NO}_2$  仅仅是短暂的进入细胞, 在一个非常有限的时间内来提供叶片的 N 营养。这可能是因为在  $\text{NO}_2$  的熏蒸下, 在几天后, 细胞的孔径会减小, 进而减少  $\text{NO}_2$  进入叶片。

随即植物组织利用熏蒸的  $\text{NO}_2$  合成溶解性游离氨基酸, 来自熏蒸的  $\text{NO}_2$  中的 N 最先合成 Glu, Gln 和 Asn。这些氨基酸用于分配熏蒸实验  $\text{NO}_2$  提供的多余的 N。在暴露于  $60\text{nl}\cdot\text{l}^{-1}$   $^{15}\text{NO}_2$  48h 后溶解性游离氨基酸的总量在所有组织中都升高, 除了 Val, Lys, Phe, Leu 和 Ile 其它的游离氨基酸都受到了影响。在叶子中 52.3% 总游离氨基酸的升高主要来自于叶片最主要的游离氨基酸 Glu。在茎和根中 Asn

和 Gln 的含量显著升高, Asn 成为茎和根主要的溶解性游离氨基酸。叶子中的被标记的  $^{15}\text{N}$  在游离 Gln 和 Glu 的含量最高。在叶子中, 50%被标记的 N 出现在 Glu 中,但在 GABA, Ala, Ser 和 Asp 也有一定的被标记的  $^{15}\text{N}$  在茎和根中被  $^{15}\text{N}$  标记的溶解性游离氨基酸浓度比叶子中显著要低。在茎中 Glu, GABA, Ala, 和 Ser 是优先被标记的氨基酸, 在根中 Glu, GABA 和 Ser 是优先被标记的氨基酸。但是在叶子, 茎和根都没有发现用  $^{15}\text{N}$  标记的 N 合成 Asn。但是被标记的 Asn 在叶, 茎, 根中都没有发现。证明来自  $\text{NO}_2$  的 N 通过 GS 和 GOGAT 途径合成 Gln 和 Glu 在熏蒸实验下, 茎和根中的 Asn 的增加即可能来自于植物中已有的 N 源或是土壤中的 N 源。来自于大气  $\text{NO}_2$  提供的 N 的供给, 植物对其的利用不仅仅与叶片中 N 的新陈代谢有关而且还和整个植物的 N 的营养有关。

在叶片中合成的游离氨基酸可能通过某些游离氨基酸转移到茎和根中。用  $^{15}\text{NO}_2$  熏蒸的叶子中被  $^{15}\text{N}$  标记的溶解性游离氨基酸的浓度在 96 小时比 48 小时要低, 而同时茎和根的被  $^{15}\text{N}$  标记的溶解性游离氨基酸的浓度却增加了。在茎和根中有更多的用  $^{15}\text{N}$  标记的氨基酸出现, 在茎中是 Asp, Gln, 和 Pro, 在根中是 Pro。

增加的  $\text{NO}_3^-$  浓度却能促进植物生长, 高浓度的  $\text{NH}_4^+$  对许多植物都是有毒的 (Baxter et al., 1992)。研究表明物种丰富的草原中的禾本植物喜欢  $\text{NO}_3^-$  作为他们的氮源, 而草本植物和石楠喜欢  $\text{NH}_4^+$  作为它们主要的氮源 (Lipson et al., 1996)。增加的  $\text{NH}_4^+$  浓度会对禾本植物的伤害主要是因为减少了阳基离子的吸收, 导致阳离子的缺乏。不耐酸的植物特别是在缓冲能力差的生态系统中, 在酸化的条件下, 特别容易受到生态系统从  $\text{NO}_3^-$  到  $\text{NH}_4^+$  转变的影响。

来自相对背景区北威尔士的苔藓 (*S. cuspidatum*) 在用  $0.1\text{mM}$   $\text{NH}_4^+$  熏蒸后, 组织的氨基酸浓度有稳步的上升, 在开始的 10 天总游离氨基酸浓度达到  $0.98\text{-}1.75\mu\text{mol mg}^{-1}$ , 从第 10 天到第 15 天, 氨基酸浓度有迅速的上升达到  $3.1\mu\text{mol mg}^{-1}$ , 之后的时间到 20 天氨基酸的浓度迅速的下降。但是还是高于没有熏蒸的苔藓。生长环境氨浓度的增加, 使 Welsh 苔藓组织中的游离氨的浓度在 5~15 天内上升了 2 倍。且苔藓组织中游离 Arg 的浓度有大幅度的增加, 在  $0.01\text{mM}$   $\text{NH}_4^+$  的熏蒸下, N. Wales 的 Arg 浓度在 15 天时增加了 15 倍, 随后下降。*S. Pennine* 组织中的 Arg 浓度, 无论是在空白对照区还是受到氨的熏蒸, 在前 10 天都呈下

降趋势，随后有小幅增加。氨基酸浓度最早的变化是 (Asn+Glu)。苔藓组织的 (Asn+Glu) 在最初的 5 天增加了 3 倍。在 20 天之后落回到与对照区一致。在 S. Pennine 组织中叶可以看到 (Asn+Glu) 的明显增加并且其浓度高于空白对照区的苔藓组织。氨基酸变化范围最大的是 Gln 和 Arg，浓度变化范围最小的是 Gly, Ser, Thr (Baxter et al., 1992)。

叶片的氮含量和叶片中的含氮化合物（非蛋白氮和溶解性氨基酸）可以用于检测植物组织中早期的氮积累。潮湿的森林生态系统只有有限的氮同化和保持能力。植物长期处于氮饱和的环境中植物叶片组织中氮含量会永久的提升；游离氨基酸含量的增加；叶片组织中磷和木质素减少和植物组织中水压增加。研究表明总氮含量小幅上升时，溶解性非蛋白氮 (NPN) 浓度增加的很少。当松针总氮含量低于  $18\text{mg g}^{-1}\text{d.wt}$  时，松树蛋白质的增加而且生长正常。当松针的总氮含量超过了  $19\text{mg g}^{-1}\text{d.wt}$ ，植物开始用可溶性非蛋白（主要为可溶性氨基酸）储存和解毒多余氮(Huhn and Schulz, 1996)。

植物组织中游离氨基酸对环境氮的响应比植物总氮更灵敏。在有氧化态氮存在的情况下，几分钟内硝酸盐还原酶的 mRNA 就会在植物组织中累积。当硝酸盐还原酶和亚硝酸盐还原酶参与到植物的氮代谢中时，氨基酸就能对环境氮做出快速的响应。研究表明在有相似氮沉降量的地区云杉中的游离氨基酸浓度也相当 (Calanni et al., 1999)。瑞士南部的氮沉降量( $4\text{-}7\text{ kgN ha}^{-1}\text{yr}^{-1}$ )和美国科罗拉多州氮沉降量( $4\text{-}8\text{ kgN ha}^{-1}\text{yr}^{-1}$ )相当而瑞士南部挪威云杉中游离氨基酸含量与科罗拉多恩格尔曼云杉针叶中的游离氨基酸含量也一致(Näsholm and Ericsson, 1990)。在对芬兰污染区和非污染区越橘氨基酸的季节性变化研究中，污染区越橘中的游离氨基酸含量和蛋白质含量高于非污染区(Näsholm et al., 1994)。Huhn and Schulz (1996) 研究了德国 3 个不同氮沉降地区(其中 Neuglobsow 是氮污染最轻的地区，Taura 居中，Rosa 是氮污染最严重的地区)欧洲赤松组织中的非蛋白氮含量(NPN 主要为游离氨基酸)和总氮含量，研究发现组织中 NPN 的含量伴随着组织总氮含量变化。Neuglobsow 地区赤松组织有最低的总氮含量  $14\text{mg g}^{-1}$ ，和最低的非蛋白氮含量  $3\text{mg g}^{-1}\text{d.wt}$ ，NPN 占总氮的 19~21%。Taura 地区赤松组织氮含量增加到  $17\text{-}18\text{ mg g}^{-1}$ ，非蛋白氮含量增加到  $3.3\text{ mg g}^{-1}\text{d.wt}$ ，但是占总氮的比例并没有改变。Rosa 地区欧洲赤松中的总氮含量增加到平均将近  $20\text{ mg g}^{-1}$ ，非蛋白氮的

含量增加到  $5 \text{ mg g}^{-1} \text{ d.wt}$ , 占总氮的比例增加到 26%, 说明了在高氮沉降量下松针组织中可溶性氮会发生累积。

Calanni 对恩格尔曼云杉的研究发现精氨酸(Arg), 谷氨酸(Glu)和大气氮通量显著正相关(Calanni et al., 1999)。7 月云杉组织中的游离精氨酸(Arg)和大气  $\text{HNO}_3$  通量显著相关, 但是有 4 个小时的推迟。除了  $\text{HNO}_3$  通量, 成熟树中推迟 4 小时的游离 Arg 浓度还和  $\text{NO}_3^-$  通量,  $\text{NH}_3$  通量 ( $C_p=200 \text{ ng N m}^{-3}$ ), TNFA (总氮通量减去去  $\text{NH}_4^+$  通量) 均显著正相关, 进一步的证明了氨基酸对大气氮通量的良好响应。研究同时发现没有时间推迟的 Arg 含量和大气  $\text{NH}_4^+$  通量显著相关。这说明 Arg 对  $\text{NH}_4^+$  的响应比其它大气氮化合物要快。可能是因为  $\text{NH}_4^+$  同化成氨基酸是不需要经过硝酸盐还原和亚硝酸还原途径, 铵盐进入细胞后可以直接进入 GS/GOGAT 途径合成氨基酸。Calanni 建立了成熟云杉组织中游离精氨酸含量 ( $\mu\text{mol g}^{-1} \text{ DW}$ ) 和 TNFA( $\text{ng N m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ,  $C_p=200 \text{ ng N m}^{-3}$ ) 线性回归方程:  $\text{Arg}=0.22+0.039*\text{TNFA}; p=0.03, r^2=0.45$ 。TNFA 能引起云杉组织中 Arg 含量 45% 的变化而造成 Arg 浓度变化的其它原因必须考虑其它的氮源, 例如土壤来源的氮。用该回归方程能算出 7 月美国科罗拉多州云杉组织中 Arg 的浓度是  $0.44 \mu\text{mol g}^{-1} \text{ DW}$  ( $\text{TNFA}=5.7 \text{ ng N m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) 与有着相似氮沉降量的瑞士南部挪威云杉中 Arg 浓度 ( $0.03\text{-}0.56 \mu\text{mol g}^{-1} \text{ DW}$ ) 相一致(Näsholm and Ericsson, 1990)。但将该方程应用于有着高的氮沉降量的地区时会低估 Arg 浓度, 说明这个方程仅能用于低氮沉降的地区。

美国科罗拉多州 8 月成熟恩格尔曼云杉中的游离 Glu 浓度和大气  $\text{HNO}_3$  通量, TNF, TNFA( $\text{HNO}_3$  是主要的组成) 和大气  $\text{NH}_4^+$  通量在推迟 8 小时后显著相关。而在对 7 月份恩格尔曼云杉幼苗的研究中, Glu 的浓度和  $\text{NH}_4^+$  显著相关而且没有时间的推迟。而幼苗缺少 Arg 的响应这可能是因为幼苗叶片中的 Arg 很快的合成蛋白质用于生长。用 Arg 和大气氮通量的线性回归方程可以计算出在背景区 Arg 的浓度应该是  $0.22 \mu\text{mol g}^{-1} \text{ DW}$ , 而小树中 Arg 浓度的最大值是  $0.19 \mu\text{mol g}^{-1} \text{ DW}$ 。这可能是因为游离 Arg 在云杉幼苗中很快的被用于蛋白质的合成, 用于幼苗的生长, 所以当大气氮沉降增加时, 幼苗中的 Arg 并不积累。所以也无法观测到幼苗中游离 Arg 对于大气氮通量的响应。所以在研究云杉对大气氮沉降量的响应时应选取成熟云杉作为研究对象。

叶子的氮浓度和氮沉降的显著性相关性支持了过去在更大纬度范围(Pitcairn et al., 2003)和不同海拔(Hicks et al., 2000)不同氮沉降中, 利用植物组织氮含量和氮同位素来指示氮沉降量和氮源。在高地和低地生态系统的氮的模拟实验中发现欧石楠的苗长和化学组成都会随着氮沉降量的增加而发生改变。例如在氮沉降增加时, 欧石楠叶片的 N 浓度和 N:P 比增加, C:N 降低(Power and Collins, 2010)。这证明了高等植物指示大气污染的价值, 特别是在城市中环境条件和生境限制了指示生物苔藓植物生存的情况下。

由于高等植物的广泛存在, 除植物组织总氮外, 植物组织中的游离氨基酸也被应用于指示城市从市区到郊区大气氮沉降量的变化。对森林树木(Dijk and Roelofs, 1988), 森林下层林木(Nordin et al., 1998), 欧石楠植物(Power and Collins, 2010), 侧生萌苔藓组织(Pitcairn et al., 2003)中游离氨基酸浓度的研究都发现了植物组织中游离氨基酸(特别是含 N 丰富的氨基酸如 Arg, Asn, Gln)对大气氮沉降的响应。欧石楠叶片中有 7 种游离氨基酸浓度(Asn, Gln, Gly, Phe, Ile, Leu, Lys)与大气氮沉降量显著正相关, 说明欧石楠中组织中的游离氨基酸可以有效指示环境氮负荷。但是并没有发现欧石楠组织中游离 Arg 对大气氮沉降的响应(Power and Collins, 2010)。并且当环境中氮沉降量增加时, 植物组织游离氨基酸浓度增加的比例比组织总氮增加的比例要多。Nordin et al. (1998)对曲芒发草(*Deschampsia flexuosa*)的研究发现在 N 供给增加  $50\text{kg ha}^{-1}\text{yr}^{-1}$  时, 叶片中的氨基酸浓度增加超过 50%, 而叶片组织的总氮含量的增加只有这个比例的一半不到。植物组织中游离氨基酸在指示环境负荷方面比总氮更灵敏。

### 1.3 植物组织中游离氨基酸氮同位素示踪环境氮源

大气中氮的来源可分为自然源和人为源, 不同地区大气氮的来源存在较大的差异。人为来源氮主要包括化石燃料燃烧、氮肥的使用、人兽排泄物的释放。自然来源氮包括土壤挥发、海水蒸发、食物释放、闪电过程、平流层光化学过程和生态系统中的微生物过程。

不同来源的氮有不同的氮同位素范围可以根据该范围示踪氮的来源。大气中的无机氮化合物主要有  $\text{NH}_y$  和  $\text{NO}_x$ 。  $\text{NH}_y$  态氮源的氮同位素组成一般要轻与大气  $\text{NO}_x$  态氮的氮同位素组成(Moore, 1977)。人畜排泄物产生的氨态氮  $\delta^{15}\text{N}$ : -15‰

~ -4‰和煤燃烧释放按态氮 $\delta^{15}\text{N}$ : -7‰ ~ +2‰具有较大的区间跨度, 而氮肥中铵态氮的变化区间则相对较小 ( $\delta^{15}\text{N}$ : -2.56‰~+0.44‰)。自然土壤释放的  $\text{NH}_y$  的氮同位素组成为-5.8‰ ~ -3.3‰。汽车尾气中的  $\text{NO}_x$  的 $\delta^{15}\text{N}$ : -1.8‰ ~ +3.7‰和煤燃烧释放的  $\text{NO}_x$  的 $\delta^{15}\text{N}$ : +6‰ ~ +13‰(Freyer, 1978; HEATON, 1986)相对偏正。通常农业氮源有着低的 $\delta^{15}\text{N}$  值, 而化石燃料燃烧富集重同位素值。在沉降和树冠交换, 微生物转化都会产生同位素的分馏, 必须综合考虑这些因素才能正确了解同位素值。已有越来越多的科学工作者采用氮同位素技术识别不同的大气氮源(Liu et al., 2007)。

植物叶片能够直接吸收大气氮, 指示生长环境的大气氮沉降来源及其影响。已有大量研究通过测定叶片氮含量以及同位素组成, 来寻找地表植被与大气氮沉降之间的关系(Xiao and Liu, 2002)。但是由于大气沉降物形态及沉降形式的复杂性, 加上不同植物的吸收、响应机制不尽相同, 再加上影响植物叶片指示大气沉降的因素很多, 叶片对沉降物的响应, 会由于水分条件和光照条件的差异而发生明显变化, 而乔木类的树冠对大气沉降物质的长期截留吸收也会影响到植物的氮同位素值。因此, 过去的研究主要集中在用苔藓组织氮同位素示踪大气氮源。

在野外研究中发现, FAA 对大气中 N 沉降的敏感性要高于苔藓中的总 N(Huhn and Schulz, 1996; Nordin et al., 1998)。 $^{15}\text{N}$  标记化合物的实验表明, 苔藓吸收的含氮化合物会立即被同化为谷氨酰胺 (Gln), 然后转化为其他 FAAs, 以避免有毒的  $\text{NH}_4^+$ 浓度在细胞中积累(Kahl et al., 1997)。

对于维管植物, 已经发现某些 FAAs 的浓度与大气中 N 沉降之间存在紧密的联系(Näsholm et al., 1994; Power and Collins, 2010; Xu and Xiao, 2017b)。但是, 已经发现在不同的植物物种中会积累不同种类的 FAAs (Berg et al., 2008; Ohlson et al., 1995)。对于苔藓中的 FAA 浓度是否可以用于定量指示 N 沉降以及哪种特定的 FAAs 对大气 N 沉降的响应最灵敏, 目前还尚未清楚。

大气 N 沉降是苔藓的主要氮源, 并且苔藓在大气氮的吸收过程中氮同位素分馏很小(Bragazza et al., 2005; Skudnik et al., 2016)。因此, 苔藓中总 N 同位素组成 ( $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ ) 已经被用来指示 N 沉降的主要来源(Boltersdorf and Werner, 2013; Varela et al., 2013)。例如, 苔藓中 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$  与湿沉降  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 的比值显著负相关(Liu et al., 2008b)。但是, 仅分析苔藓 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$  不能很好评估大气氮沉降对苔藓氮

利用和氮代谢的影响(Gauthier et al., 2013)。FAAs 是重要的含 N 生物分子, 在植物 N 代谢中发挥重要作用, 并且已显示对大气 N 污染的敏感性(Koranda et al., 2007)。FAA $\delta^{15}\text{N}$  值可以用来帮助评估植物中 N 代谢对环境 N 输入的响应。Bol et al. (2002)发现, 组氨酸(His)和苯丙氨酸(Phe) $\delta^{15}\text{N}$  值可以用来识别有着不同氮来源的土壤使用功能区域。Xu and Xiao (2017a)发现, 当交通源贡献较低时, 针叶中的某些 FAAs 和总 FAAs (TFAA)的 $\delta^{15}\text{N}$  值会更加偏负。然而, Yoneyama and Tanaka (1999)发现, 植物中氨基酸单体的氮同位素值与植物中伴随 FAA 单体在植物中氮代谢过程中的氮同位素分馏有关。在以往的研究中发现, 植物中 FAA 中 $\delta^{15}\text{N}_{\text{FAA}}$  值之间存在差异高达 36‰(Gauthier et al., 2013)。FAA 代谢过程中发生大同位素分馏, 会为使用 $\delta^{15}\text{N}_{\text{FAA}}$  反映大气氮源带来阻碍。目前尚无研究探索如何使用 $\delta^{15}\text{N}_{\text{FAA}}$  示踪大气氮源, 以及苔藓中哪一种特定的 FAA 氮同位素能最好反映大气氮源。因此, 研究苔藓中 FAAs 单体中的 $\delta^{15}\text{N}$  值与大气 N 源之间的关系是很有必要的。

#### 1.4 大气中的氨基酸

作为最重要的有机氮(ON)化合物类别之一, 目前已经在气溶胶中对包括游离氨基酸(FAA)和结合氨基酸(CAA)在内的氨基酸(AAs)进行了广泛的测量(Barbaro et al., 2019; Feltracco et al., 2019)。人们对大气中氨基酸开展研究是由于它们在增强大气颗粒的冰成核能力或云凝结核能力方面发挥着重要作用(Szyrmer and Zawadzki, 1997), 这可能会对全球气候和空气污染物的去除效率产生影响(Zhang and Anastasio, 2003a)。除此之外, 氨基酸可能会影响大气有机氮的生物利用性。这是因为大气氨基酸沉降可被用作植物和微生物的直接氮源(Mopper and Zika, 1987a)。另外, 特定的氨基酸会与大气中的氧化剂迅速发生氧化反应(McGregor and Anastasio, 2001), 这些氧化反应可能会影响大气化学过程和二次有机气溶胶的形成(Haan et al., 2009)。此外, 气溶胶中的某些生物蛋白具有致病性或过敏性, 可能会对人体健康产生不利的影响(Huffman et al., 2013b)。

然而, 气溶胶中氨基酸的来源和转化仍不清楚。通常而言, 大气中的蛋白质物质(CAAs)主要来自生物气溶胶颗粒(例如花粉、细菌、真菌、孢子和生物碎片)、生物质燃烧和农业活动(Kang et al., 2012b)。尽管有人认为从生物源的直

接释放是气溶胶中游离氨基酸 (FAAs) 的来源之一, 但是事实证明, 通过光化学反应或微生物过程降解蛋白质/多肽是气溶胶中形成 FAAs 的重要途径。此外, 生物质燃烧排放(Song et al., 2017b)、火山排放(Scalabrin et al., 2012)以及海洋环境中的气泡破裂(Wedyan and Preston, 2008a)都有可能是气溶胶中 FAAs 的来源。

蛋白质氨基酸是生命物质的重要组成成分且不同的蛋白质可以具有不同的氨基酸组成。例如, 疏水性氨基酸(例如 Ala、Leu 和 Ile 等)是纤维蛋白中最丰富的 AAs 种类, 而带有正电荷 R-基团的氨基酸(例如 His、Lys 和 Arg)是组织蛋白中的主要 AAs 种类(Armstrong et al., 2001)。另外, 用大气中 CAAs 的浓度和组成来反应大气排放源的信息更加省时省力(Abe et al., 2015)。最近的研究表明 CAA 含量可以作为生物气溶胶颗粒的标记物, 并且气溶胶中 CAAs 的分布特征可以示踪主要生物气溶胶颗粒的排放源(Mandalakis et al., 2011a; Miguel et al., 1999)。然而, 有关主要生物气溶胶颗粒和排放源的氨基酸图谱的详细数据非常有限。因此更好地了解气溶胶和排放源中 CAAs 的分布, 有助于对大气蛋白质 AAs 的来源和大气-生物圈氮循环研究。

蛋白质和多肽(CAA)的降解可导致大气颗粒中 FAA 的浓度更高(Song et al., 2017b)。考虑到大气老化和蛋白质降解程度之间的正相关关系, 游离氨基酸和结合氨基酸的浓度之比 (FAA/CAA) 可能暗示大气颗粒的“老化”信息。在气溶胶中 FAA/CAA 的比值越高, 意味着氨基酸在大气中的停留时间越长, 运输的距离越远(Samy et al., 2013b)。此外, 前人发现大气中的氧化剂会与气溶胶中的 FAAs 发生化学反应(Anastasio and McGregor, 2000b), 这会导致气溶胶中活性 FAAs 的占比减少和惰性 FAAs 的占比增加(Barbaro et al., 2015b; Matsumoto and Uematsu, 2005)。Samy et al. (2013b)发现, 较高的光化通量和臭氧水平可以促进细颗粒物中 CAA (蛋白质和多肽) 和高活性 FAAs (例如 Asn) 转化成占主导地位的惰性 FAA (例如 Gly)。前人的工作建立了 FAA 组成的变化与气溶胶化学老化以及远程运输过程的关系。Matsumoto and Uematsu (2005)观察到, 在远距离传输的细颗粒气溶胶中 Gly-N / DFAA-N 的比值更高。因此气溶胶中每个游离氨基酸单体占总游离氨基酸的组成变化可以反映出大气中氨基酸的来源以及氨基酸所经历的大气化学过程。因此, 我们可以通过对气溶胶中 FAA 和 CAA 中每个氨基酸单体的组成的研究增进对气溶胶中 AAs 转化过程的了解。

## 1.5 甘氨酸氮同位素值示踪大气颗粒物来源

由于稳定的 N 同位素组成 ( $\delta^{15}\text{N}$ ) 值可以保存特定来源的信息,使它已成为了一种独特而有效的工具被用于识别大气中主要氮化合物的潜在来源(Xiao et al., 2010b)。然而,据我们所知,使用含氮有机化合物单体的氮同位素组成来追踪大气颗粒物的来源的研究非常有限。这方面研究的缺乏主要归因于两个因素。首先,大气中很强的基质干扰和有机化合物单体浓度较低的都会显著影响大气中含 N 化合物单体的 $\delta^{15}\text{N}$  值的测定(Ge et al., 2018)。第二,大多数含氮有机化合物在大气中的光化学降解可能是一个非常具有挑战性的问题。因此,化合物是否在大气中有高浓度和该化合物的稳定性是影响特定有机化合物的 $\delta^{15}\text{N}$  值是否可以用作识别潜在来源的示踪剂的重要参考条件。

氨基酸(AAs)是大气有机氮组分中最常见的一类化合物(Samy et al., 2013b)。之前 AAs 组成的研究发现,甘氨酸(Gly)是气溶胶中含量最丰富的 AA 种类(约占总 AAs 的一半)(Ho et al., 2015b; Violaki and Mihalopoulos, 2010a)。气溶胶中 Gly 的高含量,为测定大气中甘氨酸的氮同位素组成分析提供了定量保证。

稳定性是在使用甘氨酸作为分子标记物是又一个重要的考虑因素。甘氨酸通常被认为是大气中的难降解氨基酸(Barbaro et al., 2011a; Mandalakis et al., 2011a)。先前的研究表明大气中氨基酸以两性离子的形式存在,并且在 300 nm 波长处没有明显的吸收率;因此,大气中氨基酸的降解,不是通过直接的光降解。研究认为大气中氨基酸的破坏主要取决于其侧链与羟基自由基、单分子氧、过氧自由基、过氧化氢等氧化剂的反应(McGregor and Anastasio, 2001)。由于 Gly 没有侧链,大气中 Gly 的活性明显低于其他氨基酸。Anastasio and McGregor (2000b)进行的实验发现在中午冬日阳光中,蛋氨酸和色氨酸的半衰期大约为 1-2 小时;组氨酸和酪氨酸的半衰期为 13-28 小时。这些高活性的氨基酸在大气中短时间内被显著破坏;而甘氨酸相似的大气过程中没有被明显破坏(半衰期 $> 2040$  h)。他们还报告说, Gly 的总体拟一阶速率常数( $< 3.4 \times 10^{-4} \text{ h}^{-1}$ )远低于含有高反应性侧链的 Trp 的反应速率常数 ( $9.2 \text{ h}^{-1}$ ) (McGregor and Anastasio, 2001)。

实际上,大气中 FAA 的来源还清楚(Matós et al., 2016b)。人们普遍认为,气溶胶中的游离 AAs (FAA)可能主要来源于自然生物源(例如植物,花粉,土壤,陆地灰尘,真菌和孢子)(Huffman et al., 2013b; Joung and Buie, 2015a)。其他可

能的来源包括生物质燃烧(Barbaro et al., 2019; Mace et al., 2003a)和烹饪(Abe et al., 2015)等。此外,化石燃料燃烧也被认为是气溶胶中 FAA 的来源之一(Ren et al., 2018)。有机组分被认为是(腐殖酸和未分解的植物材料)是化石燃料的重要前提物,并且该组分中被认为含有大量的蛋白质物质,但在煤的形成过程中经历了漫长的成岩作用(Casagrande et al., 1980)。目前对化石燃料燃烧释放是否会 FAA 的研究非常有限。人们认为 Gly 在大气中是稳定的,它的结构在气溶胶的光化学过程中不会被破坏(Dauwe et al., 1999b; Liu et al., 2017)。这说明气溶胶中蛋白质物质降解过程中的氮同位素效应可能相对较小。从自然源释放的游离 Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$ 值能反映其在排放源中的初始氮同位素值。到现在,不同大气游离氨基酸主要排放源的中游离甘氨酸的 $\delta^{15}\text{N}$ 值仍然是不确定的。不同来源直接释放的甘氨酸的氮同位素值是否有着不同的氮同位素值范围尚不清楚。

作为大气颗粒物(PM)的重要来源,在重度污染期间,生物质燃烧可能贡献大气颗粒物浓度的45%以上(Qiu et al., 2016)。此外,生物质燃烧会排放大量的含氮(N)有机化合物组成,氧化的有机碳、黑碳等,这都可能对气候产生重大影响,并可能对人体健康造成有害影响(Fu et al., 2012)。因此,许多研究都致力于分子标记物的研究,例如左旋葡聚糖、钾等被作为指示生物质燃烧的有效工具(Cheng et al., 2013; Feng et al., 2006; Salma et al., 2017)。但是最近研究证明,左旋葡聚糖会与OH自由基发生反应,其在大气中的半衰期仅为几天(Hennigan et al., 2010)。大气中钾离子( $\text{K}^+$ )的来源很复杂,包括燃烧生物质、海盐、地壳材料和烟火(Harrison et al., 2012)。因此,这些因素可能会在源解析中造成很大的不确定性。迫切需要引入新的示踪分子用于示踪生物质燃烧源。

## 第二章 苔藓中游离氨基酸 $\delta^{15}\text{N}$ 组成示踪大气氮源

### 2.1 材料与方法

#### 2.1.1 样品收集和处理

2017年7月, 在南昌市的城市、郊区、垃圾填埋场和机场采集了细叶小羽藓 *Haplocladium microphyllum* (Hedw.) 苔藓样本。采样位置如图1所示。仅采集了健康绿色的苔藓。根据以往的研究结果选择了采样地点(Liu et al., 2007; Liu et al., 2008a)。每个苔藓样本均是在天然岩石表面采集, 周围环境空旷不受悬垂的植被和树冠的遮挡。选择的采样点不能受氮点源的影响。这些点源包括土壤、地表水或家畜。距离主干道路至少500m, 距离任何其他道路或住房至少100m的地方收集每个样品。在每个样地中选择2-4个采样点, 并在每个采样点收集5-10子样本, 然后将子样本混合(以确保每个样本都具有代表性)。

将每个苔藓样品立即放入冷冻的保温箱中。通过用去离子水轻轻漂洗几次样品来去除吸附的污染物。每个洗涤后的样品的一半在80°C条件下干燥1天, 另一半放冷冻箱。将每个干燥的样品研磨成细粉, 并保存在-80°C直至分析<sup>[68]</sup>。

#### 2.1.2 总 N 和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 分析

使用连接到Thermo MAT253同位素质谱仪(Thermo Scientific, Bremen, Germany)的Flash EA 2000元素分析仪(Thermo Scientific, Bremen, Germany)上, 同时测定总氮浓度(以干重计, 以%表示)和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 。氮浓度分析精度优于0.1%。通过分别分析咖啡因(IAEA-600,  $\delta^{15}\text{N} = +1.0\text{‰}$ )、硫酸铵(USGS25,  $\delta^{15}\text{N} = -30.4\text{‰}$ )和L-谷氨酸(USGS 41a,  $\delta^{15}\text{N} = +47.6\text{‰}$ )的标准品来校正测定的 $\delta^{15}\text{N}$ 值。 $\delta^{15}\text{N}$ 分析精度(标准偏差;  $n=3$ )优于 $\pm 0.05\text{‰}$ 。同位素比以相对于大气 $\text{N}_2$ 的每mil(‰)表示。报告中每个的氮浓度和 $\delta^{15}\text{N}$ 值是至少三个测量值的平均值。

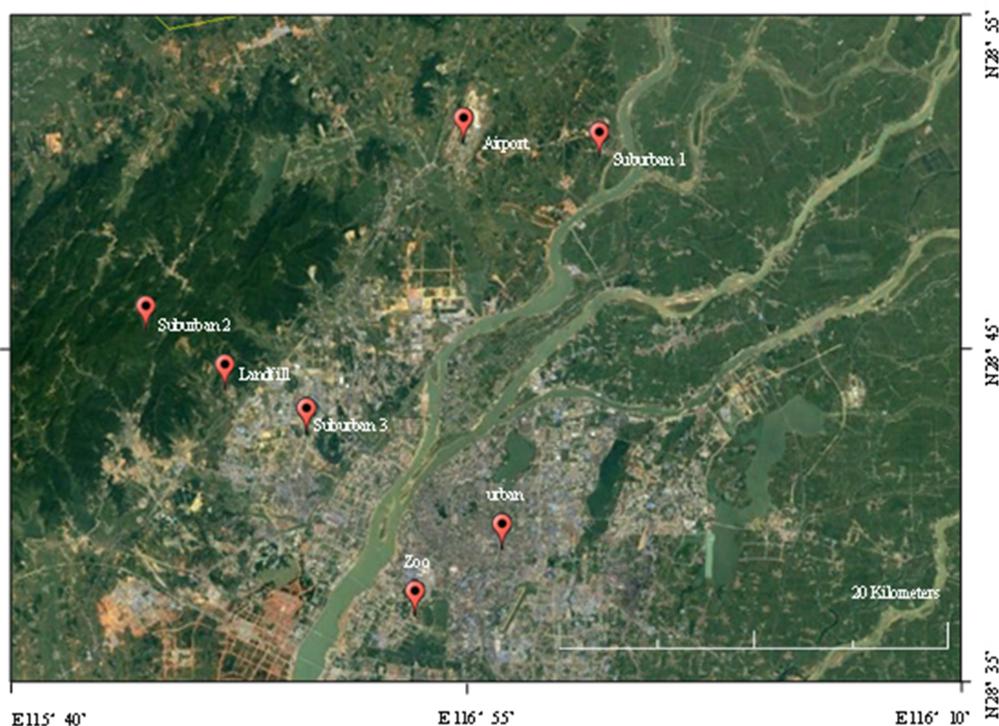


图1 南昌市苔藓采样点的位置。位置图来自谷歌地球7.1.5.1557 (<http://earth.google.com>)

### 2.1.3 FAA 的提取、纯化和衍生化

使用Gauthier等人(Gauthier et al., 2013)的方法提取FAAs。简短的说,将0.2-1g的苔藓细粉倒入蒸馏水中,在10000g和5°C下离心5分钟,然后将上清液转移到另一个离心管中。再次提取样品,将上清液混合并加热至100°C 5分钟以沉淀蛋白质。然后将提取物在10000g和5°C下离心5分钟,接着添加100 $\mu\text{L}$ 的1nmol  $\mu\text{L}^{-1}$ 的 $\alpha$ -氨基丁酸作为内标 ( $\delta^{15}\text{N}$ 为 $-8.17\text{‰}\pm 0.03\text{‰}$ )。然后将提取液冷冻干燥并重新溶解于1mL的0.1mol  $\text{L}^{-1}$ 的盐酸中。然后将提取物通过阳离子交换柱(Dowex 50WX8  $\text{H}^+$ , 200–400 mesh; Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA)纯化,并将富含氨基酸的洗脱液储存在-80°C条件下直至分析。

氨基酸叔丁基二甲基氯硅烷化(tBDMS)衍生物是按照Molero等人(Molero et al., 2011)和Zhang等人(Zhang et al., 2016)所述的方法制备的。在冷冻干燥后的样品中依次添加约150 $\mu\text{g}$ 的无水硫酸钠、50 $\mu\text{L}$ 的吡啶和50 $\mu\text{L}$ 的N-甲基-N-(叔丁基二甲基甲硅烷基)三氟乙酰胺,然后将混合物在70°C下加热1小时。

#### 2.1.4 确定氨基酸浓度和 $\delta^{15}\text{N}$ 值

通过气相色谱GC/MS/IRMS分析叔丁基二甲基甲硅烷基衍生物,测定氨基酸浓度和化合物的特定结构以及 $\delta^{15}\text{N}$ 值。样品由Trace GC (Thermo Fisher Scientific)分离后,约10%的流出物进入ISQ QD单四极杆MS仪器(Thermo Fisher Scientific),以获取每个流出峰的浓度和结构信息。其余约90%的流出量进入Thermo GC-isolink,在其中洗脱的化合物被氧化后在还原形成 $\text{CO}_2$ 和 $\text{N}_2$ 。这些气体由ConFlo IV接口 (Thermo Fisher Scientific),进入Delta V IRMS (Thermo Fisher Scientific),进行 $\delta^{15}\text{N}$ 值的测定。

仪器条件如下所述。进样量为0.2-1.0 $\mu\text{L}$ ,并使用不分流模式。自动进样其进样温度为270 $^\circ\text{C}$ 。使用DB-5色谱柱(30m长,内径0.25mm,厚0.25 $\mu\text{m}$ ; Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)实现分离。载气为氦气,流速为1.0mL/min。在每次分析过程中,系统均用氦气吹扫了900s。GC柱箱温度从90 $^\circ\text{C}$ (保持1分钟)开始,然后以12 $^\circ\text{C min}^{-1}$ 升高到150 $^\circ\text{C}$ (保持5分钟),再以3 $^\circ\text{C min}^{-1}$ 升到220 $^\circ\text{C}$ ,然后再以12 $^\circ\text{C min}^{-1}$ 升至285 $^\circ\text{C}$ (保持7.5分钟)。最终燃烧器保持在1000 $^\circ\text{C}$ 。

通过提取、衍生化和分析一系列含有20个氨基酸,浓度为0.04-1mM的标准液来评估GC/MS方法的线性度。每个标准液都包含丙氨酸(Ala)、 $\gamma$ -氨基丁酸(Gaba)、精氨酸(Arg)、天冬酰胺(Asn)、天冬氨酸(Asp)、谷氨酰胺(Gln)、谷氨酸(Glu)、甘氨酸(Gly)、组氨酸(His)、异亮氨酸(Ile)、亮氨酸(Leu)、赖氨酸(Lys)、蛋氨酸(Met)、苯丙氨酸(Phe)、脯氨酸(Pro)、丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)、色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)和缬氨酸(Val)。样品中各氨基酸单体的浓度由GC-MS测定。每个氨基酸的标准曲线由不同浓度的氨基酸标准与内标浓度的比值来建立。校准曲线的 $R^2$ 的值为0.9909-0.9969,表明该方法是准确的。

准备了由20种氨基酸混合标准品和几种已知的 $\delta^{15}\text{N}$ 值氨基酸标准品(Ala, Gly3, Gly4, Phe, USGS40, USGS41a和Val)(-26.35~+47.55‰)来对仪器性能进行监测和仪器的漂移进行纠正。氨基酸被转化为TBDMS衍生物后可以通过GC-C-IRMS进行氨基酸单体氮同位素值的测定(图2)。结果如表S4所示。每个样品都加入 $\alpha$ -氨基丁酸(内标),其 $\delta^{15}\text{N}$ 值用于确定同位素测量值的可重复性。在运行GC/MS/IRMS的过程中,每三个样品分析20个氨基酸的标准混合物,以评

估同位素测量的重复性并对氨基酸的 $\delta^{15}\text{N}$ 值标准化(Xu and Xiao, 2017a)。GC/MS/IRMS测定游离氨基酸氮同位素值是需要考虑分析样品量。每个氨基酸绝对含量为0.8nmol的20种氨基酸的标准混合物（相当于苔藓中的FAA浓度为9-20 $\mu\text{g g}^{-1}$ ），被用于分析测定低浓度氨基酸 $\delta^{15}\text{N}$ 值的精度和准确度。GC/MS/IRMS测定0.8nmol氨基酸标准混合物的 $\delta^{15}\text{N}$ 测量精度为0.5‰-1.4‰（n=9）（表2）。元素分析/IRMS测得的未衍生氨基酸的 $\delta^{15}\text{N}$ 值与GC/MS/IRMS测得的衍生化氨基酸的 $\delta^{15}\text{N}$ 值正相关( $R^2=0.997$ ,  $P<0.001$ )。用元素分析/IRMS和GC/MS/IRMS测得的 $\delta^{15}\text{N}$ 值之差为0.1‰-1.3‰（表S4）。在我们的苔藓样品中，FAA绝对含量均高于0.8nmol。在这里所报道的每个值都是至少三次测定 $\delta^{15}\text{N}$ 值的平均值。

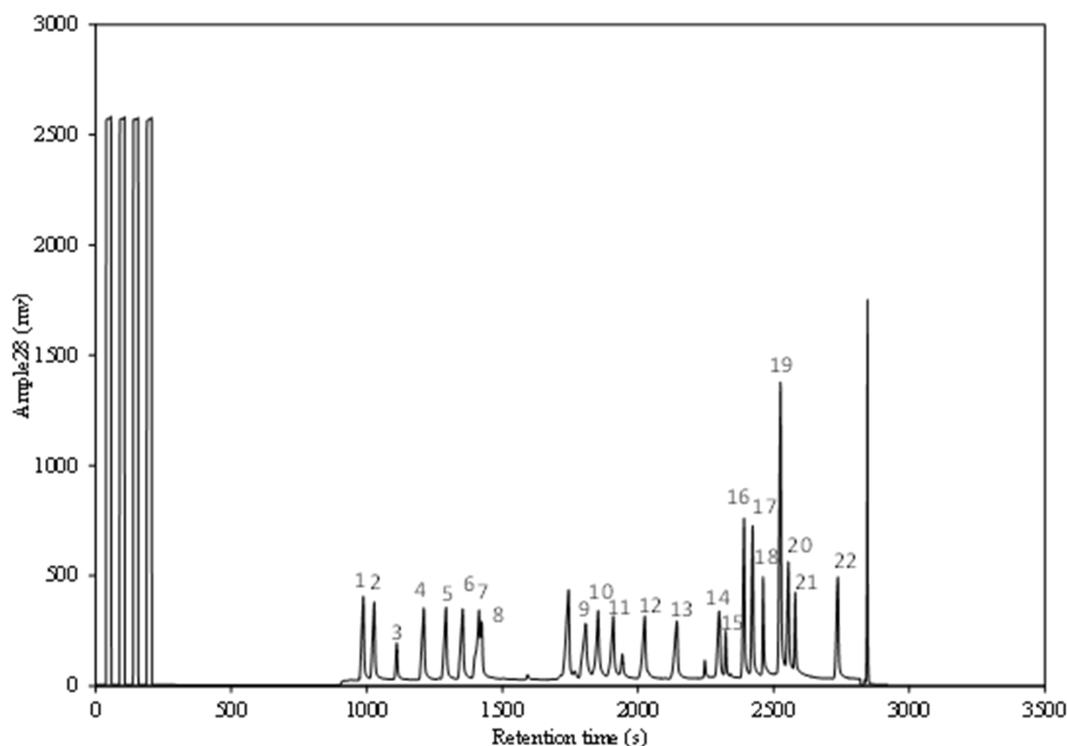


图2 氨基酸硅烷化衍生物的GC-C-IRMS色谱图。峰：1 Ala; 2 Gly; 3 I.S. (Aaba); 4 Val; 5 Leu; 6 Ile; 7 Gaba; 8 Pro; 9 Met; 10 Ser; 11 Thr; 12 Phe; 13 Asp; 14 Glu; 15 Asn; 16 Lys; 17 Gln; 18 Arg; 19 His; 20 Tyr; 21 Trp (2TMS); 22 Trp (3TMS)。

表2 使用EA/IRMS和GC/C/IRMS方法测定高纯度氨基酸标准样品和国际氨基酸标准样品的 $\delta^{15}\text{N}$ 值。测量精度和准确度适用于0.8nmol的样品。

氨基酸	缩写	$\delta^{15}\text{N}_{\text{na}}^{\text{a}}(\text{‰})$	SD <sup>b</sup>	$\delta^{15}\text{N}^{\text{c}}(\text{‰})$	SD <sup>d</sup>	$\Delta^{\text{e}}$
高纯度氨基酸标准样品						
丙氨酸	Ala	-1.20	0.21	-0.5	0.5	-0.7
甘氨酸	Gly	1.15	0.09	1.4	0.8	-0.3
缬氨酸	Val	-3.45	0.06	-3.0	0.6	-0.4
亮氨酸	Leu	6.54	0.05	6.2	1.1	0.4

氨基酸	缩写	$\delta^{15}\text{N}_{\text{na}}^{\text{a}}(\text{‰})$	$\text{SD}^{\text{b}}$	$\delta^{15}\text{N}^{\text{c}}(\text{‰})$	$\text{SD}^{\text{d}}$	$\Delta^{\text{e}}$
异亮氨酸	Ile	1.29	0.14	1.6	1.0	-0.3
$\gamma$ -氨基丁酸	Gaba	-7.11	0.22	-5.8	0.9	-1.3
脯氨酸	Pro	-3.20	0.21	-4.0	1.4	0.8
蛋氨酸	Met	-2.48	0.19	-1.9	0.5	-0.6
丝氨酸	Ser	1.34	0.09	1.3	0.9	0.1
苏氨酸	Thr	-5.11	0.06	-5.7	1.3	0.6
苯丙氨酸	Phe	16.26	0.12	16.0	0.7	0.2
天冬氨酸	Asp	-2.04	0.07	-1.6	0.7	-0.5
谷氨酸	Glu	-5.15	0.14	-6.3	1.3	1.2
天冬酰胺	Asn	1.46	0.09	2.3	1.1	-0.8
赖氨酸	Lys	0.02	0.18	-0.4	0.7	0.5
谷氨酰胺	Gln	-2.76	0.16	-2.3	1.0	-0.5
精氨酸	Arg	-5.88	0.14	-4.6	0.6	-1.3
组氨酸	His	-7.21	0.10	-7.8	0.7	0.6
酪氨酸	Tyr	5.06	0.20	3.8	1.2	1.2
色氨酸	Trp	-3.33	0.12	-3.8	0.7	0.5
已知同位素组成的参考物质						
缬氨酸	Val*	30.08	0.02	31.1	0.6	-1.0
苯丙氨酸	Phe*	1.70	0.06	2.1	0.5	-0.4
甘氨酸	Gly3*	40.83	0.02	41.9	0.1	-1.1
甘氨酸	Gly4*	-26.35	0.02	-26.9	0.5	0.5
丙氨酸	Ala*	43.25	0.07	42.8	0.4	0.4
谷氨酸	USGS40 #	-4.52		-5.3	0.2	0.8
谷氨酸	USGS41 #	47.55		46.5	0.3	1.1

<sup>a</sup> 由 EA/IRMS 测得 (n=10)  
<sup>b</sup> 由 GC/C/IRMS 测得 (n=9)  
<sup>c</sup> 为 EA-IRMS 的精度  
<sup>d</sup> 为 GC-C-IRMS 的精度  
<sup>e</sup>: EA/IRMS 和 GC/C/IRMS 的 $\delta^{15}\text{N}$  差值  
\*从印第安纳大学获得  
#采购自国际原子能机构

### 2.1.5 统计分析

使用SPSS 16.0软件 (IBM, Armonk, NY, USA) 进行统计分析。使用方差分析和 Tukey-HSD测试的单向分析方法检验了不同地点样品中FAA含量差异的统计显著性, 认为差异在 $P < 0.05$ 时具有显著性。使用Pearson相关系数评估 $\delta^{15}\text{N}_{\text{FAA}}$ 、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}}$ 和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 之间的相关性 (r)。线性回归用于分析FAA浓度与估算的大气

氮沉降量之间的相关性。大多数图形是使用SigmaPlot 10.0软件（Systat Software, San Jose, CA, USA）绘制的。

## 2.2 结果

### 2.2.1 总的氮浓度和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$

如图 3a 所示，苔藓样品中的总氮浓度为 1.1%-3.0%，平均值为  $1.9\% \pm 0.6\%$ 。在南昌市七个地点的苔藓中的平均总氮浓度按照市中心（ $2.7\% \pm 0.4\%$ ）、垃圾填埋场（ $2.5\% \pm 0.3\%$ ）、机场（ $1.9\% \pm 0.3\%$ ）、动物园（ $1.4\% \pm 0.2\%$ ）和郊区（ $1.2\% \pm 0.1\%$ ）的顺序降低。市中心的平均总氮浓度明显高于郊区（ $p < 0.05$ ）。

如图 4 所示，大多数苔藓样品中的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 值为负值。平均 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 为  $-0.4\% \pm 2.9\%$ ，四分位数范围为 $-5.7\%$ 至 $-1.3\%$ 。

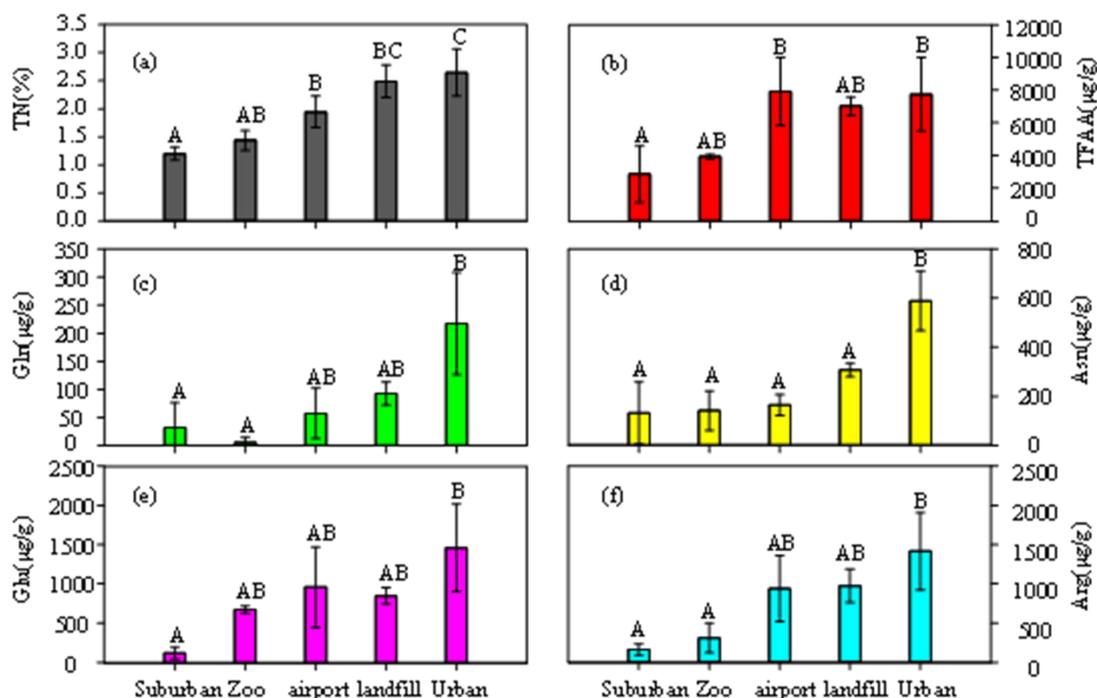


图 3 南昌市郊区、动物园、机场、垃圾填埋场和市中心的苔藓中 TN, TFAA, Gln, Asn, Glu 和 Arg 的浓度: (a) TN, (b) TFAA, (c) Gln, (d) Asn, (e) Glu 和 (f) Arg。条形表示平均值 $\pm$ 标准偏差。上标字母“A”和“B”表示来自不同采样点的 TN 和 FAA 的平均值（HSD Tukey's,  $p < 0.05$ ）明显不同。

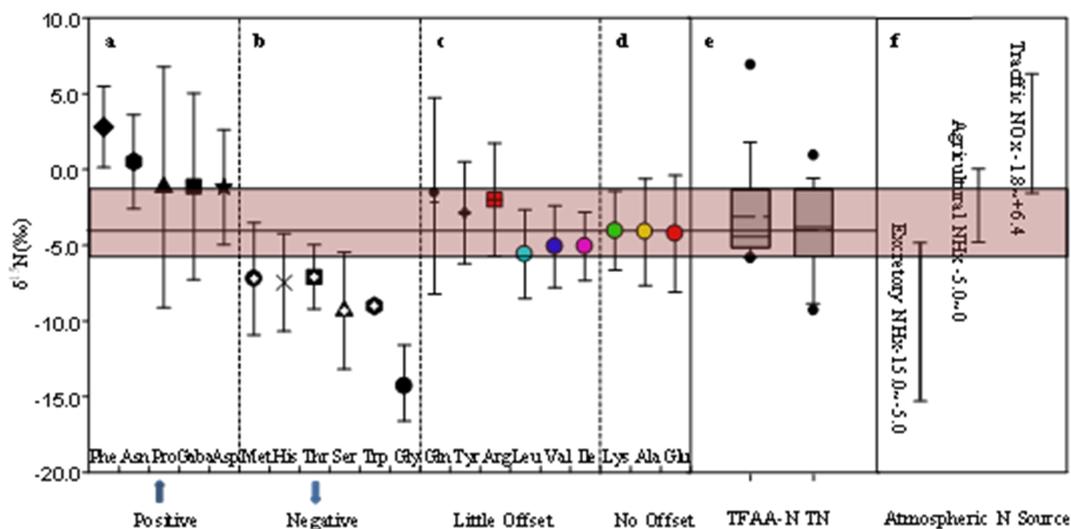


图4 南昌市苔藓中单个FAAs的 $\delta^{15}\text{N}$ 。垂线代表标准偏差。箱型图显示了苔藓中 $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}}$ 和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{TN}}$ 。该箱包含50%的数据，两边延长90%的数据，实线是中位数，虚线是平均值，实心圆是异常值。在图中也包括潜在氮来源的 $\delta^{15}\text{N}$ 范围。排泄废物中 $\text{NH}_4^+$ 的 $\delta^{15}\text{N}$ 值的数据引用于Freyer(Freyer, 1978)、Heaton(Heaton, 1990)和Moore(Moore, 1977)。来自农业的 $\text{NH}_4^+$ 的 $\delta^{15}\text{N}$ 值参考文献Xiao等人(Xiao et al., 2010a)。 $\text{NO}_x$ 的 $\delta^{15}\text{N}$ 值引用于Freyer(Freyer, 1978)和Saurer等人(Saurer et al., 2004)。

## 2.2.2 FAA 浓度

苔藓样品中Ala, Arg, Asn, Asp, Gaba, Gln, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, and Val的浓度如表3所示。来自不同地点的样品中TFAA (943.9-11100.5 $\mu\text{g g}^{-1}$ ;图3b)、Gln (未检测-303.5 $\mu\text{g g}^{-1}$ ;图3c)、Asn (6.18-750.9 $\mu\text{g g}^{-1}$ ;图3d)、Glu (49.7-2159.9 $\mu\text{g g}^{-1}$ ;图3e)和Arg (114.0-2117.3 $\mu\text{g g}^{-1}$ ;图3f)的浓度与总氮浓度的变化方式相似(图3a)。市中心样品中的FAA浓度明显高于郊区样品( $p < 0.05$ )。

Arg, Asn, Asp, Gln, Glu, Ser和TFAA的N浓度与大气N沉积呈正相关( $P < 0.05$ ) (图5)。表4中显示了Arg, Asn, Asp, Gln, Glu, Ser和TFAA浓度与大气氮沉积之间的关系方程。

表3 在苔藓组织中的 Ala、Gly、Val、Leu、Ile、Gaba、Pro、Met、Ser、Thr、Phe、Asp、Glu、Asn、Lys、Gln、Arg、His、Tyr 和 Trp 的浓度和 $\delta^{15}\text{N}$  值

名称	缩写	浓度 ( $\mu\text{g/g}$ )		$\delta^{15}\text{N}(\text{‰})$	
		平均值	标准偏差	平均值	标准偏差
丙氨酸	Ala	523.3	161.4	-4.1	3.5
甘氨酸	Gly	146.6	88.5	-14.3	2.7
缬氨酸	Val	328.4	161.2	-5.1	2.7
亮氨酸	Leu	421.1	172.0	-5.6	2.9
异亮氨酸	Ile	201.5	106.6	-5.1	2.3
$\gamma$ -氨基丁酸	Gaba	175.1	154.9	-1.1	6.2
脯氨酸	Pro	207.0	113.5	-1.2	7.9
蛋氨酸	Met	65.6	46.6	-7.2	3.7
丝氨酸	Ser	323.0	146.8	-9.3	3.9
苏氨酸	Thr	133.0	119.1	-7.1	2.1
苯丙氨酸	Phe	235.7	136.2	2.8	2.7
天冬氨酸	Asp	631.8	331.7	-1.2	3.8
谷氨酸	Glu	815.4	530.0	-4.2	3.9
天冬酰胺	Asn	273.0	201.2	0.5	3.1
赖氨酸	Lys	309.7	170.9	-4.0	2.6
谷氨酰胺	Gln	105.1	97.7	-1.7	6.5
精氨酸	Arg	863.6	508.1	-2.0	3.7
组氨酸	His	90.1	28.4	-7.5	3.2
酪氨酸	Tyr	207.3	131.9	-2.9	3.4
色氨酸	Trp	106.4	56.1	-9.0	0.2

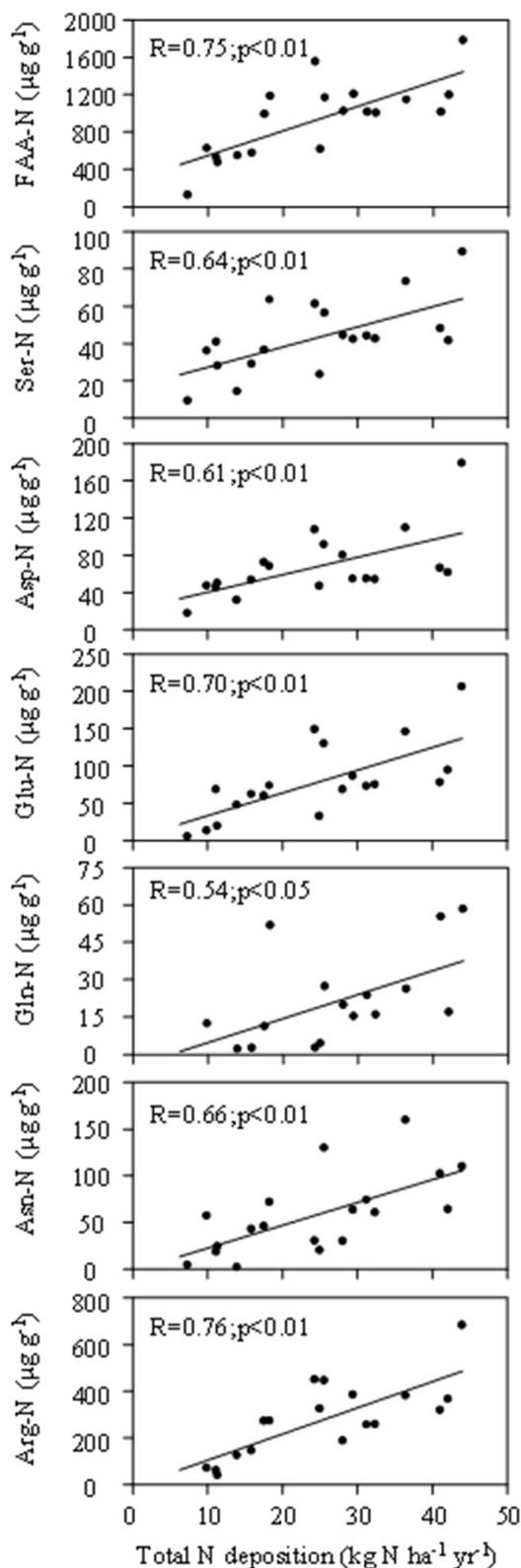


图5 苔藓中单个FAA的浓度（以N浓度表示）与估计的总大气氮沉降量之间的关系。C<sub>FAA-N</sub>计算公式：C<sub>FAA-N</sub>=C<sub>FAA</sub>·n·14，C<sub>FAA</sub>是每种氨基酸的摩尔浓度；n是每个AA中所含的氮原子；14是氮原子的相对分子质量。利用线性相关方程（y=0.052x+0.73,R<sup>2</sup>=0.70,P<0.001;Xiao et al.(Xiao et al., 2010a)）估算各采样点大气总氮沉降数值（x）和长江流域相应苔藓的TN浓度（y）。

表 4 在本研究和以往研究中, FAA 的氮浓度与总氮沉降之间的关系。

种类	氨基酸	关系度	相关性,P	方程	文献
细叶小羽藓	Asn	0.43	0.0022	$y=-1.86+2.44x$	本研究
细叶小羽藓	Gln	0.34	0.0133	$y=-5.01+0.97x$	本研究
细叶小羽藓	Arg	0.58	0.0003	$y=-8.27+11.23x$	本研究
细叶小羽藓	Glu	0.48	0.001	$y=2.98+3.04x$	本研究
细叶小羽藓	Asp	0.37	<0.01	$y=21.55+1.87x$	本研究
细叶小羽藓	Ser	0.40	<0.01	$y=16.58+1.08x$	本研究
细叶小羽藓	TFAA	0.48	0.0011	$y=283.4+26.39x$	本研究
多蒴曲尾藓	Asn		0.01		Nordin <i>et al.</i> , 1998
多蒴曲尾藓	Gln		0.009		Nordin <i>et al.</i> , 1998
多蒴曲尾藓	Arg		0.008		Nordin <i>et al.</i> , 1998
多蒴曲尾藓	TFAA		0.01		Nordin <i>et al.</i> , 1998
赤茎藓	Asn		0.009		Nordin <i>et al.</i> , 1998
赤茎藓	Gln		0.026		Nordin <i>et al.</i> , 1998
赤茎藓	Arg		0.001		Nordin <i>et al.</i> , 1998
赤茎藓	TFAA		0.001		Nordin <i>et al.</i> , 1998
泥炭藓	Arg		<0.001		Nordin <i>et al.</i> , 2000
泥炭藓	Asn		<0.001		Nordin <i>et al.</i> , 2000
泥炭藓	Gln		<0.001		Nordin <i>et al.</i> , 2000
泥炭藓	Asp		<0.05		Nordin <i>et al.</i> , 2000
泥炭藓	Glu		<0.01		Nordin <i>et al.</i> , 2000
泥炭藓	Ser		<0.001		Nordin <i>et al.</i> , 2000
泥炭藓	TFAA		<0.001		Nordin <i>et al.</i> , 2000
中位泥炭藓	Asn	0.6	0.002		Limpens and Berendse, 2003
中位泥炭藓	Gln	0.44	0.013		Limpens and Berendse, 2003
中位泥炭藓	Arg	0.74	0.001		Limpens and Berendse, 2003
丘间种喙叶泥炭藓	Arg		<0.05		Tomssen & Roelofs, 2003
丘间种喙叶泥炭藓	Asn		<0.05		Tomssen & Roelofs, 2003
丘间种喙叶泥炭藓	Gln		<0.05		Tomssen & Roelofs, 2003

种类	氨基酸	关系度	相关性,P	方程	文献
丘间种喙叶泥炭藓	Glu		<0.05		Tomssen & Roelofs, 2003
欧洲桦	Arg		<0.05		Tomssen & Roelofs, 2003
欧洲桦	Asp		<0.05		Tomssen & Roelofs, 2003
酸沼草	Gln		<0.05		Tomssen & Roelofs, 2003
酸沼草	Asp		<0.05		Tomssen & Roelofs, 2003
酸沼草	Ser		<0.05		Tomssen & Roelofs, 2003

### 2.2.3 单个 FAAs 中 $\delta^{15}\text{N}$ 值 ( $\delta^{15}\text{N}_{\text{FAA}}$ )

苔藓样品中的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{FAA}}$ 值的变化很大,从-19.3‰到+16.1‰(图6)。根据 $\delta^{15}\text{N}_{\text{FAA}}$ 和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 四分位数范围的比较,将FAAs分为四组。如图2所示,Ala (-4.1‰)、Glu (-4.2‰)和Lys (-4.0‰)(组d)的 $\delta^{15}\text{N}$ 平均值与 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$  (-4.0‰)的平均值接近。Arg (-2.0‰)、Gln (-1.7‰)、Ile (-5.1‰)、Leu (-5.6‰)、Tyr (-2.9‰)和Val (-5.1‰)(组c)的 $\delta^{15}\text{N}$ 平均值在 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 四分位数范围(-5.7‰~ -1.3‰)之内。Gly (-14.3‰)、His (-7.5‰)、Met (-7.2‰)、Ser (-9.3‰)、Thr (-7.1‰)和Trp (-9.0‰)(组b)的 $\delta^{15}\text{N}$ 平均值在 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 四分位数以下。Asn (+0.5‰)、Asp (-1.2‰)、Gaba (-1.1‰)、Phe (+2.8‰)和Pro (-1.2‰)(组a)的 $\delta^{15}\text{N}$ 平均值高于 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 四分位数范围之上。

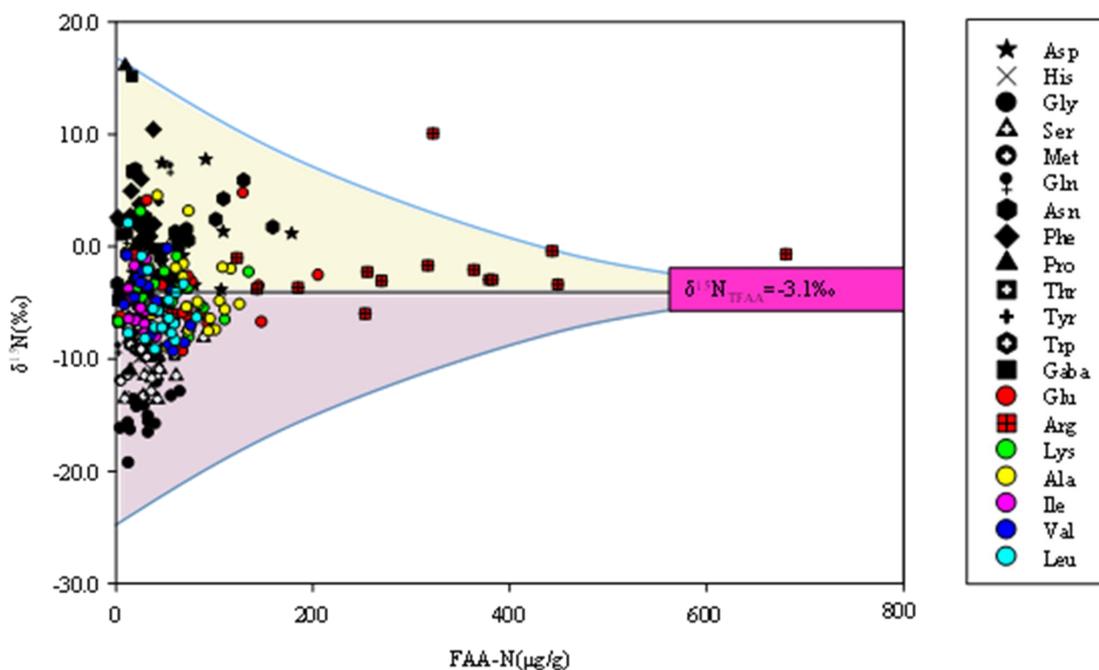


图6 苔藓中游离氨基酸的 $\delta^{15}\text{N}$ 值 (‰) 和游离氨基酸的浓度 (以N浓度表示,  $\mu\text{g/g}$ )。  $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}} = -3.1\text{‰}$  是通过瑞利平衡方程计算的游离氨基酸的浓度加权平均氮同位素。

#### 2.2.4 TFAA 的浓度加权平均 $\delta^{15}\text{N}$ 值 ( $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}}$ )

FAA $\delta^{15}\text{N}$ 值变化很大, 最高和最低之间相差35%, 如图6所示。 $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}}$ 值根据同位素质量平衡方程计算所得:

$$\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}} = \frac{\sum \delta^{15}\text{N}_i \cdot C_i \cdot n_i}{\sum C_i \cdot n_i} \quad (1)$$

其中 $\delta^{15}\text{N}_i$ 是游离氨基酸i的 $\delta^{15}\text{N}$ 值,  $C_i$ 是游离氨基酸i的摩尔密度,  $n_i$ 是游离氨基酸单体i中N原子个数。 $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}}$ 的平均值为 $-3.1\text{‰} \pm 3.2\text{‰}$  (图6), 四分位数范围 ( $-5.2\text{‰} \sim -1.3\text{‰}$ ) 与 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 的四分位数范围相似 (图4)。

#### 2.2.5 FAA 单体相对于 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 值的分馏

计算FAA单体相对于 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 的正分馏和负分馏的方法如图7所示。根据平均 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 值 ( $-4.0\text{‰}$ ), 将FAA分为三组。在 $\delta 1$ 组中, FAA单体的 $\delta^{15}\text{N}$ 值  $> 0\text{‰}$ 。在 $\delta 2$ 组中, FAA单体的 $\delta^{15}\text{N}$ 值大于 $-4.0\text{‰}$ , 小于 $0\text{‰}$ 。在 $\delta 3$ 组中, FAA单体的 $\delta^{15}\text{N}$ 值  $< -4.0\text{‰}$ 。使用公式2计算所有三组相对于 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 的氮同位素分馏。

$$\Delta^{15}\text{N} = \frac{\sum(\delta^{15}\text{N}_i+4.0)C_i}{\sum C_i} \quad (2)$$

游离氨基酸单体相对于 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 的正分馏之和 ( $\Delta^{15}\text{N}_{\text{positive}}+3.4\%$ ) 等于游离氨基酸相对于 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 的负分馏之和 ( $\Delta^{15}\text{N}_{\text{negative}}-3.6\%$ ) (图8)。

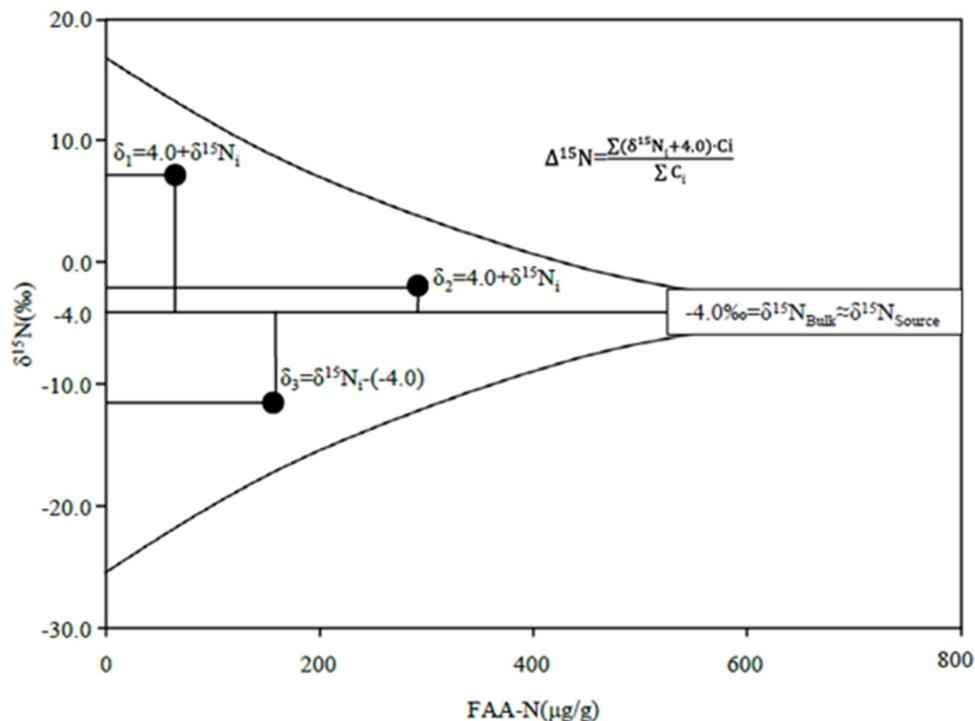


图7 计算苔藓中单个 $\delta^{15}\text{N}_{\text{FAA}}$  相对于 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$  分级的方法。通过与 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$  的平均值 ( $-4.0\%$ ) 比较它们的 $\delta^{15}\text{N}$  值, 将 20 种氨基酸分成 3 组。第一组的 $\delta^{15}\text{N}$  值均高于  $0\%$ 。在第一组中, 单个的 FAA 对 TFAA 的分级显示为 $\delta_1$ ,  $\delta_1=4.0+\delta^{15}\text{N}_i$ 。第二组的单个 FAA 的 $\delta^{15}\text{N}$  值高于  $-4.0\%$ , 低于  $0\%$  ( $\delta_2$ ),  $\delta_2=4.0+\delta^{15}\text{N}_i$ 。第三组的单个 FAA 的 $\delta^{15}\text{N}$  值均低于  $-4.0\%$  ( $\delta_3$ ),  $\delta_3=\delta^{15}\text{N}_i-(-4.0)$ 。 $\Delta^{15}\text{N}_{\text{positive}}$  是相对于 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$  的单个 FAA  $^{15}\text{N}$  富集的和, 包括单个 FAA 的 $\delta^{15}\text{N}$  值高于  $-4.0\%$  ( $\delta_1$  和  $\delta_2$ );  $\Delta^{15}\text{N}_{\text{negative}}$  是相对于 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$  的单个 FAA  $^{15}\text{N}$  消耗的和, 包括单个 FAA 的 $\delta^{15}\text{N}$  值低于  $-4.0\%$  ( $\delta_3$ )。  $\Delta^{15}\text{N}_{\text{positive}}$  和  $\Delta^{15}\text{N}_{\text{negative}}$  可以通过相同的公式计算所得:  $\Delta^{15}\text{N} = \frac{\sum(\delta^{15}\text{N}_i+4.0)C_i}{\sum C_i}$

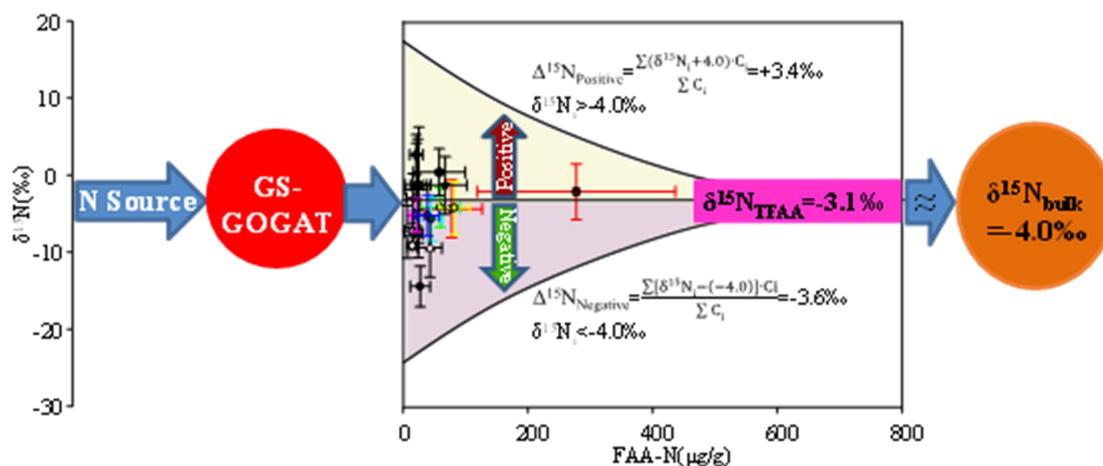


图8  $\delta^{15}\text{N}_{\text{source}}$ ,  $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}}$ 和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$  N之间的关系。还显示了单个FAA中总 $^{15}\text{N}$ 富集和总 $^{15}\text{N}$ 消耗与 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$  ( $-4.0\text{‰}$ ) 之间的关系。

### 2.2.6 $\delta^{15}\text{N}_{\text{FAA}}$ 、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}}$ 之间的 spearman 相关性

线性回归分析表明,  $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 值与 $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}}$ 值以及游离Ala, Gaba, His, Ile, Leu, Lys和Ser的 $\delta^{15}\text{N}$ 值显著相关 ( $p < 0.05$ )。对于大多数FAA (Ala, Arg, Asn, Asp, Gaba, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Pro, Ser和Val) 的 $\delta^{15}\text{N}$ 值与 $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}}$ 值显著相关 ( $p < 0.05$ )。除Gaba, Gln, Ile, Met, Phe, Thr, Trp和Tyr外, 几乎所有FAA的 $\delta^{15}\text{N}$ 值都与 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}$ 值显著相关 ( $p < 0.05$ ) (表5)。

表5 总N、TFAA和20种游离氨基酸的 $\delta^{15}\text{N}$ 值之间的相关矩阵。\*相关性在0.05水平（双尾）上显著。\*\*相关性在0.01水平（双尾）上显著。

	TN	TFAA	Ala	Gly	Val	Leu	Ile	Gaba	Pro	Met	Ser	Thr	Phe	Asp	Glu	Asn	Lys	Gln	Arg	His	Tyr	Trp
TN	1	*	*			**	*	*			**						**			**		
TFAA	*	1	**	*	**	**	*	*	*		**			**	**	**	**		**	**		
Ala	*	**	1	**	**	**		*			**			**	**	**	**		**	**		
Gly		*	**	1		**								*	*					*		
Val		**	**		1	**					**		*	*	**		**		*	**		
Leu	**	**	**	**	**	1	*				**			**	**	*	**		**	**		
Ile	*	*				*	1	*				*	*	**						**		
Gaba	*	*	*				*	1						*			**			**		**
Pro		*							1					*	*				*			
Met										1								*			*	
Ser	**	**	**		**	**					1			**	**	**	**		*	**		
Thr							*					1					*					
Phe					*		*						1									
Asp		**	**	*	*	**	**	*	*		**			1	**	**	**		**	**		
Glu		**	**	*	**	**			*		**			**	1	**	**		**	*		
Asn		**	**			*					**			**	**	1	*		**			*
Lys	**	**	**		**	**		**			**	*		**	**	*	1		**	**		
Gln										*								1				
Arg		**	**		*	**			*		*			**	**	**	**		1	*		
His	**	**	**	*	**	**	**	**			**			**	*		**		*	1		**
Tyr										*											1	
Trp								**								*				**		1

### 2.3 讨论

在不同的苔藓物种中, 单个游离FAA (主要是Arg, Asn, Asp, Glu, Gln, Ser和TFAA)与大气氮沉降之间存在着密切的关系(表S2)(Limpens and Berendse, 2003; Nordin et al., 1998; Tomassen and Roelofs, 2003)。在我们的研究中, 苔藓中TFAA的浓度和一些FAA单体的空间变化与苔藓中总氮含量的空间变化相类似(图3), 并且与大气氮沉降呈现正相关(图5)。苔藓中FAA对N输入的反应能力与FAA单体的化学和生理特性有关。当发生高氮沉降时, C:N比值较低的FAA(Koranda et al., 2007), 如Gln、Arg和Asn的浓度会增加。此外, 在不同的研究中均观察到, 大气氮沉降量增加时, 游离氨基酸浓度变化大于总氮浓度的变化。Baxter等人(Baxter et al., 1992)发现, 苔藓暴露于 $0.1\text{mM NH}_4^+$  20天后, 游离Arg(约19倍)、Asn(约4倍)和Gln(约3倍)的浓度急剧升高。Huhn和Schulz(Huhn and Schulz, 1996)发现, 在有着高氮沉降的Rösa地区比有着低氮沉降Neuglobsow地区, 苔藓中Arg积累要大很多, Rösa地区苔藓中的Arg浓度比Neuglobsow地区苔藓中的Arg浓度高150倍。同样, 在这项研究中, 游离Glu(7倍), Arg(9倍), Gln(12倍)和Asn(4倍)浓度增加的比例要远大于总氮(2倍)增加的比例。合成含有多个氮原子的FAA可最大程度地减少存储多余氮时碳的使用, 从而避免 $\text{NH}_4^+$ 积累对植物组织的毒性。除此之外, 游离氨基酸在植物中的代谢特性是高氮沉降中这些FAA浓度增加的原因之一。例如, Arg比其他FAA有着更好的溶解性(Nordin et al., 1998; Ohlson et al., 1995; Richter et al., 1995), Glu在氮吸收中起关键作用[18], Gln可以增加植物的光合作用能力(Tomassen and Roelofs, 2003), Ser参与光呼吸氮循环(Baxter et al., 1992)。因此, 苔藓中某些FAA (Arg, Asn, Asp, Gln, Glu, Ser和TFAA)的浓度(以N浓度表示)能用于指示当前的大气N沉降量。

同位素技术的发展使得利用氨基酸的 $\delta^{15}\text{N}$ 值指示影响植物组织中含氮化合物的来源和转化过程成为可能(Styring et al., 2014a)。然而, 在上述提到的20种FAA的 $\delta^{15}\text{N}$ 值差异很大, 表明在游离氨基酸吸收、转化、生物合成和代谢过程中发生了明显的氮同位素分馏(Gauthier et al., 2013)。Gauthier等人(Gauthier et al., 2013)发现, 硝酸盐和游离Glu之间的氮同位素分馏为15.8‰, 而由游离Asp合成游离Asn过程中伴随的氮同位素分馏高达36‰。本研究中, 苔藓FAA的 $\delta^{15}\text{N}$ 值变化范围很广, 从-19.3‰到+16.1‰(图6)。由于苔藓对氮的吸收和转化过程中几

乎没有氮同位素分馏(Liu et al., 2013), 因此FAA的 $\delta^{15}\text{N}$ 值大的变化范围可能主要是由FAA自身代谢途径引起的。

苔藓直接吸收许多大气中的氮化合物, 并且在氮同化过程中几乎没有同位素分馏。过去的研究已经发现, 苔藓的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 值是大气氮源的良好指示指标(Skudnik et al., 2016; Varela et al., 2013)。南昌市苔藓样品的平均 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 值为 $-4.0\text{‰}\pm 2.9\text{‰}$  (范围为 $-9.3\text{‰}\sim +0.9\text{‰}$ )。根据潜在氮源的 $\delta^{15}\text{N}$ 变化范围(Freyer, 1978; Heaton, 1990), 南昌地区大气氮沉降源主要由动物排泄物( $-15.0\text{‰}\sim -5.0\text{‰}$ ) (Heaton, 1990; Moore, 1977)和农业过程( $-5\text{‰}\sim 0\text{‰}$ )<sup>[58]</sup>中排放的 $\text{NH}_3$ 源(负 $\delta^{15}\text{N}$ 值, 图4中组f)。这是根据苔藓总氮 $\delta^{15}\text{N}$ 值为负值得出的结论。该结果与之前对中国南部地区城市、乡村和森林地带大气氮沉降源的研究结果一致(Xiao et al., 2010b)。但是, 大多数 $\delta^{15}\text{N}_{\text{FAA}}$ 值与 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 值有很大差异, 并且 $\delta^{15}\text{N}_{\text{FAA}}$ 变化范围( $35\text{‰}$ )比 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 变化范围( $10\text{‰}$ )大得多。因此, 如上所述, 由于苔藓中氨基酸代谢过程引起的氮同位素分馏很大, 使用 $\delta^{15}\text{N}_{\text{FAA}}$ 值来指示大气氮源很困难。

已有许多的研究表明, FAA单体的 $\delta^{15}\text{N}$ 值与FAA代谢途径造成分馏有关(Cantón et al., 2005; Gauthier et al., 2013; Styring et al., 2014b; Werner and Schmidt, 2002)。在本项研究中, 将游离氨基酸单体的 $\delta^{15}\text{N}$ 的分配模式与 $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}}$ 的平均值进行对比, 以讨论苔藓中伴随着游离氨基酸代谢途径的氮同位素分馏。与 $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}}$ 的平均值相比, 游离Gln、Phe、Tyr、Asn和Asp有较高的 $\delta^{15}\text{N}$ 值(图4)。植物中游离Phe相对富集 $^{15}\text{N}$ 与苯丙氨酸氨裂解酶催化Phe脱氨反应中 $^{14}\text{N}$ 优先脱去, 使得残留的Phe相对富集于 $^{15}\text{N}$ (Cantón et al., 2005; Werner and Schmidt, 2002)。酪氨酸在植物中会通过酪氨酸氨解酶转化为4-羟基肉桂酸酯, 这会使得剩余的酪氨酸 $\delta^{15}\text{N}$ 值偏正。Pro的 $\delta^{15}\text{N}$ 值比 $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}}$ 值的要偏正, 这是因为在植物组织中游离氨基酸分解的动力同位素效应要大于其合成过程中的动力同位素效应, 或者是植物组织中游离Pro的合成是热力学过程(Styring et al., 2014a)。Asp中相对富集 $^{15}\text{N}$ 的原因是氨基从Glu转移至草酰乙酸形成Asp, 这个过程中包含了质子化的席夫碱的形成, 会使生成的Asp富集 $^{15}\text{N}$ (Tcherkez, 2011)。Styring等人(Styring et al., 2014a)将谷物中的Asn的 $^{15}\text{N}$ 富集归因于Asn在植物中可被用作运输物质。Asn的氨基通过 $\alpha$ -酮酸的转氨作用结合到其他氨基酸中, 这个过程中动力学同位素分馏歧视 $^{15}\text{N}$ 。另一方面, Gly和Ser的 $\delta^{15}\text{N}$ 值相对于 $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}}$ 值更偏负(图4)。Gly和Ser参与植物

的光呼吸循环。Gly和Ser偏负的氮同位素值可能是因为光呼吸过程中Gly和Ser的形成反应可时产物更富集 $^{14}\text{N}$ 。例如，从Glu转氨产生Gly和从Gly转化为Ser这两个途径都歧视 $^{15}\text{N}$ (Smallwood et al., 2003)。

显然，如上所述在使用 $\delta^{15}\text{N}_{\text{FAA}}$ 值指示大气中的氮源可能因此受到苔藓中FAA代谢反应过程中同位素分馏效应的影响。某些FAAs的 $\delta^{15}\text{N}$ 值可能无法可靠地反映大气中的氮源。例如，使用富集 $^{15}\text{N}$ 的FAA（例如Phe， $\delta^{15}\text{N}_{\text{Phe}}$ 为 $2.8\text{‰}\pm 2.7\text{‰}$ ）来识别大气氮沉降的主要来源，会错误地将南昌市的氮沉降来源识别为来自交通源的 $\text{NO}_2$ （ $\delta^{15}\text{N}$ 为 $+1.3\text{‰}\sim +6.4\text{‰}$ ）(Saurer et al., 2004)，而使用 $\delta^{15}\text{N}$ 值偏负的FAA来示踪大气氮沉降来源（例如Gly， $\delta^{15}\text{N}_{\text{Gly}}$ 为 $-14.3\text{‰}\pm 2.7\text{‰}$ ）会将南昌市的大气氮源识别为动物排泄物（ $\delta^{15}\text{N}$ 为 $-15.2\text{‰}\sim -8.9\text{‰}$ ）和污水（ $\delta^{15}\text{N}$ 为 $-15\text{‰}\sim -4\text{‰}$ ）(Freyer, 1978; Heaton, 1990)。我们尝试使用 $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}}$ 作为指标来解决这个问题。如图8所示，游离氨基酸单体 $\delta^{15}\text{N}_{\text{FAA}}$ 值与 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 值之间的正差值之和（ $\Delta^{15}\text{N}_{\text{positive}}$ 为 $+3.4\text{‰}$ ）等于游离氨基酸单体 $\delta^{15}\text{N}_{\text{FAA}}$ 值与 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 值之间的负差值之和（ $\Delta^{15}\text{N}_{\text{negative}}$ 为 $-3.6\text{‰}$ ），这表明在苔藓中FAA代谢过程中，TFAA的氮同位素是平衡的。 $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}}$ 平均值（ $-3.1\text{‰}\pm 3.2\text{‰}$ ）接近于 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 平均值（ $-4.0\text{‰}\pm 2.9\text{‰}$ ），而 $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}}$ 四分位数的范围（ $-5.2\text{‰}\sim -1.3\text{‰}$ ）与 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 四分位数的范围（ $-5.7\text{‰}\sim -1.3\text{‰}$ ）相似（图4中的e组），即 $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}}\approx\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}\approx\delta^{15}\text{N}_{\text{Source}}$ 。根据皮尔逊相关性表明， $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}}$ 与 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 显著相关（表5）。因此，我们得出的结论是，TFAA和总氮之间没有发生氮同位素分馏，这意味着 $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}}$ 可以用于指示大气氮的来源。

大多数 $\delta^{15}\text{N}_{\text{FAA}}$ 值不能直接与 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 值进行比较。我们还不清楚苔藓中哪种游离氨基酸单体的 $\delta^{15}\text{N}$ 值能最好的示踪大气氮源还不清楚。在以前的研究中仅报道了 $\delta^{15}\text{N}_{\text{FAA}}$ 和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Source}}$ 有相似空间变化趋势。(Hofmann et al., 2003)发现，来自工业地区的苔藓中的游离氨基酸 $^{15}\text{N}$ 值比来自农业地区的苔藓中更加偏负。Xu和Xiao(Xu and Xiao, 2017a)发现，远离公路的针叶中的Ala、Arg、Asp、Glu、His、Ile、Lys、Pro、Ser和TFAA的 $\delta^{15}\text{N}$ 比来自高速公路附近的针叶中的 $\delta^{15}\text{N}$ 更偏负，这表明来自土壤排放 $\text{NH}_x\text{-N}$ 对远离高速公路的针叶中 $\delta^{15}\text{N}_{\text{FAA}}$ 值的影响要大于对高速公路附近的针叶中的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{FAA}}$ 值影响。然而，Xu和Xiao的一项研究表明(Xu and Xiao, 2017a)，作为指标的大多数FAA的 $\delta^{15}\text{N}$ 值与环境氮源的 $\delta^{15}\text{N}$ 值有很大的差异。他们发现，距离高速公路800米地方的新针叶中 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Gln}}$ 值 $<-8\text{‰}$ 。这些 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Gln}}$ 值可

能指示着贫 $^{15}\text{N}$ 的大气氮源, 例如动物排泄物 ( $\delta^{15}\text{N}$ 为 $-15\text{‰} \sim -5\text{‰}$ ), 而不是来自土壤的 $\text{NH}_x\text{-N}$ 释放 ( $\delta^{15}\text{N}$ 为 $-5.8\text{‰} \sim -3.3\text{‰}$ ) (Freyer, 1978; Heaton, 1990)。如果在使用在代谢过程中具有较大分馏率的特定游离氨基酸的 $\delta^{15}\text{N}$ 指示大气氮源, 则会得出令人误解的结论。仅一部分游离氨基酸单体的 $\delta^{15}\text{N}$ 值能够保持氮源的氮同位素特征。我们将20中FAAs的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{FAA}}$ 值与 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 值进行了比较, 以确定哪种游离氨基酸的 $\delta^{15}\text{N}$ 值能够更好的示踪大气氮源。 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}$ 、 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Ala}}$ 、和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Lys}}$ 的平均值与 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 的平均值非常相似 (图4)。这可能是因为在苔藓中这些FAAs代谢途径没有或只有很小的氮同位素分馏。Glu在植物组织中FAA代谢过程中的主要作用是为其其他氨基酸的生物合成提供一个氨基, 并从其他FAAs的分解代谢中获得氨基, 这在代谢途径针叶、谷物、豆类、藻类和小麦组织中得到了证实(Bol et al., 2002; Mccarthy et al., 2013; Paolini et al., 2015; Styring et al., 2014a)。我们的结果从氮同位素的角度证实了这一点, 因为 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}$ 值与大多数FAA的 $\delta^{15}\text{N}$ 值和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}}$ 值 ( $p < 0.05$ ) (表5) 显著相关, 并且 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}$ 值 ( $-4.0\text{‰}$ ) 与 $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}}$ 值 ( $-3.1\text{‰}$ ) 相近 (图4)。我们还发现, 测得的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Ala}}$ 值与测得的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}$ 值相近, 这可能是因为在丙酮酸和谷氨酸生物合成的Ala的过程中氮动力学同位素效应较小(Binder et al., 2007; Werner and Schmidt, 2002; Yoneyama and Tanaka, 1999)。先前许多研究还发现, 由丙酮酸和谷氨酸生物合成的支链具有较低的动力学同位素效应(Werner and Schmidt, 2002)。苔藓中 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Lys}}$ 的平均值与 $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}}$ 的平均值没有明显差异。这可能是因为Gauthier等人(Gauthier et al., 2013)发现, 在植物中, Lys从Glu中获取氮, 因此 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Lys}}$ 将反映前提物 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Glu}}$ 值。由于苔藓中的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 值可以可靠地指示了大气氮的来源, 因此我们得出结论, 游离的Ala、Glu和Lys, 由于在苔藓组织中的代谢过程中几乎不受动力学同位素效应的影响, 因此可以保留有关大气氮源的信息。

## 2.4 结论

苔藓中某些FAAs (例如Arg、Asn、Asp、Gln、Glu、Ser和TFAA) 的氮浓度与大气中的总氮沉降呈正相关, 表明这些苔藓中的FAAs的氮浓度可以很好地指示大气氮沉降。我们首先用FAA氮同位素的组成来确定苔藓中FAA代谢是否可以

反映大气氮源。苔藓中FAA单体的 $\delta^{15}\text{N}$ 值变化很大，这可能主要由FAA在苔藓种的代谢途径中引起的。然而，在FAA代谢过程中，总的FAA处于同位素平衡状态，因此苔藓中的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{TFAA}}$ 值可以很好地指示大气氮源。我们还发现某些特定FAAs单体的 $\delta^{15}\text{N}$ 值（例如Ala、Glu和Lys）和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{bulk}}$ 值一样保留了有关大气氮源的信息，这是因为这些特定FAAs单体的代谢途径中氮同位素分馏很小。

未来的工作应该包括调查不同氮沉降条件下的维管植物中游离氨基酸 $\delta^{15}\text{N}$ 值的变化性，以研究氮在不同植物组织运输过程中的动力学同位素效应。

### 第三章 气溶胶中游离 Gly 的氮同位素组成

#### 3.1 样品采集

##### 3.1.1 TSP 样品收集

2018 年 1 月 1 日至 2 月 27 日, 在中国江西省于都县的森林地点 (北纬  $25^{\circ}54'36''\text{N}$ , 东经  $115^{\circ}37'44''\text{E}$ ) 收集了森林 TSP 样本 ( $n = 29$ )。该地点位于森林地区, 该地区远离城市且不受人为氮源的污染。在一栋六层楼的楼顶 (地面以上约 18 米) 使用大容量空气采样器采集 TSP 样品, 该采样器的样品采集参数为 1050 升/分钟。使用  $25 \times 20\text{cm}$  的石英纤维滤膜。取样之前, 将石英纤维滤膜在  $450^{\circ}\text{C}$  下加热 10 h, 去除任何有机物。

##### 3.1.2 植物收集

2017 年 7 月, 在南昌市收集了马尾松 (*Pinus massoniana* (Lamb.)) 和苔藓样品 (*Haplocladium microphyllum* (Hedw.))。取样的马尾松树龄约 10 年, 高 4 米。仅收集绿色, 健康的样本。根据我们之前的研究中所采用的标准选取合格的采样地点(Xu and Xiao, 2017a)。

##### 3.1.3 土壤收集

从南昌市水稻种植田 ( $115.1^{\circ}\text{E}$ ,  $28.2^{\circ}\text{N}$ ) 中收集最上层 10 厘米土壤样品作为稻田土壤样品。取样后, 立即清除所有的根和凋落物。从贵阳市某隧道 ( $106.7^{\circ}\text{E}$ ,  $26.7^{\circ}\text{N}$ ) 中收集表层土壤作为道路土壤。

##### 3.1.4 生物质燃烧排放

生物质燃料在中国农村广泛用作烹饪和取暖, 这会排放大量空气污染物(Liu et al., 2016)。(Tao et al., 2018) 发现木材 (主要是松木) 和农作物残渣 (主要是稻

草) 是中国热能主要的贡献源, 分别占中国热能贡献的 33% 和 14%。根据这一结果, 我们选择松木和稻草作为生物质燃烧的主要生物原料, 并分析了松木和稻草燃烧产生的气溶胶颗粒中的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$ 。

2017 年 8 月使用大容量空气采样器对生物质燃烧释放的 TSP 样品进行收集采样。在实验室的测试中, 使用大型铁制排气罩, 收集炉灶的排放物; 然后再将其导入大容量的空气采样器中, 进行气溶胶样品的采样。在距火点高度 1m 的地方, 收集生物质燃烧释放的气溶胶样品。对于松树生物质燃烧源, 叶片和较小的树枝燃烧实验在蜂窝煤炉中进行, 秸秆燃烧实验在农村家用炊炉中进行。燃烧通常持续 5 至 15 分钟。

### 3.1.5 厨房油烟

2017 年 8 月在晚饭期间, 对厨房排放的 TSP 样进行了采样。从烧烤餐厅的厨房排气口收集样品, 其中包括连续煮熟油炸的肉类和油炸的蔬菜, 厨房里用电炉做饭。收集通常持续 1 到 3 小时。

### 3.1.6 煤的燃烧排放

2017 年 8 月, 在蜂窝状煤球取暖炉的下风口放置了一个大型空气采样器, 以收集燃煤释放的 TSP 样品。在煤燃烧过程进行了 1-2 小时。

### 3.1.7 车辆排放

2017 年 8 月, 将大容量空气采样器安装支空转车辆的排气管上, 收集各种柴油和商用车辆、发动机和燃料类型排放的 TSP 样品。在接受调查的车辆中, 比亚迪 L3, 高尔夫和奥迪 A3 使用汽油。比亚迪 L3 和高尔夫使用 92# 汽油, 奥迪 A3 使用 95# 汽油。常州 R180 采用柴油发动机。在采样期间, 所有车辆均处于怠速状态。样品收集时间为 3 小时。

## 3.2 AA 浓度和同位素分析

用 Milli-Q 水提取溶解的 FAA, 并使用 Mandalakis 等人(Mandalakis et al.,

2011a)提出的方法进行分析。加入 2-氨基丁酸 (AABA) 作为内标。纯化的 AAs 被衍生为 AA-叔丁基二甲基甲硅烷基 (tBDMS) 衍生物(Zhu et al., 2018)。

使用气相色谱-质谱仪 (GC-MS) /同位素比质谱分析 MS (IRMS) 分析 TSP 样品中游离 Gly 浓度和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$ 。由 Thermo Trace GC (Thermo Scientific, Bremen, Germany) 分离的组份大约 10%的成分进入了 Thermo ISQ QD 单四极杆质谱仪, 该质谱仪提供了每个洗脱峰的结构和浓度信息。剩余的约 90%组份通过 GC-isolink, 被色谱柱分离的 AAs 在燃烧炉中被氧化并还原形成  $\text{N}_2$ 。这些气体最后被导入 Thermo Delta V IRMS (Thermo Scientific, Bremen, Germany) 以进行  $\delta^{15}\text{N}$  测量。之前的研究中已经描述了 GC-MS / IRMS 分析中使用的 GC 色谱柱和色谱条件(Zhu et al., 2018)。

单四极杆质谱仪在 70 eV 和全扫描模式下运行。传输线和离子源的温度分别保持恒定在 250°C 和 200°C。详细 GC-MS 结果信息, 包括回收率、线性、检测限、定量限和氨基酸气溶胶样品中相应的有效检测线, 请参见表 6。采用了从印第安纳大学购买 Gly 同位素参考标准 (<http://php.indiana.edu/~aschimme/hc.html>) (Schimmelmann et al., 2016)以及两种高纯度标准 (纯度大于 99%) Gly 实验室标准 (从-26.63‰至+40.83‰) 对该方法的精度和准确度进行了评估, 表 7。得到了未衍生的 Gly 和 Gly-tBDMS 衍生物( $R^2=0.997$ ,  $P < 0.001$ )  $\delta^{15}\text{N}$  值之间的线性关系 (图 9)。Gly 标准品在 GC-MS/IRMS 分析过程中每个样品测定 3 次。此外, 对每个样品中添加已知 $\delta^{15}\text{N}$  值的内标 (AABA) 进行检查, 以确认该方法的的重现性。

表 6 使用 GC-MS (全扫描) 方法分析氨基酸衍生物的特征。从校准曲线的线性回归分析获得的相关系数。仪器的检测极限 (LOD) 基于 3 的信噪比。仪器的定量限 (LOQ) 基于 10 的信噪比。EMDL 是气溶胶样品中的最低检测浓度。

氨基酸	保留时间	FAA %回收率	CAA %回收率	相关系 数	LOD (pmol)	LOQ (pmol)	EMDL (pmol m-3)
丙氨酸	22.1	103±4	94±3	0.9928	0.1	0.3	0.1
甘氨酸	22.8	97±5	103±25	0.9948	0.1	0.5	0.1
缬氨酸	26.4	98±3	97±3	0.9936	0.1	0.3	0.1
亮氨酸	27.8	96±1	95±6	0.9917	0.1	0.3	0.1
异亮氨酸	28.9	94±1	93±1	0.9930	0.1	0.3	0.1
$\gamma$ -氨基丁酸	29.8	95±3	92±6	0.9955	0.2	0.7	0.2
脯氨酸	30.2	101±10	74±2	0.9975	0.7	2.3	0.7

蛋氨酸	36.5	99±5	91±5	0.9946	0.1	0.3	0.1
丝氨酸	37.1	101±5	84±2	0.9883	0.1	0.4	0.1
苏氨酸	37.8	83±11	91±5	0.9891	0.1	0.3	0.1
苯基丙氨酸	39.0	82±1	84±2	0.9921	0.1	0.2	0.1
天(门)冬氨酸	40.0	96±2	86±18	0.9914	0.1	0.4	0.1
谷氨酸	41.7	96±1	112±20	0.9868	0.9	3.1	1.0
天冬酰胺	42.1	89±5	NA	0.9978	1.7	5.8	1.8
赖氨酸	43.2	93±7	67±5	0.9865	0.3	1.0	0.3
谷氨酸盐	43.8	95±7	NA	0.9959	0.8	2.8	0.9
精氨酸	44.8	86±9	60±6	0.9969	0.9	2.9	0.9
组氨酸	46.6	95±15	92±5	0.9944	2.8	9.2	2.9
酪氨酸	47.4	79±1	52±2	0.9954	0.3	0.8	0.3
色氨酸	48.4	80±4	NA	0.9917	14.4	48.0	15.0

表 7 Gly 国际标准样品和高纯样品的氮同位素 GC / IRMS 测定值和真实值。

Gly	$\delta^{15}\text{N}(\text{‰})$	
	GC / IRMS 测定值	真实值
Gly#3-USGS66	39.64 ± 0.11	40.83 ± 0.06 <sup>a</sup>
Gly#4	-26.39 ± 0.46	-26.63 ± 0.02 <sup>a</sup>
Gly-USG S64	2.43 ± 0.35	1.76 ± 0.06 <sup>a</sup>
Gly-USGS65	19.56 ± 0.37	20.68 ± 0.06 <sup>a</sup>
Gly-高纯 1	0.09 ± 0.93	1.15 ± 0.09 <sup>b</sup>
Gly-高纯 2	1.30 ± 0.53	1.36 ± 0.04 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> 已知 $\delta^{15}\text{N}$  值的 Gly 同位素参考材料来自印第安纳大学。

<sup>b</sup> 高纯度 Gly 标准品(纯度> 99%)购自 Sigma-Aldrich, 其天然 $\delta^{15}\text{N}$  值由 EA / IRMS 确定 (n = 9)。

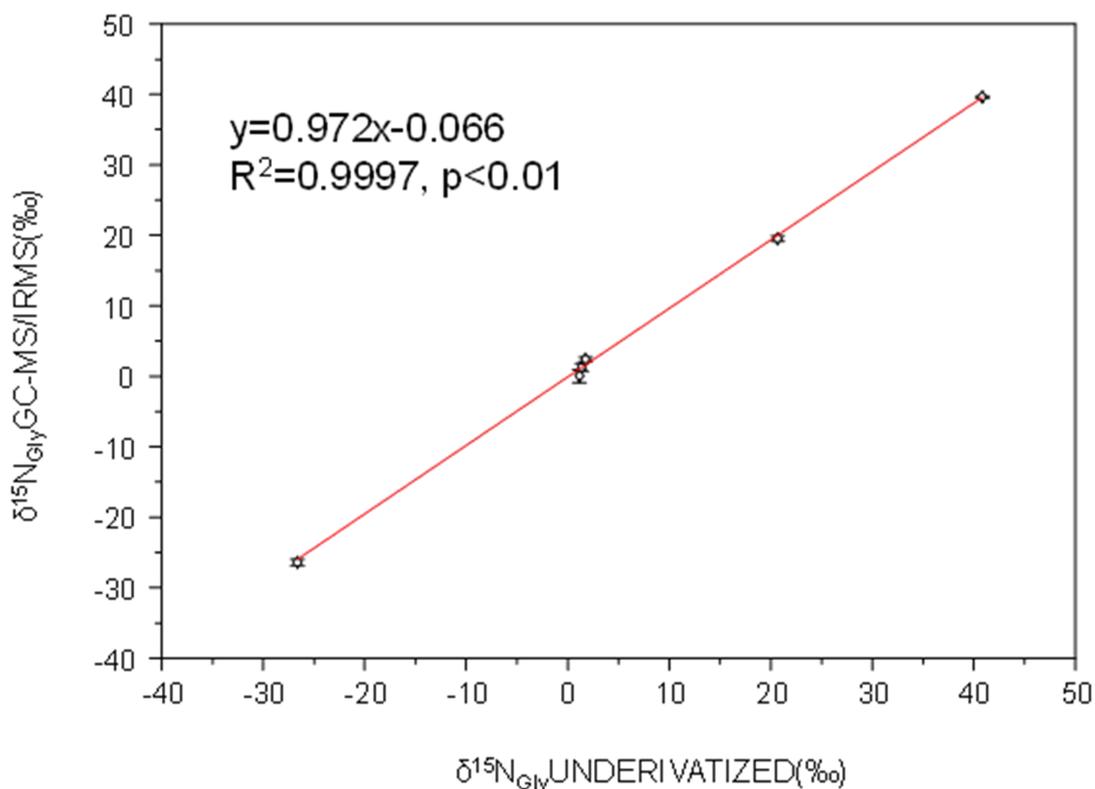


图 9  $\delta^{15}\text{N}$  值校准曲线：通过 GC / IRMS 测量的硅烷化衍生 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Gly}}$  值（纵坐标）与未衍生 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Gly}}$  值（横坐标）的关系图。

使用 GC-MS/IRMS 仪器进行 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  分析，所需 Gly 的量是一个重要参数。实验测定的 0.2~3nmol Gly 标准的 $\delta^{15}\text{N}$  值的准确度和精密度见表 8。Gly $\delta^{15}\text{N}$  测量精度 (n=3) 在 0.2‰~2.2‰之间。经校正之后，用 EA/IRMS 和 GC-MS/IRMS 测得的 Gly $\delta^{15}\text{N}$  值的差异在 0.2‰到 0.6‰之间 (表 8)。必须对气溶胶样品进行浓缩，以获得足够量的甘氨酸用于 $\delta^{15}\text{N}$  测量。每个报告值是至少三个 $\delta^{15}\text{N}$  测定值的平均值。

表 8 绝对量在 0.2nmol 至 3nmol 之间甘氨酸氮同位素测定的精度和准确度。

甘氨酸浓度(nmol)	精度	准确度(‰)
0.2	2.2	0.4
0.6	1.5	0.5
0.8	0.6	-0.6
1	0.9	-0.4
2	0.6	-0.2
3	0.2	-0.2

### 3.3 其他化学成分分析

通过离子色谱法 (DIONEX AQUION, Thermo Scientific, Bremen, Germany) 测量 TSP 样品中水溶性离子 ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ , 甲酸, 草酸和  $\text{SO}_4^{2-}$ ) 浓度。

### 3.4 统计分析

采用 SPSS 16.0 软件进行统计分析, 采用单因素方差分析 (ANOVA) 方法检测不同排放源之间 FAA 含量的显著差异, 并用 Tukey-HSD 法进行比较;  $p < 0.05$  时被认为存在显著性差异。通过 Pearson 相关分析, 探讨了 TSP 中游离 Gly 浓度与非海盐性钾离子浓度 ( $\text{Nss-K}^+$ ) 之间的关系; 使用对数回归分析评估了  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  随大气中  $\text{Nss-K}^+$  浓度的变化。图形主要使用 OriginPro 2017 生成。研究区气团两天的后轨迹利用 TrajStat 软件在 100 米高度(海平面以上)每 6 小时计算一次结果(Wang et al., 2009)。

### 3.5 结果

#### 3.5.1 主要排放源的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$ 值

当前, 由于缺乏来自排放源中氨基酸的  $\delta^{15}\text{N}$  信息, 很难将 AAs 用作分子示踪剂来追踪气溶胶颗粒物的来源。在这项研究中, 表 9 总结了潜在排放源中游离甘氨酸的氮同位素值, 这些源包括植物, 土壤, 生物质燃烧, 煤炭燃烧, 厨房油烟和车辆排放。主要排放源的  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值在  $-16.6\%$  至  $+22.6\%$  之间。主要源释放  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值的范围差异很大。以下介绍了主要排放源的  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  变化范围。

表 9 植物、土壤、煤燃烧、机动车尾气和厨房烟气游离甘氨酸的氮同位素值。

Source	Sampling method	$\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$ (‰)
<b>Natural sources</b>		
<b>Plant</b>		
<b>Mosses</b>	<i>Haplocladium microphyllum</i> tissues; n=19	-14.3±2.7
<b>Pine</b>	<i>Pinus massoniana</i> (Lamb.) needles; n=6	-11.7±1.8
<b>Mean</b>		-13.6±2.5
<b>Soil</b>		

Source	Sampling method	$\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$ (‰)
<b>Paddy soil</b>	clay;0-10cm depths; maintained in rice cultivation; n=4	+1.7±0.8
<b>Tunnel soil</b>	road soil from Huoyanshan tunnel in Guiyang city; n=6	+7.5±1.9
<b>Mean</b>		+4.6±4.0
<b>Kitchen fumes</b>		
<b>Kitchen exhaust</b>	from kitchen exhaust vent, electric furnace	+4.5
<b>Kitchen exhaust</b>	from kitchen exhaust vent, electric furnace	+5.1
<b>Kitchen exhaust</b>	from kitchen exhaust vent, electric furnace	+6.5
<b>Kitchen exhaust</b>	from kitchen exhaust vent, electric furnace	+7.8
<b>Mean</b>		+6.0±1.5
<b>Biomass burning</b>		
<b>Pine</b>	Pine wood; honeycomb briquet heating stove	+17.7
<b>Pine</b>	Pine wood; honeycomb briquet heating stove	+16.9
<b>Straw</b>	Straw; wood-fired cook stove	+22.7
<b>Straw</b>	Straw; wood-fired cook stove	+27.3
<b>Straw</b>	Straw; wood-fired cook stove	+27.2
<b>Mean</b>		+22.4±5.0
<b>Fossil fuel</b>		
<b>Coal combustion</b>		
<b>Bituminous</b>	bituminous coal; honeycomb briquet heating stove	NA
<b>Bituminous</b>	bituminous coal; honeycomb briquet heating stove	NA
<b>Bituminous</b>	bituminous coal; honeycomb briquet heating stove	NA
<b>Honeycomb briquet</b>	Anthracite added yellow clay soil; honeycomb briquet heating stove	NA
<b>Honeycomb briquet</b>	Anthracite added yellow clay soil; honeycomb briquet heating stove	+22.6
<b>Vehicle exhaust</b>		
<b>Diesel exhaust</b>	diesel engine; rpm 2600r/min	NA
<b>Diesel exhaust</b>	diesel engine; rpm 2600r/min	NA
<b>BYD exhaust</b>	BYD L3; gasoline engine; 92#;;rpm 1000r/min	NA
<b>BYD exhaust</b>	BYD L3; gasoline engine; 92#;;rpm 1000r/min	NA
<b>Golf exhaust</b>	Golf 1.7; gasoline engine; 92#;;rpm 1000r/min	NA
<b>Golf exhaust</b>	Golf 1.7; gasoline engine; 92#;;rpm 1000r/min	NA
<b>Audi exhaust</b>	Audi A3; gasoline engine; 95#;;rpm 1000r/min	NA
<b>Audi exhaust</b>	Audi A3; gasoline engine; 95#;;rpm 1000r/min	NA

### 3.5.1.1 自然源

在这项研究中，分析了植物和土壤样品（自然源的重要组成部分）。对于本研究中采集的植物组织，游离 Gly 表现出负的 $\delta^{15}\text{N}$  特征。苔藓和松针中的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值分别平均为 $-14.3\pm 2.7\text{‰}$ 和 $-11.7\pm 1.8\text{‰}$ 。相比之下，稻田土壤（ $+1.7\pm 0.8\text{‰}$ ）和

隧道土壤 ( $+7.5\pm 1.9\%$ ) 的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  正值高于植物组织 (表 9)。此外, 植物 ( $-13.6\pm 2.5\%$ ) 和土壤 ( $+4.6\pm 4.0\%$ ) 之间的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值差异显著 (单因素方差分析,  $p < 0.05$ )。

### 3.5.1.2 厨房油烟

从厨房油烟中收集的游离 Gly 表现出相对偏正的 $\delta^{15}\text{N}$  值, 平均值为  $+6.0\pm 1.5\%$  (范围:  $+4.5\%$ 至 $+7.8\%$ ), 明显高于植物 ( $-13.6\pm 2.5\%$ ), 但显著低于生物质燃烧释放的游离 Gly (单因素方差分析,  $p < 0.05$ )。不幸的是, 厨房油烟和土壤中 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值的变化范围是重叠 (表 9)。

### 3.5.1.3 生物质燃烧排放

通常, 生物质燃烧释放的游离 Gly 表现出非常正的 $\delta^{15}\text{N}$  值。本研究首次测定了来自生物质燃烧的气溶胶颗粒中游离 Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$  值。松木燃烧 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值分别为  $+17.7\%$ 和 $+16.9\%$  ( $n = 2$ )。秸秆焚烧的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值在  $+22.7\%$ 至 $+27.3\%$ 之间, 平均值为  $+25.7\pm 2.6\%$  ( $n = 3$ ) (表 9)。生物量燃烧过程中收集的气溶胶颗粒中的游离 Gly 的氮同位素 ( $+22.4\pm 5.0\%$ ) 显著高于本研究中收集的两种植物 (苔藓和松针) 的氮同位素值 ( $-13.6\pm 2.5\%$ ) (单因素方差分析,  $p < 0.05$ ), 2 者平均值之间相差  $36\%$ 。这表明通过生物质燃烧释放的颗粒中的游离 Gly 优先富集  $^{15}\text{N}$ 。

### 3.5.1.4 煤燃烧

煤烟通常在工业锅炉中燃烧, 而由煤烟和黏土制成的蜂窝煤在中国被燃烧用于民用燃烧煤 (Zhang et al., 2008)。在这项研究中, 收集了来自沥青燃烧 ( $n = 3$ ) 和蜂窝煤燃烧 ( $n = 2$ ) 的气溶胶样品。沥青燃烧产生的游离 Gly 浓度低于分析方法的最低检测线 ( $0.1 \text{ pmol m}^{-3}$ ), 这表明沥青燃烧可能不是气溶胶中游离 Gly 的来源。

有趣的是, 在蜂窝煤的燃烧释放的气溶胶颗粒中检测到了游离的 Gly。由于蜂窝煤制作过程中添加了粘土, 蜂窝煤燃烧过程中释放的游离 Gly 可能来自燃烧过程中的粘土分解。此外, 蜂窝煤团块燃烧产生的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值 ( $+22.6\%$ ) 也相对于未燃烧土壤中的平均 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值 ( $+4.6\pm 4.0\%$ ) 富集  $^{15}\text{N}$  ( $18\%$ )。可见蜂窝煤燃烧释放的甘氨酸也显著富集了  $^{15}\text{N}$ 。

### 3.5.1.5 车辆排放

为了评估车辆排放物是否是气溶胶中游离 Gly 的主要来源, 我们收集了不同

的发动机（例如柴油发动机和汽油发动机）和不同的燃料类型在车辆释放的气溶胶样品（例如柴油，92#汽油和95#汽油）（表9）。但是，在所有车辆排放物中捕获的颗粒中均未检测到游离 Gly。因此，从车辆排气中释放的游离 Gly（如果存在）低于  $0.1 \text{ pmol m}^{-3}$ ，我们得出结论，车辆排放可能不是在大气颗粒物中游离 Gly 的主要来源。

### 3.5.2 气溶胶中的游离甘氨酸

在于都森林 TSP 中游离氨基酸氮同位素值的时间变化和 2 天后向轨迹所经过的火点如图 10 所示。于都森林气溶胶中游离 Gly 的同位素组成范围为  $-4.6\%$  至  $+21.8\%$ ，平均值为  $+11.4 \pm 6.0\%$  ( $n = 29$ )。在这项研究中，于都森林周围的着火点是根据 NASA 地球观测站的火点数据得出的 (<https://earthdata.nasa.gov/earth-observation-data/near-real-time/firms/active-fire-data#tab-content-6>)。于都森林的  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值和着火点表现出相同的时间变化规律。受火点影响少的森林气溶胶中游离 Gly 的同位素组成范围是  $-4.6\%$  至  $+3.3\%$ （1月5-6日和1月25-30日），接近自然源中游离 Gly 值（例如植物，土壤，微生物和动物残骸）。受更多火点影响的森林气溶胶（1月1-4日，1月9-16日，2月2-7日，2月10-17日和2月18-27日）中游离 Gly 的同位素组成更偏正，范围为  $+10.1\%$  至  $+21.8\%$ ，说明在这段时间内森林气溶胶受生物质燃烧的影响大（图10）。简而言之，在生物量燃烧贡献较大的时期，气溶胶中游离甘氨酸的氮同位素更加偏正。

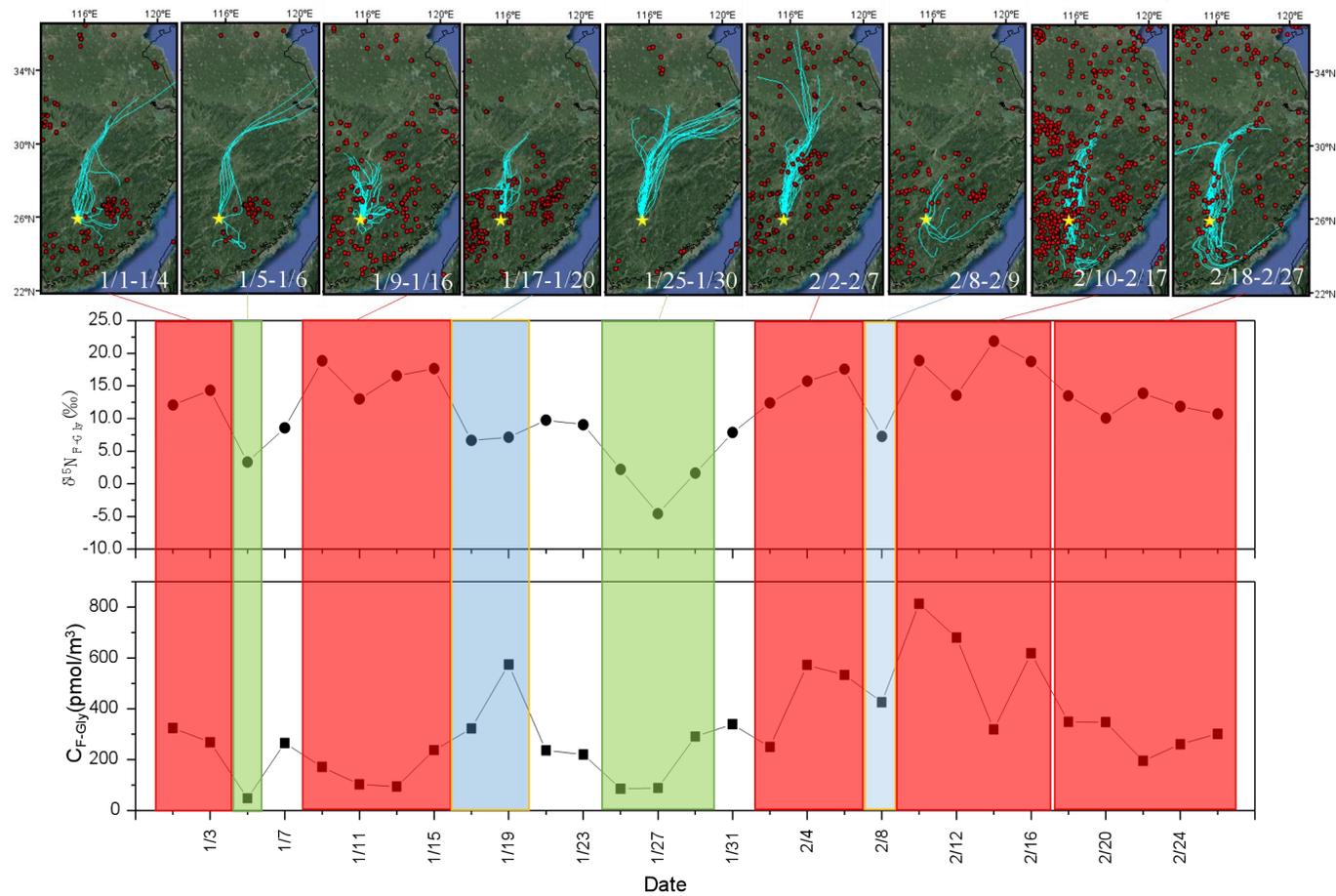


图 10。于都县森林采样期间 TSP 中 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值及游离 Gly 的浓度。后向轨迹为于都森林海拔 100m（海平面以上）两天的计算结果。黄色五角星代表采样点。红色点为从 NASA 收到的火点数据

此外, 于都森林 TSP 样品中游离 Gly 与  $\text{Nss-K}^+$  浓度正相关 ( $y = 144.30 + 351.73x$ ,  $R = 0.576$ ,  $P < 0.05$ ) (图 11B)。但该线性关系不包括 2 月 14 日至 17 日的的数据, 因为那四天是中国农历新年。春节的传统习俗之一是放烟花, 而烟花爆竹成分之一是 K 元素, 在此期间观察到气溶胶中钾浓度的异常高。此外,  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值与  $\text{Nss-K}^+$  浓度的对数有很好的相关性 ( $y = 14.23 + 3.64x$ ,  $R = 0.608$ ,  $P < 0.05$ ) (图 11A)。

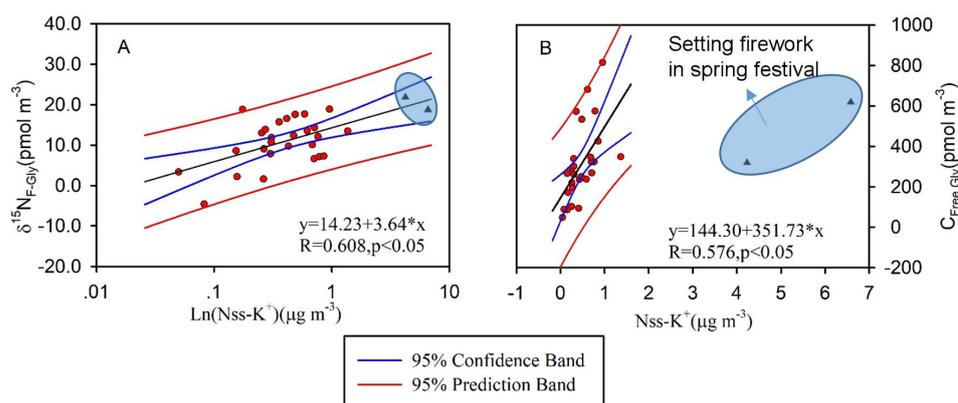


图 11 于都森林 TSP 中  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值 (A)、游离 Gly 浓度 ( $\text{pmol m}^{-3}$ ) (B) 与非海盐钾 ( $\text{nss-K}^+$ ) ( $\mu\text{g m}^{-3}$ ) 的关系。三角形代表春节期间受烟花影响的样本, 这些样本被排除在回归分析之外。黑线表示线性回归拟合线, 蓝线表示 95% 置信区间, 红线表示 95% 预测区间。 $[\text{nss-K}^+] = [\text{K}^+] - [\text{Na}^+] \times 0.037$  (Ren et al., 2018)。

### 3.6 讨论

FAA 的浓度和分子组成已被应用于追踪气溶胶中 AAs 的来源和大气过程 (Barbaro et al., 2015b; Scheller, 2001; Wedyan and Preston, 2008a), 但气溶胶中游离 Gly 的  $\delta^{15}\text{N}$  值尚未确定。尚不清楚气溶胶中游离 Gly 的氮同位素值是否可用于示踪生物质燃烧。

#### 3.6.1 与生物质燃烧相关的 Gly 的氮同位素分馏

在先前的研究中, 利用因子分析和基于因子分析的方法 (例如正矩阵分解 (PMF)) 发现生物质燃烧是气溶胶中 FAA 的潜在来源 (Barbaro et al., 2019; Mace et al., 2003a; Violaki and Mihalopoulos, 2010a)。氮同位素已被证明是研究大气氮沉

降源的有效工具。但是对生物质燃烧释放至气溶胶中 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值来说, 实验室内模拟实验和野外实验得到的数据是非常有限。本研究中尽可能的从文献数据中收集汇总了天然来源的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值。我们发现从生物质燃烧中的气溶胶粒子中的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值(范围:+ 16.9‰至+ 27.3‰)比自然源游离甘氨酸的 $\delta^{15}\text{N}$  值更加偏正, 如植物(范围: -23.5‰至+ 5.0‰)、土壤(范围: + 1.2‰至+ 9.4‰)、动物残骸(范围: + 6.1‰至+ 7.6‰)、和微生物(范围: + 5.3‰至+ 5.7‰)(图 12)。相似的, 在之前的研究中也发现受过燃烧影响的草皮粪便和海藻的古土壤中的结合态甘氨酸的 $\delta^{15}\text{N}$  值(+10.7‰)显著偏正(Simpson et al., 1999)。

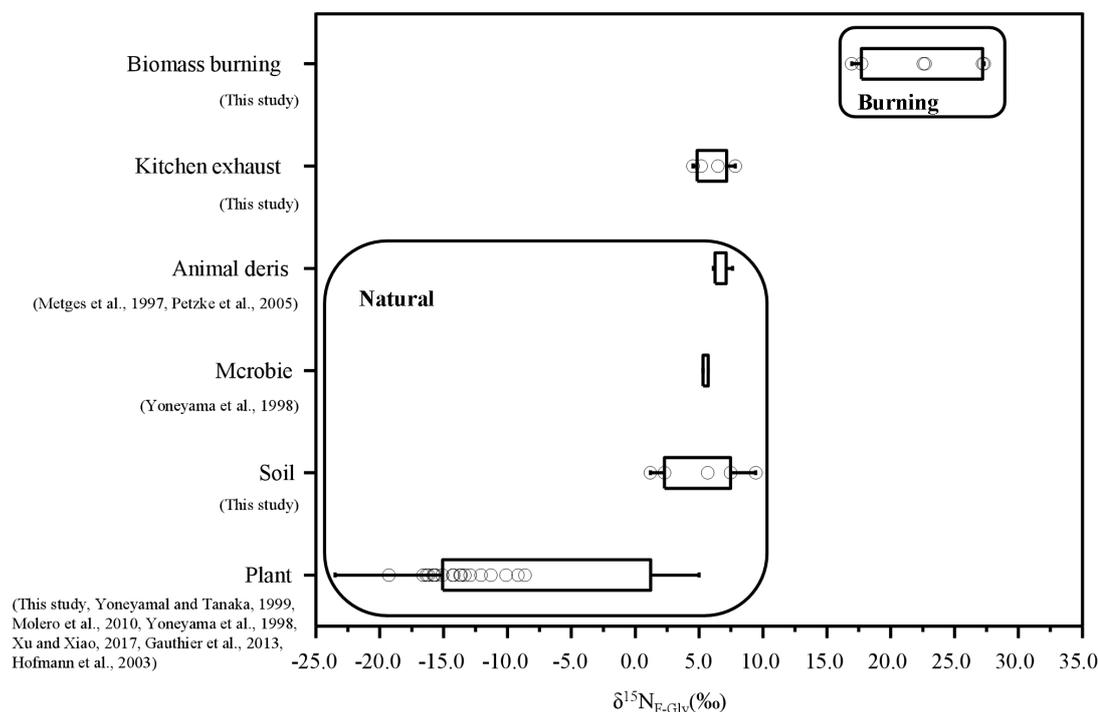


图 12 主要游离甘氨酸释放源的 $\delta^{15}\text{N}$  值变化范围。空心圆代表了本研究中游离甘氨酸的同位素组成数据。

大气颗粒物中 Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$  值与大气中高分子蛋白质物质 (HMW) 或多肽的水解过程以及产生的 FAAs 是否进一步在大气中降解有关 (图 13, 绿色阴影)。光化学水解 ( $\cdot\text{OH}$  的氧化侵蚀) 和 HMW 的酶水解或肽的酶水解被认为是 FAA 在气溶胶中的主要形成途径 (Milne and Zika, 1993a; Mopper and Zika, 1987a; Song et al., 2017b)。在光化学水解过程中, 由于甘氨酸的低空间位阻, 氧化剂优先攻击肽的多肽骨架 (Liu et al., 2017)。因此, 在气溶胶中蛋白质物质的光化学水解可以观察到游离 Gly 的产率要高于其他氨基酸。同样, Gly 在微生物酶裂解过程中

相比其他氨基酸更易于保存，这是因为 Gly 主要存在于细胞壁中，而其它 FAA 主要集中在细胞质中。由于微生物主要利用细胞质中的物质，这样其他氨基酸更加容易被微生物降解而损耗(Dauwe et al., 1999b; Yan et al., 2015)。此外，甘氨酸由于缺乏活性侧链在自然过程中甘氨酸难以被降解。这些结果均说明大气中的光化学和微生物相关的酶促过程很难破坏游离 Gly 的结构。因此，自然过程产生的游离 Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$  值可能与初始自然源中游离甘氨酸的氮同位素值相近。

然而，不同于大气中的自然过程，在生物质燃烧中，大部分的游离 Gly 降解，并且观察到 Gly 分子中连接氨基 N 的 C-N 键会断裂并导致氨基 N 的损失(Anca-Couce et al., 2018; Zhou et al., 2017)。在生物质燃烧过程中，甘氨酸连接氨基氮的 C-N 断裂优先会先释放出  $\text{NH}_3$  等亏损  $^{15}\text{N}$  的挥发氮，使残余的游离甘氨酸富集  $^{15}\text{N}$ ，然后这些富集  $^{15}\text{N}$  的游离甘氨酸进入大气并在气溶胶中保持稳定（图 13，红色阴影部分）。Kundu et al. (2010)认为生物质燃烧会产生的颗粒由多种挥发性含氮化合物，这些含氮化合物来自于燃料氮。然而，在不同生物量燃烧阶段，挥发性含氮化合物的形成机理和组成差异很大。在第一次燃烧阶段（挥发阶段），燃料氮（主要是蛋白质氮）转化为挥发性氮，例如在低于  $500^\circ\text{C}$  的温度下，连接与交省的氨基氮易于脱落形成气态  $\text{NH}_3$ 。在较高温度 Q 情况下 ( $> 500^\circ\text{C}$ )，一些挥发性 N 被氧化为  $\text{NO}_x$  (Anca-Couce et al., 2018)。在低品质燃料（例如木材和稻草）燃烧期间，发现挥发性 N 化合物，主要燃料中的氨基氮主要以  $\text{NH}_3$  形式从中释放出来(Vermeulen et al., 2012)。此外，温度是影响  $\text{NH}_3$  释放机理和释放量的关键因素。Zhou et al. (2017)认为生物质热裂解可以分为的三个阶段。在第一阶段 ( $< 300^\circ\text{C}$ )，主要发生的是不稳定蛋白质的分解，产生少量的  $\text{NH}_3$ ；在第二阶段 ( $300\sim 600^\circ\text{C}$ )，蛋白态 N 开始分裂为小分子的胺化合物，然后进行脱氨过程，生成大量  $\text{NH}_3$ ；在第三阶段 ( $600\sim 900^\circ\text{C}$ )，胺化合物被转化为大量的氰化氢。也就是说，Gly 分子中的连接氨基 N 的 C-N 断裂引起的氨基 N 损失会发在生物质燃烧过程中，当温度升高到  $300\text{-}500^\circ\text{C}$  以上时， $\text{NH}_3$  的释放量显著增加。但这一温度与大气条件明显不同。这就是为什么大量的游离 Gly 会在生物质燃烧中降解，而该降解反应不会发生在大气过程中。

尽管 Gly 分子中连接氨基 N 的 C-N 断裂反应所伴随的氮同位素分馏从未被测量过，但谷氨酸分子中氨基 N 通过  $\text{NH}_3$  形态损失这一反应的同位素分馏系数

为 14%，贫  $^{15}\text{N}$  (Tcherkez, 2011)。O'Leary et al. (1974) 发现有机反应中的 C-N 断裂所伴随的氮同位素分馏系数非常大为 25%，贫  $^{15}\text{N}$ 。这一发现表明，生物质燃烧产生的  $\text{NH}_3$  比生物质燃料中的  $\text{NH}_3$  更贫  $^{15}\text{N}$  而释放到气溶胶中的游离 Gly 则应该有着显著的正 $\delta^{15}\text{N}$  值。相应地，Turekian et al. (1998) 将生物质燃烧气溶胶颗粒中偏正的总氮同位素 $\delta^{15}\text{N}$  值归因于有机库中  $^{14}\text{N}$  气态氮的优先损失。Turekian et al. (1998)还认为这些损失的氮主要来自于 AAs 的脱氨。

尽管从不同生物燃料释放的游离 Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$  值存在差异,但是在生物质燃烧过程中 (温度高于 300-500°C), 氨基氮从 Gly 分子中已  $\text{NH}_3$  形态释放所伴随的氮同位素分馏会导致生物质燃烧与自然源之间的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值存在较大差异(图 13)。这一差异可以用来确定生物质燃烧对大气颗粒物贡献的程度。

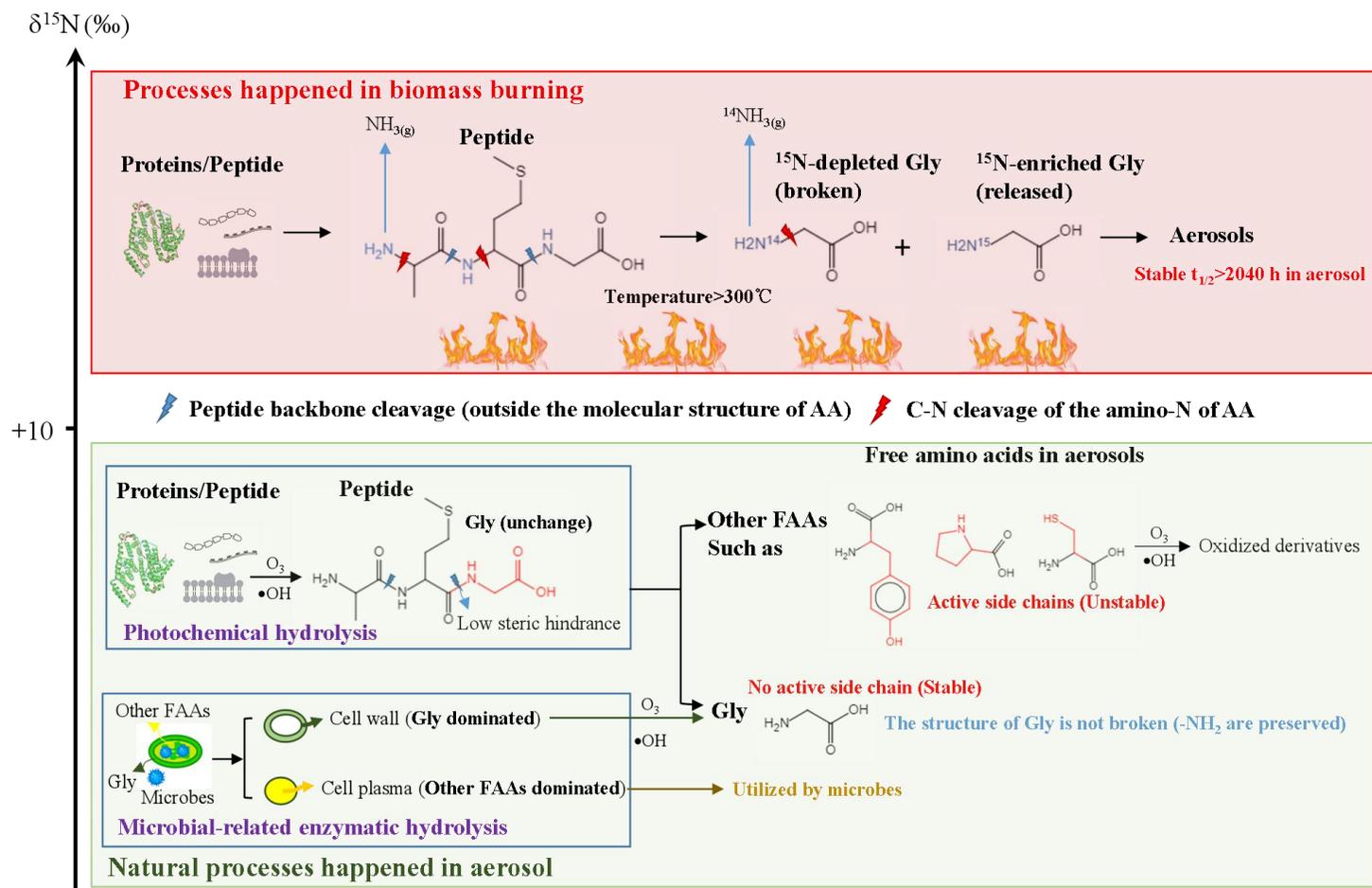


图 13 游离甘氨酸在气溶胶和生物质燃烧过程中经历的化学过程。

### 3.6.2 与烹饪相关的 Gly 的氮同位素分馏

我们的结果表明,烹饪并不会引起游离 Gly 氮同位素值的改变,这是与之前的结果一致。Deniro and Hastorf (1985)报道煮或烘烤不会导致骨骼的总 $\delta^{15}\text{N}$  值改变超过 1‰。Fernandes et al. (2014)使用三种烹饪方法(水煮、烤、蒸)烹饪生鱼片,研究了烹饪对生鱼片总氮同位素值的影响。他们的结果也表明,蒸煮过程中,大块的鱼肉和鱼的骨胶原的总氮同位素变化小于 1‰。他们将这一结果归因于挥发性氮(如  $\text{NH}_3$ ) 损失不够大,不足以有效的改变总氮同位素值。

但是,在更极端的加热条件下(温度高于  $295^\circ\text{C}$ ),观察到鱼骨的总 $\delta^{15}\text{N}$  变化大于 4‰ (Deniro and Hastorf, 1985)。如上所述,温度是控制氨基-N 释放  $\text{NH}_3$  的关键因素,温度低于  $300^\circ\text{C}$  时  $\text{NH}_3$  释放量较小。因此,我们可以推断出蒸煮对  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  的改变要小于生物质燃烧,可能是因为在这一过程中挥发性 N 化合物 ( $\text{NH}_3$ ) 的损失不足以改变  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  的值。

### 3.6.3 化石燃料燃烧释放的游离甘氨酸

长期以来,化石燃料一直被认为是人为污染物排放的重要来源 (Bond et al., 2004)。尽管未分解的植物是产生化石燃料的重要基础物质,在这项研究中,来自烟煤燃烧和所有车辆排气(包括柴油和汽油发动机)的气溶胶样品中的游离 Gly 均低于气溶胶样品 (EMDL) 的最低检测线 ( $0.1 \text{ pmol m}^{-3}$ )。以前的研究发现,在煤化阶段,原始的有机氮主要转化为吡啶,吡咯,四价氮和氮氧化物 (Kelemen et al., 1994)。Zhang et al. (2008)定量了无烟煤,烟煤和褐煤燃烧中所释放的近 200 种有机化合物;但是,在他们的研究中并没有检测到 AAs (Ge et al., 2011; Rui et al., 2009)。因此,我们可以推断出沥青燃烧和车辆排放可能不是气溶胶中 FAA 的来源。但是,在蜂窝状煤燃烧过程中释放的 TSP 中检测出了游离的 Gly。这可能是因为通常在中国居民用煤生产过程中,会添加一些生物质材料(如粘土)。在蜂窝型煤燃烧过程中。蜂窝煤释放 TSP 中游离 Gly 氮同位素的显著偏正(+22.6‰)可能是因为蜂窝煤中所添加的粘土中含有 Gly,在燃烧过程中粘土中的甘氨酸发生脱氨反应,从而使得游离 Gly 的氮同位素素值偏正。固体燃料(例如蜂窝煤)在中国大多数农村和郊区广泛用于家庭取暖和烹饪,尤其是在冬季

(Duan et al., 2014)。因此，进一步研究由居民用煤对大气颗粒物的贡献有助于我们评估在中国生物质燃烧对空气质量的影响。

### 3.6.4 使用游离 Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$ 值识别生物质燃烧

过去的研究已经发现生物质燃烧过程会释放游离 Gly。例如，在地中海东部气溶胶中，可以观察到游离 Gly 和元素碳(EC)之间的显著相关性 (Violaki and Mihalopoulos, 2010a)。Samy et al. (2013b)观察到游离 Gly 与生物量燃烧释放的含 N 杂环类化合物之间存在显著的正相关关系 ( $p < 0.002$ )。本研究，气溶胶中游离 Gly 与  $\text{Nss-K}^+$  之间高度相关 ( $R^2 = 0.68$ ,  $p < 0.01$ ) (图 11B)。由于  $\text{Nss-K}^+$  是生物质燃烧的示踪剂(Kunwar and Kawamura, 2014)，因此，可以确定燃烧过程会对气溶胶中游离 Gly 浓度产生影响。这可能是因为生物质燃烧过程会直接释放出的游离 Gly(Chan et al., 2005)。此外，与  $\text{Nss-K}^+$  不同(Wang et al., 2007)，气溶胶中游离 Gly 的浓度不受燃放烟花的影响 (图 11B)。

正如我们上面所讨论的，相对于现有的自然资源数据显示，生物量燃烧释放比自然源氮同位素值更加偏正的游离 Gly 至气溶胶中。因此，我们推断 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  可用于示踪生物质燃烧。这是首次测定气溶胶样品中 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值，所以，没有其他数据可直接与本研究中的数据进行比较。为了检验气溶胶中游离 Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$  值是否可以识别生物质燃烧源，我们将在于都森林采集的 TSP 样品中的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值与两天气团后向轨迹所经过的火点进行了比较 (图 10)。生物质燃烧对气溶胶中游离甘氨酸氮同位素组成的影响，取决于主要游离甘氨酸源的排放通量和氮同位素组成 (例如自然资源和生物质燃烧)。这项研究对主要游离 Gly 排放源的氮同位素组成进行了测定 (图 12)。生物质燃烧源的贡献增加将导致气溶胶 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值偏正。这个假设被气溶胶中游离 Gly 的氮同位素组成时间变化所证实。在于都森林受到生物量燃烧 (更多火点) 的显著影响下，气溶胶中游离 Gly 的氮同位素值偏正 (+ 10.1‰ ~ + 21.8‰) 并接近于生物质燃烧范围 (+ 16.9‰ ~ + 27.3‰)。而受生物量燃烧影响较小 (火点较少) 时期采集的 TSP 样品中游离 Gly 的氮同位素值 (-4.6‰ ~ + 3.3‰) 更加偏负，接近于植物 (-23.5‰ ~ + 4.6‰) 和土壤源 (+1.2‰ ~ + 9.4‰) 中游离 Gly 的氮同位素值 (图 10)。此外，在这项研究中发现了气溶胶中 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值与  $\text{Nss-K}^+$  之间的联系。因此，我们得出结论，气溶胶 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$

值可能是识别生物质燃烧的良好工具。

本研究的潜在局限性包括：不同的生物燃料类型、不同燃烧方式（堆烧、闷烧）条件下的氮同位素分馏程度可能存在差异，并未评估燃烧原料和燃烧条件对氮同位素分馏的影响。为了进一步降低用 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值示踪潜在来源的不确定性，需要进行进一步的实验，以更全面地了解不同生物质类型和燃烧条件下的氮分馏。

### 3.7 结论

此次研究，是首次测定了气溶胶中主要潜在排放源中游离 Gly 的氮同位素组成，包括植物，土壤，生物量燃烧，煤炭燃烧，厨房油烟和车辆排放物。另外，分析了于都森林中 TSP 中 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值的时间变化。

主要发现如下：

1. 生物质燃烧释放的游离甘氨酸 $\delta^{15}\text{N}$  的值比植物、土壤、动物粪便和微生物等自然源释放的甘氨酸 $\delta^{15}\text{N}$  的值要更偏正。
2. 烟尘和车辆排放物可能不是游离 Gly 的来源。蜂窝煤燃烧可能是中国潜在的气溶胶游离氨基酸来源，特别是在农村和郊区。这可能归因于蜂窝煤制作过程中中添加的生物质（粘土）。
3. 此处报道的结果首次表明游离 Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$  值可用于追踪生物质燃烧。这一结论被于都森林地区气溶胶中 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-gly}}$  和火点呈现出相同的时间变化趋势所支持。此外，我们还发现 TSP 样品中 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值与  $\text{Nss-K}^+$ （生物质燃烧指示物）之间存在正相关关系。

## 第四章 PM2.5 中蛋白质和游离氨基酸的来源与转化

### 4.1 材料和方法

#### 4.1.1 采样地点和样品采集

PM2.5 样品于 2019 年在南昌地区的城市、城镇、郊区、机场和森林采集 (图 14)。使用特定的高流速采样器收集石英纤维过滤器上的 PM2.5 样品。为了除去任何微量的氨基酸, 将滤膜在 450°C 下加 5h; 然后将其包裹在预先燃烧的(450°C)铝箔袋, 并放在单独的自封袋中。除了机场外, 其余的采样器位于每个地点建筑物的屋顶上, 离地面约 10 米, 而机场的采样器放置在距离跑道约 1000 米的空旷地点。在本项研究中, 从 2019 年 4 月 30 日至 2019 年 5 月 13 日每天收集 PM2.5 样品, 采样时间为下午 5 点至第二天的下午 4 点半。

2017 年 7 月收集了采样区域常用的草 (主要是稻草)、木材 (主要是松树) 作为生物质燃烧的重要原料。从南昌地区 (115.1° E, 28.2° N) 的水稻种植土壤的最上层 10 厘米处采集作物土壤样品。从隧道 (106.7° E, 26.7° N) 表层土壤中收集道路土壤。从烟囱中收集草燃烧、木材 1 (主要是松树) 燃烧和蜂窝煤 (包含粘土) 燃烧产生的气溶胶。木材和较小的树枝在蜂窝煤球加热炉中燃烧, 而草 (稻草) 在土灶中燃烧。燃烧通常持续 5 至 15 分钟。

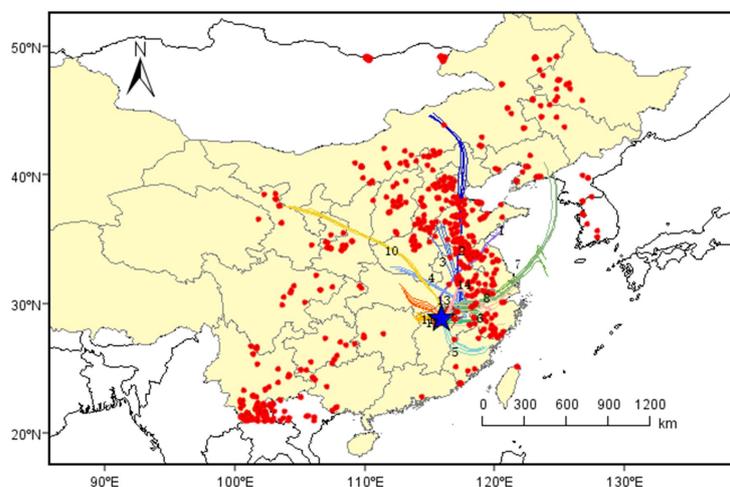


图 14 采样点 2 天的后向轨迹。蓝色五角星是采样点。红色圆点是从 NASA 收集的 2019 年

4月28日至5月1日采样点周边的火点数据。

#### 4.1.2 气象信息和空气质量数据

气象参数包括风速 (WS)、风向 (WD)、温度 (T) 和相对湿度 (RH)，在采样期间从全球天气和气候信息网络上下载 (<http://www.weatherandclimate.info/>) 的浓度，可以从中国空气质量在线监测分析平台下载 (<https://www.aqistudy.cn/>)。

#### 4.1.3 后向轨迹和火点

使用 MeteoInfoMap 软件 (版本 1.4.9R2)，由 TrajStat (版本 1.4.4R5) 计算了海拔 500 m 处的气团 2 天后向轨迹。从 NOAA's 空气资源实验室 (<https://ready.arl.noaa.gov/archives.php>) 的数据库中获得了用于计算后向轨迹的气象数据。采样区域周围的火点来自 NASA 地球观测站的火点数据 (<https://earthdata.nasa.gov/earth-observation-data/near-real-time/firms/active-fire-data#tab-content-6>)。

#### 4.1.4 样品制备和化学分析

PM2.5 中的氨基酸分为两个部分 (i) 游离氨基酸 (FAA) (即以可溶解状态存在的氨基酸，直接由 Milli-Q 水提取)；(ii) 结合氨基酸 (CAA) (即通过水解释放的蛋白质和多肽中存在的氨基酸)。

#### 4.1.5 FAA 分析的提取

在实验室中，切割滤膜的四分之一大小，并放其放入 50ml 的离心管中，并加入 50ml 的 Milli-Q 水。超声振动、振荡并离心分离后，将提取物通过 0.22 $\mu$ m 的聚四氟乙烯过滤器过滤。将所有 PM2.5 样品和提取物都保存在 -20 $^{\circ}$ C 的冰箱中，直至进行仪器分析。为了避免实验室空气颗粒的污染，将样品在超净室 (100 级) 内处理。还采取了现场空白过滤器并使用相同的程序进行处理。所有报告的值均进行空白校正。

#### 4.1.6 CAA 的水解

为了研究气溶胶中的结合氨基酸，使用高温酸的水解方法将 PM2.5 多肽和蛋白质中的总水解氨基酸 (TAA) 释放出来。使用 Mandalakis et al. (2011b) 和 Ren et al. (2018) 的方法制备样品。简而言之，将一小部分滤膜破碎成小块，然后转移到玻璃水解管中。加入 200 $\mu$ l 的抗坏血酸和 10ml 的 6M HCl 后，在液面上下分别用 N<sub>2</sub> 冲洗试管 3min，然后将其紧密密封，并将样品放在 110 $^{\circ}$ C 下水解 24h。随后，将样品放入 Milli-Q 水中再溶解，并冷冻保存 (-20 $^{\circ}$ C)。处理过程中空白滤膜也被水解，因此所有 TAA 浓度都可以进行空白校正。CAAs 的浓度计算为 TAA 和 FAA 的浓度之差。

#### 4.1.7 标准溶液

通过将 25 种氨基酸的标准混合物 (丙氨酸 (Ala), 天冬酰胺 (Asn), 精氨酸 (Arg), 天冬氨酸 (Asp), 组氨酸 (His), 谷氨酰胺 (Gln), 谷氨酸 (Glu), 甘氨酸 (Gly), 异亮氨酸 (Ile), 脯氨酸 (Pro), 苯丙氨酸 (Phe), 亮氨酸 (Leu), 赖氨酸 (Lys), 蛋氨酸 (Met), 丝氨酸 (Ser), 苏氨酸 (Thr), 缬氨酸 (Val),  $\gamma$ -氨基丁酸 (GABA), 酪氨酸 (Tyr), 色氨酸 (Trp), 高丝氨酸 (Homoser), 半胱氨酸 (Cys), 瓜氨酸 (Cit) 和肌氨酸 (Sar)) 分别溶于 0.1M HCl 来制备标准溶液。混合 AAs 的标准为 0.2 $\mu$ mol ml<sup>-1</sup>; 然后稀释至 0.002、0.02、0.04、0.08 和 0.16nmol ml<sup>-1</sup>。

#### 4.1.8 AA 浓度分析

加入 2-氨基丁酸 (AABA) 作为内标后，将从 PM2.5 中提取的 FAA 和水解 CAA 调至 PH=7, 然后通过阳离子交换柱 (Dowex 50 W  $\times$  8 H<sup>+</sup>, 200-400 mesh size, Sigma-Aldrich) 进行纯化。纯化的 AAs 用 10ml 的 10% 氨水洗脱。之后，将洗脱的纯化 AAs 蒸发至干并作为 AA-叔丁基二甲基甲硅烷基 (tBDMS) 衍生物进行分析 (Zhu et al., 2018)。

使用气相色谱-质谱仪 (GC-MS) 分析 FAA 和 CAA 的浓度。GC-MS 仪器由连接到 Thermo ISQ QD 单四极杆质谱仪的 Thermo Trace GC (Thermo Scientific,

Bremen, Germany) 组成, 该质谱仪提供每个洗脱峰的结构和浓度信息。之前已经描述了 GC-MS / IRMS 分析中使用的 GC 色谱柱和条件(Zhu et al., 2018)。单四级杆质谱仪在电子碰撞电离 (70 eV 电子能量) 和全扫描模式下运行。传输线和离子源的温度分别保持恒定在 250° C 和 200° C。表 10 中提供了进一步的质量保证和控制 (回收率, 线性, 检测限, 定量限以及 AA 气溶胶样品中的相应有效限)。

表 10 在全扫描模式下用 GC-MS 测定氨基酸衍生物校正曲线的相关性、最低检测线、最低定量线和气溶胶样品中最低检测浓度。

氨基酸	游离态回收率%	结合态回收率%	相关系数 ( $r^2$ )	LOD (pmol)	LOQ (pmol)	EMDL (pmol m-3)
Ala	103±4	94±3	0.9928	0.1	0.3	0.1
Gly	<b>97±5</b>	<b>103±25</b>	0.9948	0.1	0.5	0.1
Val	98±3	97±3	0.9936	0.1	0.3	0.1
Leu	96±1	95±6	0.9917	0.1	0.3	0.1
Ile	94±1	93±1	0.9930	0.1	0.3	0.1
Gaba	95±3	92±6	0.9955	0.2	0.7	0.2
Pro	101±10	74±2	0.9975	0.7	2.3	0.7
Met	99±5	91±5	0.9946	0.1	0.3	0.1
Ser	101±5	84±2	0.9883	0.1	0.4	0.1
Thr	83±11	91±5	0.9891	0.1	0.3	0.1
Phe	82±1	84±2	0.9921	0.1	0.2	0.1
Asp	96±2	86±18	0.9914	0.1	0.4	0.1
Glu	96±1	112±20	0.9868	0.9	3.1	1.0
Asn	89±5	NA	0.9978	1.7	5.8	1.8
Lys	93±7	67±5	0.9865	0.3	1.0	0.3
Gln	95±7	NA	0.9959	0.8	2.8	0.9
Arg	86±9	60±6	0.9969	0.9	2.9	0.9
His	95±15	92±5	0.9944	2.8	9.2	2.9
Tyr	79±1	52±2	0.9954	0.3	0.8	0.3
Trp	80±4	NA	0.9917	14.4	48.0	15.0
Homoser	108±4	95±1	0.9924	0.1	0.4	0.1
Cys	115±10	NA	0.9851	0.8	2.7	1.0
Orn	83±9	55±6	0.9901	2.5	7.7	2.6
Cit	102±10	91±3	0.9874	0.8	2.8	0.9
Sar	96±4	96±5	0.9931	0.1	0.4	0.1

值得注意的是, Asn 和 Gln 在水解过程中分别转化为 Asp 和 Glu, 因此水解样品中 Asp 和 Glu 的浓度分别代表 Asp 和 Asn 的总和以及 Glu 和 Gln 的总和。Met 和 Trp 的半衰期在大气中被证明很短。另外, 在酸性水解过程中不能有效地

回收 Trp 和 Cys (表 10)。此外, 在 PM2.5 样品中未测到水溶性 His。

#### 4.1.9 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Gly}}$ 值的分析

甘氨酸叔丁基二甲基甲硅烷基 (tBDMS) 衍生物的  $\delta^{15}\text{N}$  值是使用 Thermo Trace GC (Thermo Scientific, Bremen, Germany) 和合流四接口与 Thermo Delta V IRMS (Thermo Scientific, Bremen, Germany) 连接来获得的。用 DB-5 柱 (30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25  $\mu\text{m}$ ; Thermo Scientific, Bremen, Germany) 分离 AAs, 氦气载气流速为 1.0 mL/min。GC 的柱箱温度从 90 $^{\circ}\text{C}$  (保持 1 分钟) 开始, 然后以 12 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$  加热到 150 $^{\circ}\text{C}$  (保持 5 分钟), 然后再以 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$  加热到 220 $^{\circ}\text{C}$ , 最后以 12 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$  升至 285 $^{\circ}\text{C}$  (保持 7.5 分钟)。燃烧反应器在 1000 $^{\circ}\text{C}$  下运行。在分析每个样品时, 系统用氦气反向逆流 900s。每个样品以不分流模式注入 0.5-1.0  $\mu\text{L}$  的体积。注射器的温度为 270 $^{\circ}\text{C}$  (Zhu et al., 2018)。先前的研究提供了  $\delta^{15}\text{N}_{\text{Gly}}$  分析的精度好于  $\pm 1.0\text{‰}$ 。已知同位素值的  $\alpha$  氨基丁酸 (AABA) 被用作内标加入每个样品中用于确定同位素测定的准确性。只有在 GC-IRMS 和 EA-IRMS 测定的 AABA 同位素值差异小于 1.5 $\text{‰}$ , 结果才被认为是可靠的。每个报告的值都是至少三个  $\delta^{15}\text{N}$  测定值的平均值。

#### 4.2 贝叶斯模型计算源贡献

R 模型中的贝叶斯稳定同位素分析 (SIAR) 已被广泛用于生态学的食物链研究中, 因为它可以使用同位素值来计算每个源的比例贡献, 并结合与源同位素值相关的不确定性 (Luo et al., 2019)。在本研究中, 该模型用于在 PM2.5 中 FAAs 和 CAAs 的主要源贡献的计算。使用该方法以生成 10000 个可行解。在计算过程中, 源分析中的不确定性来自主要的游离和结合 Gly 源的  $\delta^{15}\text{N}$  的变化, 大气中游离氨基酸和结合氨基酸主要源的 Gly  $\delta^{15}\text{N}$  平均值和精度列于表 11 中。

表 11 采样点区域主要游离和结合甘氨酸释放源的氮同位素值

源	数量	$\delta^{15}\text{N}$ 值/‰				参考文献
		Mean	SD	Min	Max	
植物中游离 Gly	21	-13.4	3.0	-19.3	-7.6	本研究; Zhu et al., (2018)
土壤中游离 Gly	5	5.2	3.5	1.2	9.4	本研究
生物质燃烧游离 Gly	6	22.4	4.4	16.9	27.3	本研究
植物中结合 Gly	5	-11.1	2.7	-13.2	-6.6	本研究
土壤中结合 Gly	7	2.6	4.6	-1.6	7.8	本研究
生物质燃烧结合 Gly	6	19.2	0.6	18.1	19.8	本研究

### 4.3 统计分析

主要使用 SPSS16.0 (SPSS Science, USA) 进行统计分析。线性回归分析被应用于分析 PM2.5 中游离态 Gly 的氮同位素值随结合态 Gly 氮同位素值的变化。不同采样点之间 AAs 浓度和  $\delta^{15}\text{N}_{\text{AAs}}$  显著性差异用单因素方差分析方法 (ANOVA) 和 LSD 检验。生物质燃烧释放的结合态 Gly 和游离态 Gly 的氮同位素之间的显著性差异用 Student's *t*-test 检验。 $p < 0.05$  被认为统计学上有显著差异。图形主要通过 Sigmaplot 12.5 (SPSS Science, Chigago, USA) 和 Origin 2017 (OriginLab Corporation, USA) 绘制。

### 4.4 结果

#### 4.4.1 PM2.5 中氨基酸的主要释放源

##### 4.4.1.1 主要释放源中氨基酸的百分比分布

在不同来源的样品中检测到 23 种游离氨基酸。这些可检测的 FAAs 包括 Gly, Ala, Pro, Val, Leu, Ile, Asp, Asn, Arg, Glu, Gln, His, Phe, Lys, Met, Ser, Thr, Tyr, Trp, Gaba, Homoser, Cys 和 Orn。如图 2 所示, 在生物质燃烧 (蜂窝煤、稻草和松树燃烧)、土壤和植物源中 FAA 的百分占比存在很大差异。在生物质燃烧源中, Gly, Ala, Pro 和 Asn 是占比最高的游离氨基酸, 占总平均值的 90%; 在土壤来源中, 观察到 Ala, Gly, Val, Leu, Ile 和 Glu 的占比高于其他 FAAs; 而在植物来源中, Glu, Asp, Ala 和 Arg 是 FAAs 中主要的氨基酸种类。值得注意的是, 游离 Gly 在这三个主要释放源中的占比不同。在生物质燃

烧样品中游离 Gly 占总 FAA 的比例最高 ( $52.60 \pm 7.91\%$ )；然而，在土壤样品中 Gly 占总 FAA 比例下降为  $15.71 \pm 5.25\%$ ；而植物样品中 Gly 仅占总 FAA 的  $2.27 \pm 1.13\%$ 。

本研究中使用酸水解法在源样品中检测出 15 种结合氨基酸。这些结合氨基酸包括 Gly, Ala, Pro, Val, Leu, Ile, Asp, Glu, His, Phe, Lys, Met, Ser, Thr 和 Tyr。同样地，三种主要大气氨基酸源中结合氨基酸的百分比分布也存在差异。在图 2 中，可以看出，Gly, Ala 和 Val 是生物质燃烧源中主要的结合氨基酸；Ala, Val, Pro, Leu 和 Ile 是土壤来源中结合氨基酸的主要成分；而在植物源中 Ala, Pro, Leu, Lys 和 Asp 占总结合态氨基酸的比例更高。与主要氨基酸释放源中游离 Gly 占总游离氨基酸的百分比变化规律相似，生物质燃烧样品中含有大量的结合态 Gly，其占 CAA 的平均百分比为  $44.49 \pm 16.96\%$ ，而在土壤样品中 Gly 仅占总结合氨基酸的百分比为  $5.61 \pm 4.09\%$ 。植物样品中 Gly 占总结合氨基酸的百分比为  $8.27 \pm 1.19\%$ 。

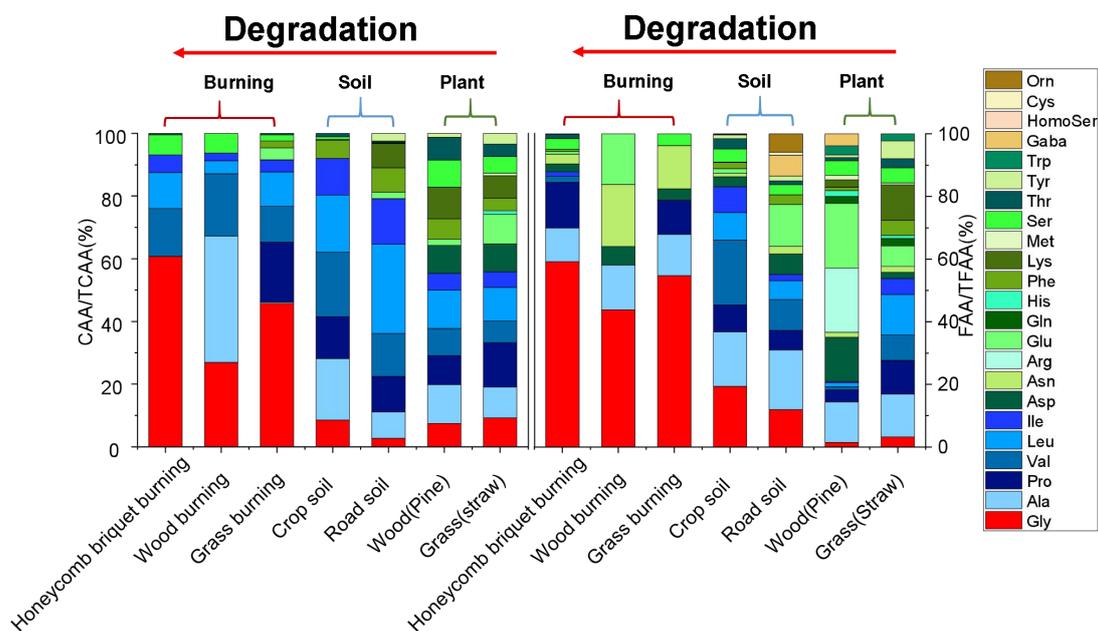


图 15 生物质燃烧、土壤和植物源中游离氨基酸单体的百分比分布

#### 4.4.1.2 生物质燃烧事件中 Gly 的变化模式

图 3 显示了生物质燃烧、土壤和植物源样品中的 FAA/F-Gly 的浓度比值。三种氨基酸源中 FAA/F-Gly 浓度比值有着显著差异。在生物质燃烧源中，FAA/F-Gly 比最低，在土壤源中该比值有所增加，而在植物源中该比值最高。此外，在所有

生物质燃烧的样品中，FAA/F-Gly 比率均低于 1（图 16）。这就表示在生物质燃烧过程中，其他游离氨基酸比游离 Gly 降解的更多。另外，除木材燃烧样品中 Ala 占总氨基酸的百分比最高外，生物质燃烧源样品中游离 Gly 和结合 Gly 均占总氨基酸的百分比最高（图 17）。在蜂窝煤燃烧、木材燃烧和草燃烧中，游离 Gly 的百分比分布分别为 59.18%、43.83%和 54.79%，而结合 Gly 的百分比分布分别为 60.74%、26.90%和 45.82%。

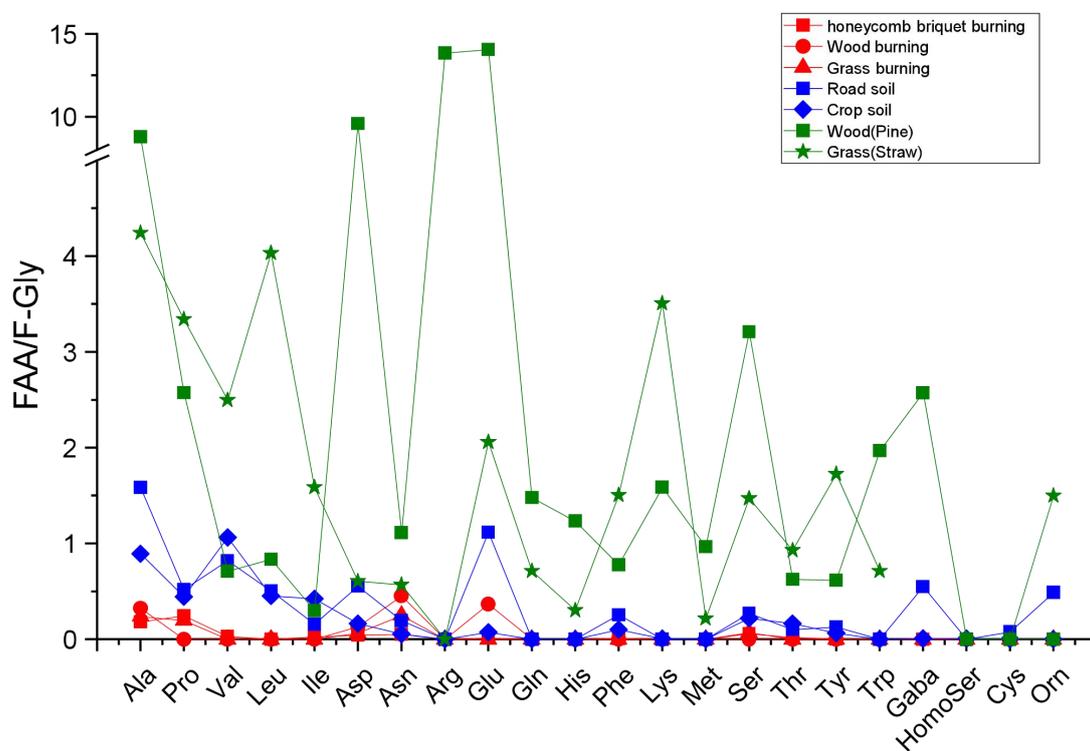


图 16 生物质燃烧、土壤和植物源中 FAA 与 F-Gly 的浓度比例

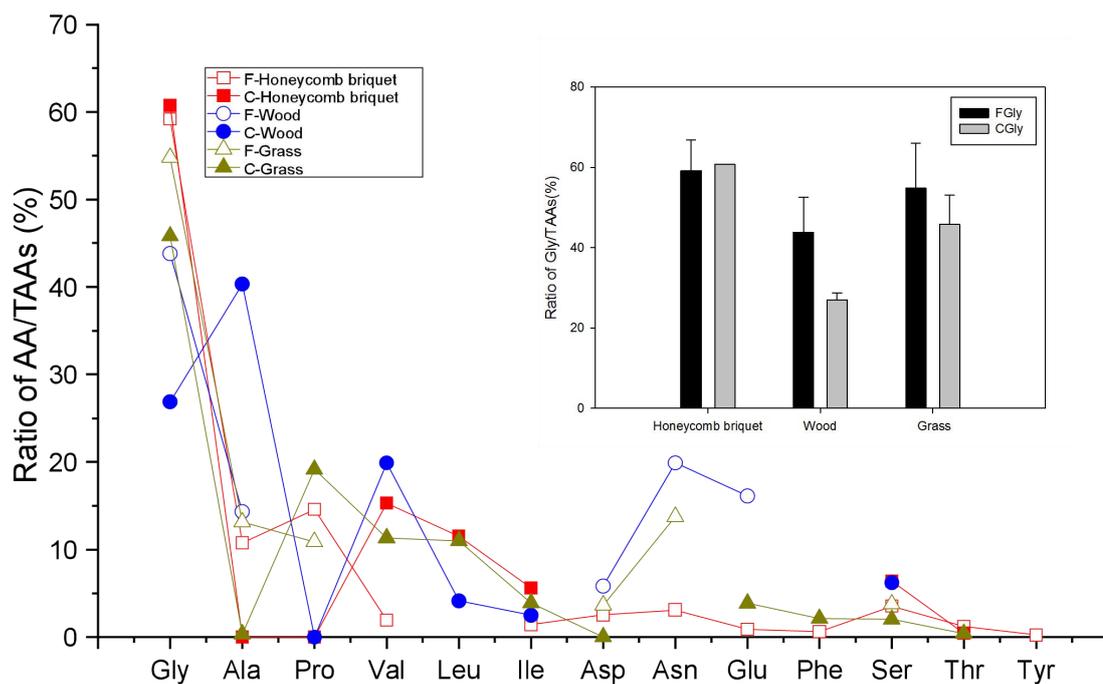


图 17.3 种生物质燃烧源（蜂窝煤燃烧、松木燃烧和稻草燃烧）中氨基酸单体的百分占比

#### 4.4.1.3 生物质燃烧中游离和结合 Gly 的氮同位素特征

为了更好的理解源贡献对 PM2.5 中游离和结合态 PM2.5 同位素组成的影响，我们测定了研究区中主要氨基酸释放源中游离和结合 Gly 的同位素组成。主要游离氨基酸释放源的氮同位素值如图 18 所示。生物质燃烧、土壤和植物源的游离 Gly 平均氮同位素值分别为 $+22.4 \pm 4.4\text{‰}$ 、 $+5.2 \pm 3.5\text{‰}$ 和 $-13.4 \pm 3.1\text{‰}$ 。而生物质燃烧、土壤和植物源的结合态 Gly 平均氮同位素值分别为 $+19.2 \pm 0.6\text{‰}$ 、 $+2.6 \pm 4.6\text{‰}$ 和 $-11.1 \pm 2.7\text{‰}$ 。显然自然源和生物质燃烧源释放的 Gly 的氮同位素值有着明显差异，这可以被用于 PM2.5 中氨基酸源的示踪。

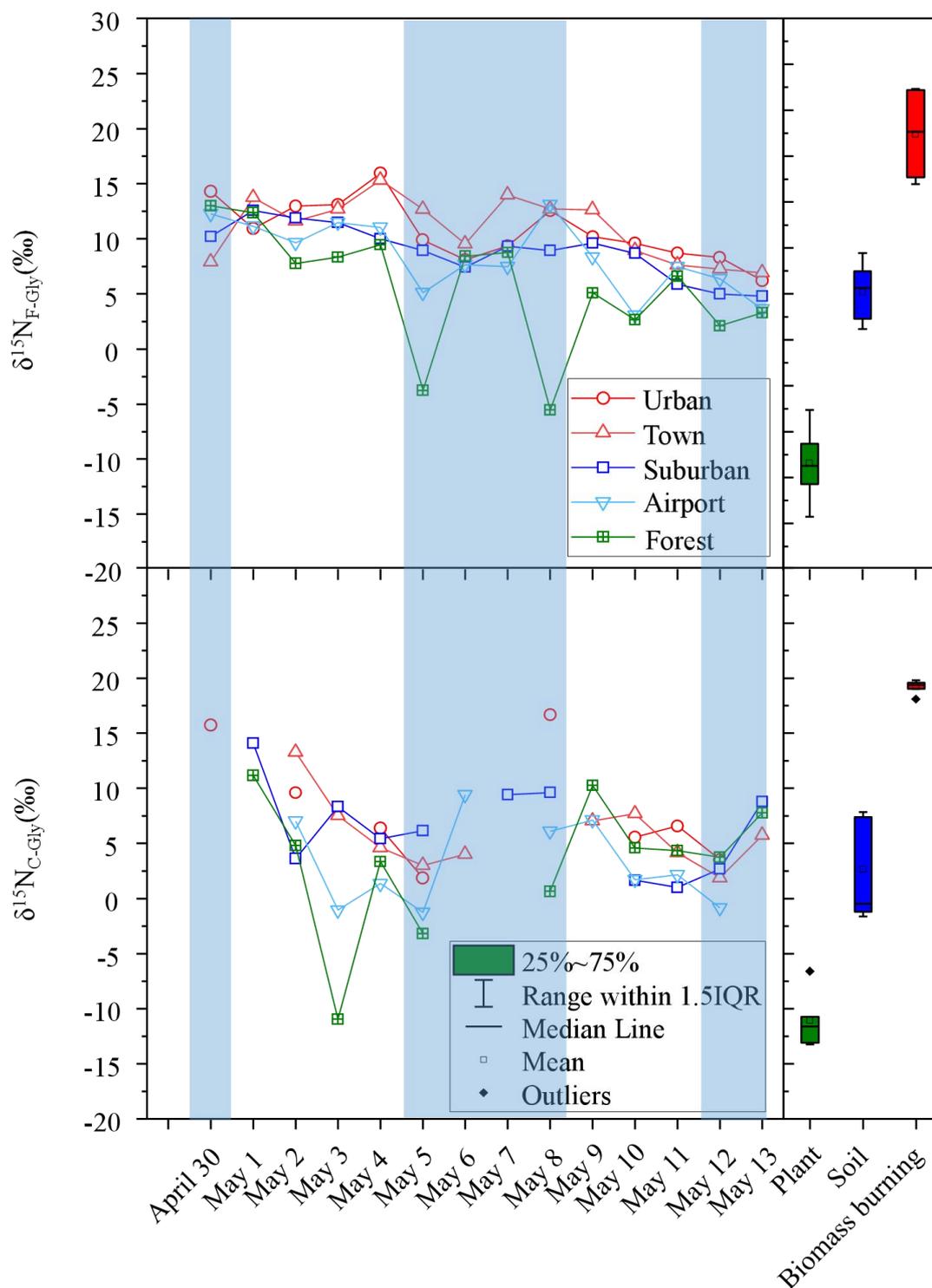


图 18 城市、城镇、郊区、机场和森林 PM2.5 中以及采样点周围区域甘氨酸主要释放源中游离甘氨酸和结合甘氨酸的氮同位素值。

蜂窝煤燃烧、木材燃烧（松木）和草燃烧（秸秆）释放的游离 Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$  平均值分别为  $23.08 \pm 0.91\%$ 、 $17.32 \pm 0.38\%$  和  $25.73 \pm 2.15\%$ 。使用 T 检验 (Student's *t*-test)，我们发现在蜂窝煤燃烧 ( $21.80 \pm 1.90\%$ ) 和木材燃烧 ( $19.26 \pm 0.21\%$ ) 中，

游离 Gly 和结合 Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$  平均值彼此之间没有显著差异 ( $p>0.05$ )。但是在草燃烧中,结合 Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$  值( $19.17\pm 0.76\text{‰}$ )明显低于游离 Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$  值( $p<0.05$ )。

我们发现游离和结合 Gly 之间的 $\delta^{15}\text{N}$  差异取决于游离和结合 Gly 的浓度比 (F-Gly/C-Gly)。在木材和蜂窝煤的燃烧有着相似的 F-Gly / C-Gly 浓度比, 并且游离 Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$  值接近于结合 Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$  值。但是, 在稻草燃烧中, 观察到较低的 F-Gly / C-Gly 浓度比, 游离态和结合态 Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$  值存在较大的差异, 而游离 Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$  值比结合态 Gly 更偏正 (图 19)。

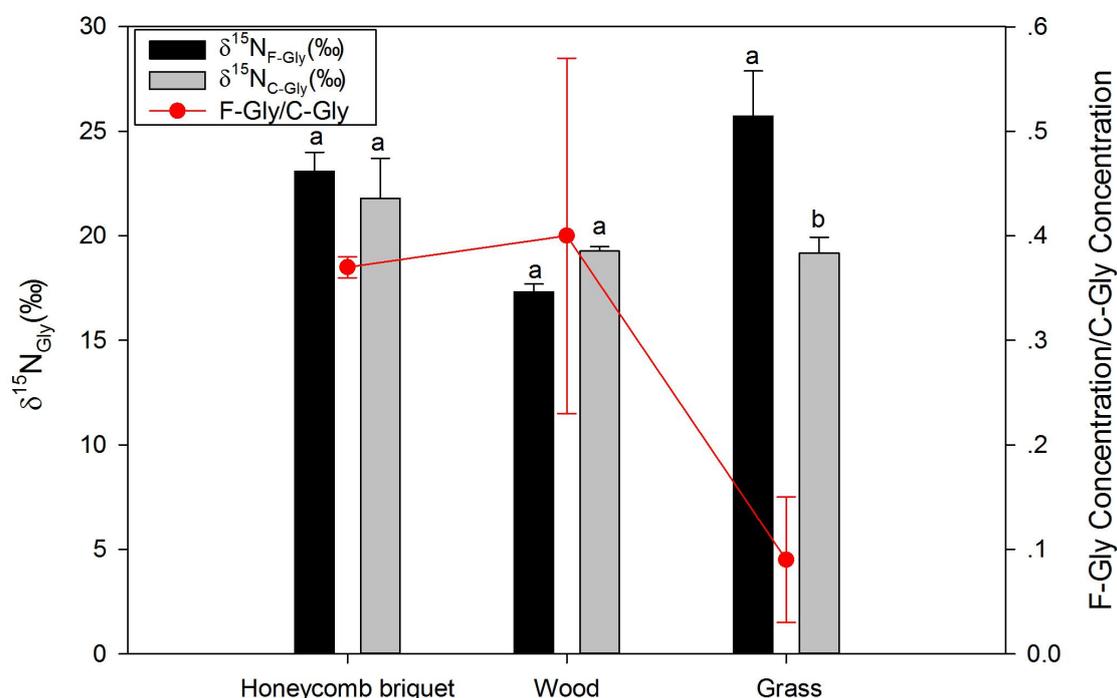


图 19 蜂窝煤、松木和稻草燃烧过程释放气溶胶中游离和结合态甘氨酸的氮同位素值以及 F-Gly/C-Gly 的浓度比值。

#### 4.4.2 PM2.5 中 AAs 的浓度、分布和 $\delta^{15}\text{N}$ 组成

##### 4.4.2.1 不同采样点 PM2.5 中氨基酸浓度

在不同采样点的氨基酸浓度如图 20 所示。不同采样点 PM2.5 中 CAAs 浓度范围为  $35.6\text{--}7155.9\text{ nmol m}^{-3}$ , 机场最高 ( $3172.0\pm 2109.2\text{ pmol m}^{-3}$ ), 其次是城市 ( $2651.0\pm 2431.0\text{ pmol m}^{-3}$ )、森林 ( $2196.1\pm 1389.5\text{ pmol m}^{-3}$ )、城镇 ( $1999.0\pm 1234.5\text{ pmol m}^{-3}$ ) 和郊区 ( $1402.7\pm 1043.7\text{ pmol m}^{-3}$ )。

在 PM<sub>2.5</sub> 样品中, 游离氨基酸的平均浓度 ( $292.3 \pm 178.9 \text{ pmol m}^{-3}$ ) 比结合氨基酸的平均浓度 ( $2284.1 \pm 1780.6 \text{ pmol m}^{-3}$ ) 低了近 8 倍 (图 20)。PM<sub>2.5</sub> 中总 FAA 的浓度范围为  $57.0\text{--}1238.0 \text{ pmol m}^{-3}$ , 机场游离氨基酸浓度最高 ( $321.1 \pm 199.8 \text{ pmol m}^{-3}$ ), 其次是城市 ( $306.8 \pm 131.0 \text{ pmol m}^{-3}$ )、城镇 ( $350.1 \pm 266.7 \text{ pmol m}^{-3}$ )、郊区 ( $263.5 \pm 113.1 \text{ pmol m}^{-3}$ ) 和森林 ( $220.1 \pm 132.5 \text{ pmol m}^{-3}$ )。

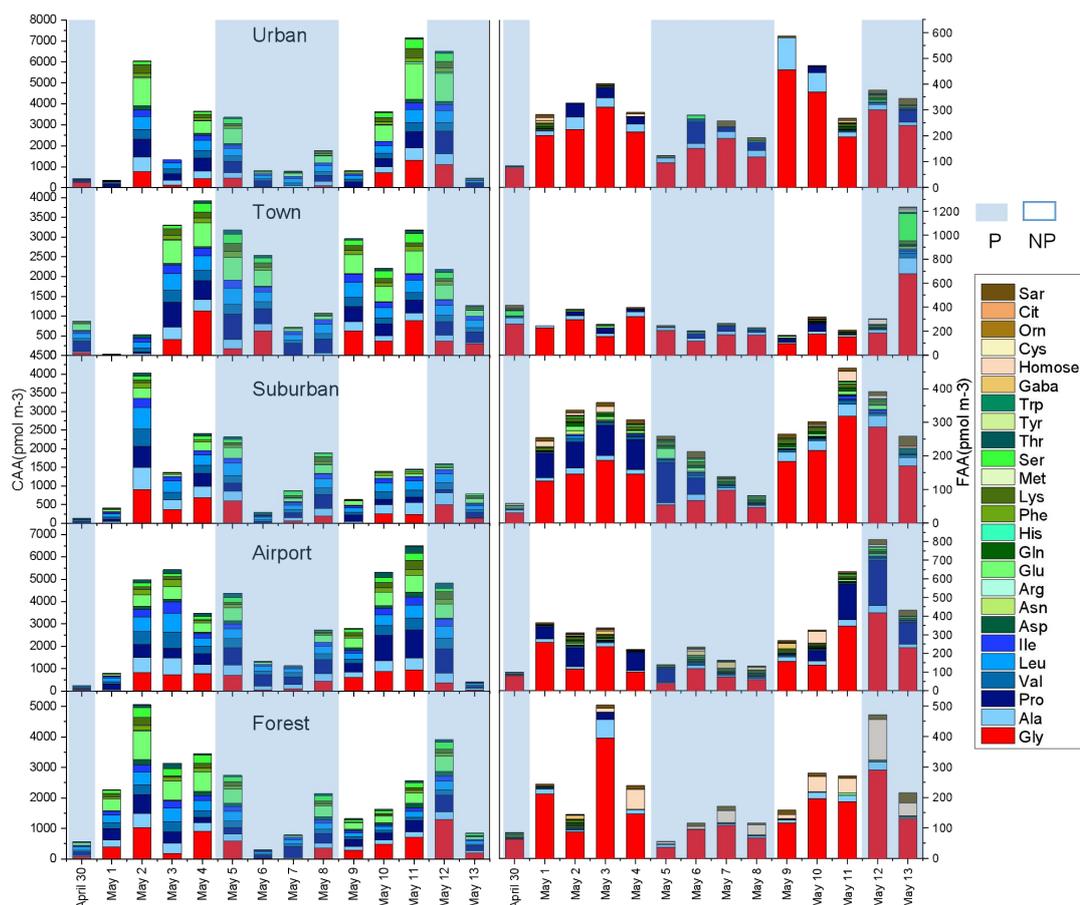


图 20 城市、城镇、郊区、机场和森林 PM<sub>2.5</sub> 中游离和结合氨基酸浓度。

#### 4.4.2.2 不同采样点 PM<sub>2.5</sub> 中氨基酸的占比

PM<sub>2.5</sub> 样品中 CAA 和 FAA 的占比如图 21 所示。14 种结合态氨基酸在至少一个 PM<sub>2.5</sub> 样品中被检测到。气溶胶样品中这些可检测到的 CAA 包括 Gly, Ala, Pro, Val, Leu, Ile, Asp, Glu, His, Phe, Lys, Ser, Thr, Tyr (图 21)。在 PM<sub>2.5</sub> 中 CAA 的占比分布与 FAA 的占比分布有很大差异。在 CAA 中, 每个蛋白质氨基酸单体中平均分布的占比相近。其中 Pro 是主要的结合氨基酸, 占总 CAA 的  $18.7 \pm 10.4\%$ 。Gly, Leu 和 Glu 也同样在结合态氨基酸中有着很高的占比, 每个

氨基酸单体对总 CAA 的贡献在 12.1-14.8% 之间。

与 CAA 相比, PM2.5 中更多的游离态氨基酸种类被观测到, 包括 Gly, Ala, Pro, Val, Leu, Ile, Asp, Asn, Glu, Gln, Phe, Lys, Ser, Thr, Tyr, Gaba, Homoser, Cit 和 Orn。游离 Gly 是 5 个采样点中 PM2.5 中最丰富的 FAA 化合物, 对总 FAA 的平均贡献为  $63.6 \pm 14.5\%$ , 而其他单个 FAA 在 PM2.5 样品中占比很小 (每个游离氨基酸对总 FAA 的贡献范围在 0.05-9.4% 之间)。在 PM2.5 中不同采样点之间游离氨基酸的占比分布差异很小。

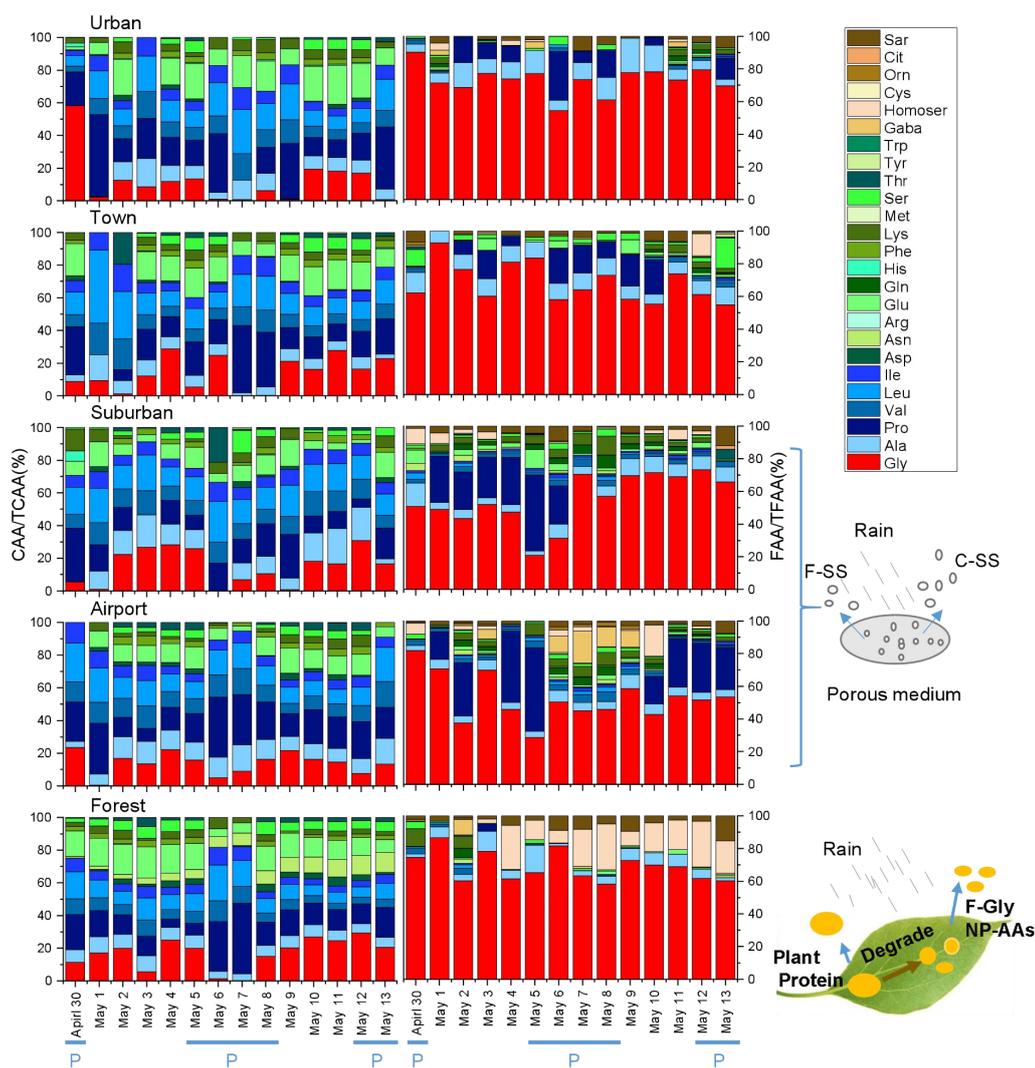


图 21 城市、城镇、郊区、机场和森林 PM2.5 中游离氨基酸和结合氨基酸单体的百分占比

#### 4.4.2.3 不同采样点 PM2.5 中甘氨酸的氮同位素特征

PM2.5 中的 F-Gly 和 C-Gly 的  $\delta^{15}\text{N}$  值在不同的采样点之间表现出显著差异。

如图 18A 所示,  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  最正的值出现在城市 ( $+10.7 \pm 2.7\text{‰}$ ) 和城镇 ( $+11.0 \pm 2.8\text{‰}$ ), 其次是郊区 ( $+8.9 \pm 2.4\text{‰}$ ) 和机场 ( $+8.4 \pm 3.2\text{‰}$ )。在森林地区观察到最低值 ( $+5.6 \pm 5.4\text{‰}$ ) ( $p < 0.05$ ) (图 18 和图 22)。

通过单因素方差分析, 我们发现在不同采样点的 PM2.5 中, C-Gly 的  $\delta^{15}\text{N}$  值 ( $+5.3 \pm 4.9\text{‰}$ ) 比 F-Gly 的  $\delta^{15}\text{N}$  值 ( $+8.9 \pm 3.9\text{‰}$ ) 更负 ( $p < 0.05$ )。此外, 本研究发现不同采样点之间  $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$  的变化趋势与 F-Gly 的  $\delta^{15}\text{N}$  值相似, 其中  $\delta^{15}\text{N}$  值最正的地区是城市 ( $+8.2 \pm 5.4\text{‰}$ ), 然后在城镇 ( $+5.9 \pm 3.2\text{‰}$ ) 和郊区 ( $+6.4 \pm 4.0\text{‰}$ )。机场 ( $+3.2 \pm 3.9\text{‰}$ ) 和森林 ( $+3.3 \pm 6.2\text{‰}$ ) 的  $\delta^{15}\text{N}$  值明显偏负 ( $p < 0.05$ ) (图 18 和图 22)。

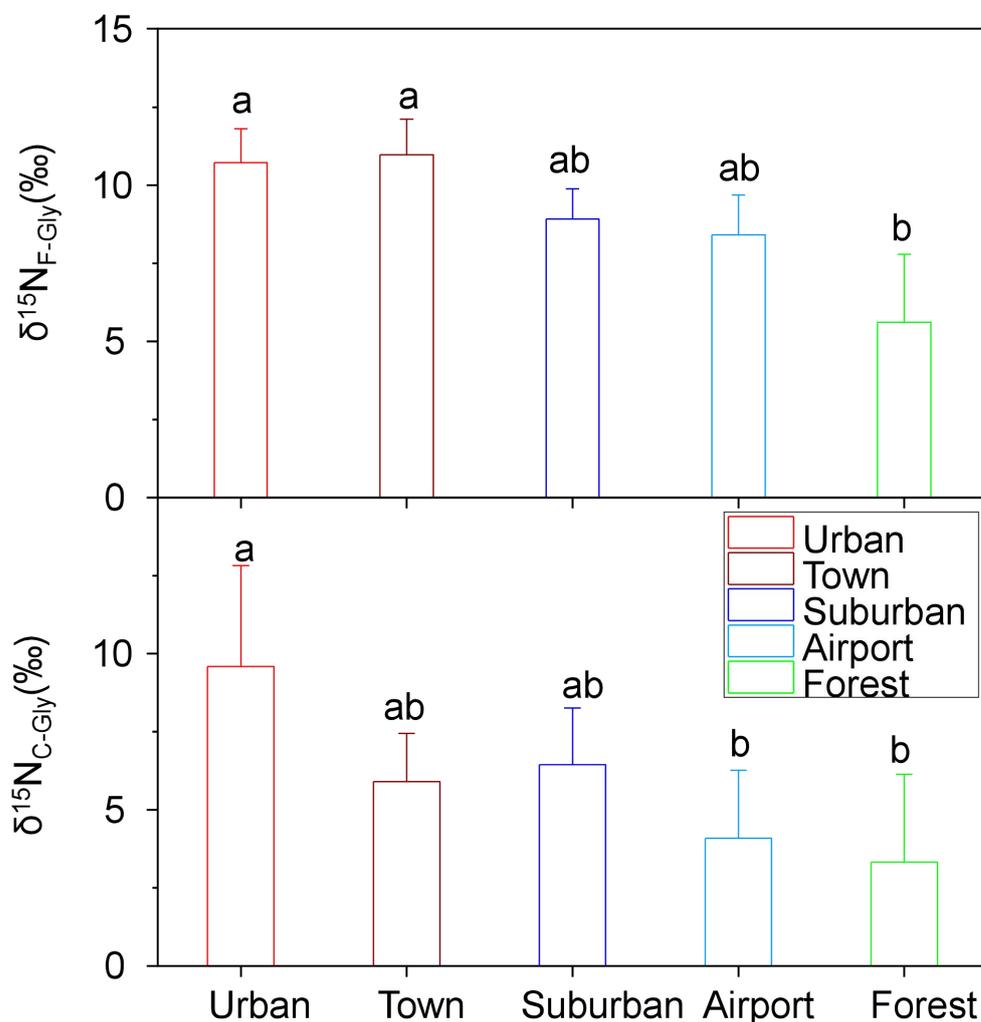


图 22 城市、城镇、郊区、机场和森林 PM2.5 中游离甘氨酸和结合甘氨酸的氮同位素值

#### 4.4.2.4 降雨对 PM2.5 中氨基酸浓度的影响

通常，降雨会导致 PM2.5 中 AAs 浓度的降低，尤其是会使结合态氨基酸的浓度降低（图 20）。如图 20 所示，在降雨期间 PM2.5 中总 CAAs 的含量范围为 142.8-1720 pmol m<sup>-3</sup>，平均值为 1722.4 ± 1489.5 pmol m<sup>-3</sup>，这比非降雨期所测得的平均值（平均值为 2845.9 ± 1888.4 pmol m<sup>-3</sup>）大约低了两倍。除此之外，在降雨天气，10 种结合氨基酸（Ala, Gly, Val, Leu, Ile, Ser, Thr, Phe, Asp 和 Glu）浓度显著降低（p < 0.05），而结合态 Pro、Thr、Lys、His 和 Tyr 的浓度受降雨的影响不大。

与结合氨基酸在降雨天的变化规律相反，我们发现在降雨期间 PM2.5 中总 FAAs 的浓度范围为 57.0-1238.0 pmol m<sup>-3</sup>，平均值为 263.8 ± 225.9 pmol m<sup>-3</sup>，这与在没有降雨天测得的结果并无显著差异（平均值为 320.9 ± 110.4 pmol m<sup>-3</sup>）（p > 0.05）。PM2.5 中只有游离 Gly 在降雨期间的浓度（平均值为 158.2 ± 128.8 pmol m<sup>-3</sup>）显著低于非降雨期的浓度（平均值为 212.4 ± 90.4 pmol m<sup>-3</sup>）（p < 0.05），而其他 FAAs 的浓度并不受降雨的影响（图 20）。

#### 4.4.2.5 降雨对 PM2.5 中氨基酸百分比分布的影响

图 21 显示了在连续 14 天采样期间（2019 年 4 月 30 日至 2019 年 5 月 13 日）CAA 和 FAA 的占比分布特征。观察到降雨对 CAA 和 FAA 的占比分布会产生显著影响。结合态 Gly 是降雨期间 PM2.5 样品中结合态氨基酸的主要成分，平均占总 CAA 的比例 16.0 ± 9.1%（图 21），该值在降雨期间下降到 13.5 ± 12.2%。相反地，在降雨期间收集到的 PM2.5 样品中含有大量的结合态 Pro，占总 CAA 比例的 21.9 ± 10.4%，而在非降雨期仅为 15.4 ± 9.3%。值得注意的是，在降雨期间，Pro 取代了 Gly，成为了占总 CAAs 比例最高的结合态氨基酸。此外，降雨期间结合态 Lys 的占比也有所提高。总的来说，源于自然资源中的氨基酸（Pro 和 Lys）在降雨期间占总 CAAs 的比例会显著增加。

与降雨期间 PM2.5 中结合态氨基酸的变化规律相一致的是游离 Gly 占总游离氨基酸的比例在降雨期间下降。然而，其他氨基酸和非蛋白质氨基酸（主要是自然来源）占总游离氨基酸的比例增加。并且降雨对 PM2.5 中游离氨基酸占比的影响在不同的采样点之间存在差异。在城市和城镇中，FAA 占比受降雨影响的变化相对较小。在郊区和机场收集的 PM2.5 样品中，来自土壤源（例如 Val、Leu 和 Ile）、植物源（例如 Glu 和 Lys）的天然 FAAs 和非蛋白质 AAs（Gaba 和

Sar) 占比 (占总游离氨基酸的比例) 在降雨期 (24.2%) 高于非降雨期 (15.0%)。在森林 PM2.5 中, 通常来自植物源 (Lys 和 Ser) 和非蛋白质 AA (Homoser 和 Sar) 的游离氨基酸占总游离氨基酸的占比在降水期间 (26.4%) 要高于非降雨期 (16.1%)。

#### 4.4.2.6 降雨期间甘氨酸的氮同位素值变化

在采样期间 PM2.5 中  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  和  $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$  值如图 18 所示。降雨会使得郊区、机场和森林 PM2.5 中游离甘氨酸的氮同位素值更偏负。5 月 5 日至 8 日 (降雨期间) 在森林地区 PM2.5 中游离 Gly 的平均氮同位素值 (+2.2‰) 比非降雨期  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  平均值 (+7.5‰) 要更偏负。相反, 降雨对城市和城镇 PM2.5 中游离氨基酸的氮同位素值影响相对较小。在城市降雨期间 PM2.5 中的  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值 (+9.1‰) 与非降雨期 PM2.5 中的  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值接近 (+11.6‰)。在城镇中  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值的变化规律与城市的相似, 降雨期间 PM2.5 中的  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值 (+10.5‰) 与非降雨期的  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值 (+10.0‰) 相当。但是我们发现 4 月 30 日 (雨天) F-Gly 的氮同位素特征在所有采样点均表现出较高的  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值, 与森林、郊区和机场地区降雨期间呈现出偏负的  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  模式相反。利用气团的后向轨迹和火点数据, 我们发现在本研究中, 4 月 30 日到达南昌区域的气团轨迹经过了火点较多的区域 (图 14)。根据大气  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  的源库, 我们发现 4 月 30 日南昌区域 PM2.5 中的  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值 (7.9‰ ~ 14.3‰) 比植物源游离甘氨酸的氮同位值 (-19.3‰ ~ 9.4‰) 要偏正, 更接近于生物质燃烧源中游离甘氨酸的氮同位素值 (+16.9‰ ~ +27.3‰)。这表明 4 月 30 日南昌 PM2.5 受长期运输的生物质燃烧的影响更大。

对于结合态 Gly,  $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$  值显示出不规则的变化模式。降雨期和非降雨期  $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$  值缺乏差异。在降雨期收集的 PM2.5 中, 城市、城镇、郊区、机场和森林中的  $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$  平均值分别为 10.6‰、3.7‰、7.3‰、5.3‰和 2.2‰, 而在非降雨期收集的 PM2.5 中, 城市、城镇、郊区、机场和森林的  $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$  平均值分别为 7.0‰、7.4‰、5.7‰、3.1‰和 3.9‰。

#### 4.4.3 PM2.5 中 $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$ 和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$ 值之间的相关性

##### 4.4.3.1 用 $\delta^{15}\text{N}_{\text{Gly}}$ 示踪大气氨基酸源

本研究在不同采样点 PM2.5 中发现游离 Gly 的  $\delta^{15}\text{N}$  表现出较大的范围

(-5.5‰至+15.9‰)。我们以前的研究发现，PM2.5 中游离甘氨酸的氮同位素值可以有效的区别生物质燃烧源和自然源，因为前者比后者在大气中有着更正的氮同位素值。根据大气中游离 Gly 源的 $\delta^{15}\text{N}$  值变化范围 (-19.3‰至+ 27.3‰)，我们认为本研究中大气游离 Gly 受生物质燃烧、土壤和植物来源的共同影响 (图 18A)。从森林、机场、郊区、城镇到市区，PM2.5 中 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值逐渐偏正 ( $p < 0.05$ ) (图 22)。在城市 ( $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}} = + 6.2\%$ 至+ 15.9%) 和城镇 ( $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}} = + 6.9\%$ 至+ 15.3%) PM2.5 中观察到更正的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值，表明城市和城镇比其他采样点受生物质燃烧的影响更大。郊区 ( $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}} = + 4.8\%$ 至+ 12.6%) 和机场 ( $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}} = + 3.1\%$ 至+ 13.1%) PM2.5 中的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值相比市区和城镇的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值要更负，表明郊区和机场 PM2.5 中生物质燃烧的影响在下降。由于植物源 ( $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}} = -19.3\%$ ~-7.6%) 和土壤源 ( $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}} = + 1.2\%$ ~+ 9.4%) 有着更负的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值，森林 PM2.5 中明显偏负的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值 (-5.5% ~ +13.0%) 表明森林中的大气游离氨基酸的主要来源是植物和土壤。

本研究中结合态 Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$  值也有着较大的变化范围，在-11.0‰至+ 20.3‰之间。根据大气结合 Gly 主要源的氮同位素变化范围，本研究大气结合 Gly 的源主要有生物质燃烧、土壤和植物 (图 18B)。并且五个不同区域之间的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$  的空间变化趋势与 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  的空间变化趋势一致 (图 22)。图 23 显示了 PM2.5 和代表性大气 AAs 源中 $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$  值和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值。对于城市和城镇， $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$  值和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值 (红色空心点) 接近生物质燃烧源的 Gly 氮同位素值变化范围 (图 10 中红色阴影)，表明在这两个地点大气中的氨基酸受生物质燃烧的影响更大。在郊区和机场，与城市和城镇相比，观察到 $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$  值和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值 (蓝色空心点) 的正值较低，这可以合理地解释为在郊区和机场自然来源 (土壤和植物) 的贡献更大，生物质燃烧的贡献更少。在森林中， $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$  值和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值 (绿色空心点) 更接近植物源甘氨酸氮同位素的变化范围 (图 23 中绿色阴影)，这说明与其他采样点相比，森林地区受植物来源的影响更大。然而，结合 Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$  值显著低于游离 Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$  值 ( $p < 0.05$ )，这反映了结合 Gly 比游离 Gly 受到自然源的影响要大于生物质燃烧源。

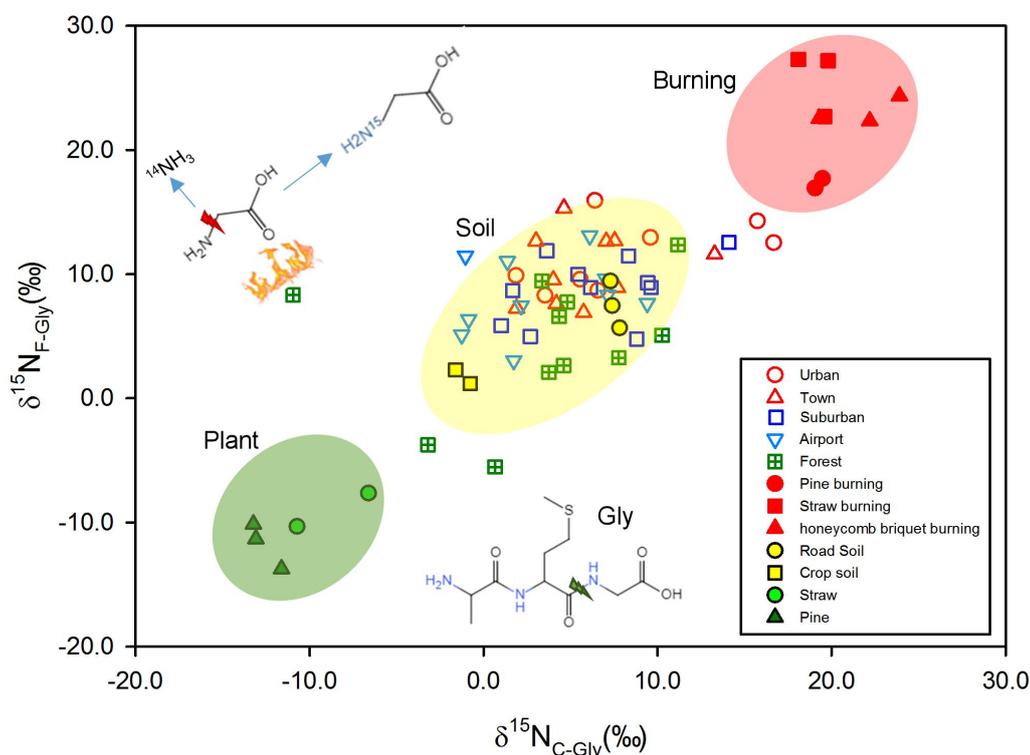


图 23 PM2.5 中和主要氨基酸释放源中游离态甘氨酸和结合态甘氨酸的氮同位素值。

#### 4.4.3.2 用同位素混合模型计算主要源对 PM2.5 氨基酸的贡献

本研究使用稳定同位素模型“SIAR”进一步量化 Gly 源对 PM2.5 中游离 Gly 和结合 Gly 浓度的贡献。对于游离态甘氨酸，图 24 中所示的源分配结果表明，从城市到森林，生物质燃烧源的贡献率从 48%（城市）、49%（城镇）下降到 43%（郊区）到 42%（机场）再下降到 35%（森林）；而植物来源的贡献则从 15%（城市和城镇），增加到 20%（郊区）到 22%（机场）再增加到 30%（森林）。在这五个地区中，土壤来源的贡献百分比是相近的（范围从 35% 到 37%）。这些结果表明，生物质燃烧是城市和城镇 PM2.5 中游离 Gly 的重要贡献，而其贡献百分比在森林中则大大降低。

同样地，在城市、城镇、郊区、机场和森林地区，PM2.5 中总结合态 Gly 在生物质燃烧的贡献分别为 45%、39%、40%、30% 和 32%；而植物来源的贡献分别为 20%、24%、23%、32% 和 33%。这表明对于 PM2.5 中结合态 Gly 而言，生物质燃烧在城市和城镇地区更为重要，而植物源对 PM2.5 的贡献从城市到森林逐渐地变为重要。然而，生物质燃烧源对 PM2.5 结合 Gly 的平均贡献（43.4%）

相对于其对 PM2.5 中游离 Gly 的平均贡献 (37.2%) 要低, 而植物源对 PM2.5 结合 Gly 的平均贡献要高于其对 PM2.5 中游离 Gly 的平均贡献。显然, 与游离 Gly 相比, PM2.5 中结合 Gly 受生物质燃烧影响小, 受植物源影响大。

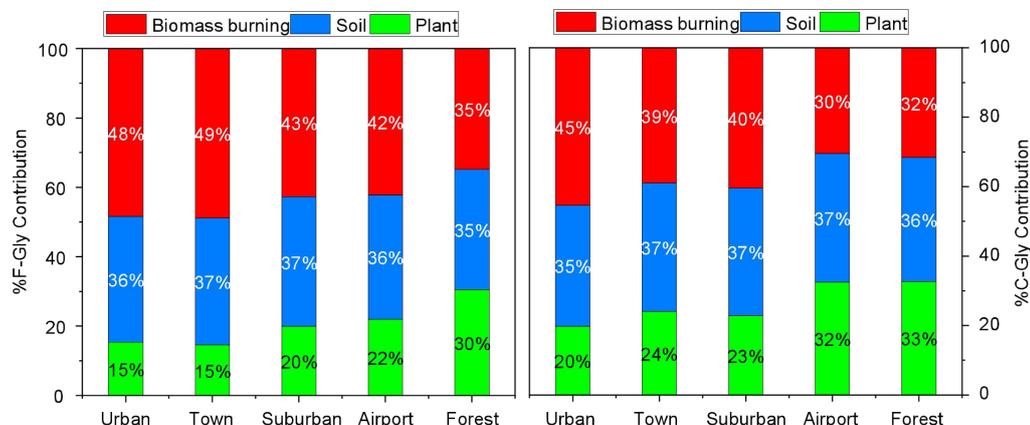


图 24 生物质燃烧、土壤和植物源对 PM2.5 中游离 Gly 和结合 Gly 的贡献比例。

#### 4.4.3.3 结合态氨基酸转化为游离态氨基酸过程中的氮同位素分馏

根据生物质燃烧、土壤和植物源对 5 个采样点 PM2.5 中总游离和结合 Gly 的平均比例贡献, 我们计算了在每个采样点 PM2.5 中分别来自生物质燃烧、土壤和植物源贡献的  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值和  $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$  值。结合生物质燃烧、土壤和植物源的  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  和  $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$  的数据, 我们观察到分别来自生物质燃烧、土壤和植物源的贡献  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值和  $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$  值之间具有密切的相关性 (图 25)。

这表明 PM2.5 中每个源各自贡献的  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值的变化主要受该源中的  $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$  值控制。至少有 96% 的方差可以由  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}} = 1.06 \times \delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}} + 0.98$  ( $R^2=0.96; p < 0.001$ ) 的线性拟合来解释。线性斜率接近 1, 这表明在 PM2.5 中由结合态 Gly 降解为游离 Gly 过程氮同位素分馏很小 (0.98%)。使用正交距离回归来计算  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  和  $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$  测量中的误差, 斜率误差为 0.44。

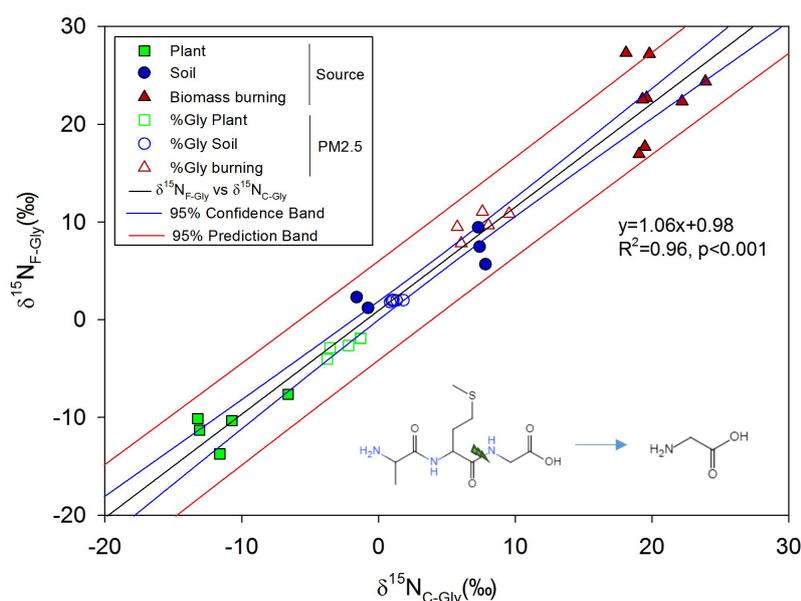


图 25 PM2.5 中分别来自于生物质燃烧、土壤和植物分别贡献的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$  and  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  相关性。

## 4.5 讨论

### 4.5.1 大气中 CAAs 的自然源

在这项研究中，PM2.5 总结合态氨基酸中每个蛋白质的氨基酸单体呈现均匀分布（图 21）。这与加利福尼亚州戴维斯市 PM2.5 中 CAA 占比分布规律类似，在该研究中总蛋白质氨基酸占总 CAA 库的 84% (Zhang and Anastasio, 2003b)。Samy et al. (2013a) 也观察到，7 种蛋白质氨基酸（Ala, Gly, Glu, Thr, Asp, Tyr and Ser）占了大气 PM2.5 总 CAA 库的 92%。这可能是因为 PM2.5 中的大多数 CAA 都是生物来源。PM2.5 中 CAA 的分布可能反映了 CAA 在自然源蛋白质中的丰度。Jaenicke (2005) 提出，含蛋白质的颗粒是大气气溶胶的主要部分。这些蛋白质颗粒包括植物的花粉、细菌和真菌孢子，人类皮肤的碎片或者动物、昆虫和植物的碎片 (Kang et al., 2012a; Matos et al., 2016a)。因此，CAA 的百分比分布高度依赖于这些生物化合物的来源。例如，在 PM2.5 中 CAA 库中观察到的高含量 Gln 归因于 Gln 是醇溶谷蛋白中最丰富的氨基酸之一，在大麦、谷物和豆类中含量最高 (Di Filippo et al., 2014)。Mandalakis et al. (2011b) 表明春季 Pro 占总 CAA 的高占比，可能是由于花粉和孢子的释放增加。可以对 Gly 进行同样的考虑。作

为胶原蛋白、弹性蛋白和特定角蛋白的基本成分(Ren et al., 2018), 自然源的结合 Gly 的高丰度可能部分解释了 Gly 在 PM<sub>2.5</sub> CAA 库中有着高的占比。在这项研究中, 发现 PM<sub>2.5</sub> 中 CAA 的百分比分布与周围地区采集的天然源(植物和土壤)的百分比分布有一定的相关性(图 15 和图 21), 表明植物和土壤可能是 PM<sub>2.5</sub> 中 CAA 的主要来源。

在本研究中, CAA 的浓度明显高于 FAA (图 20), 进一步支持了我们的观点, 即生物源是 CAA 的主要贡献源(Ren et al., 2018)。在生物系统中, 氨基酸主要以结合形式存在, 即蛋白质和多肽, 而不是游离氨基酸。因此在前人的研究中同样也发现了气溶胶中 CAAs 的浓度通常要高于 FAAs 的浓度(Mandalakis et al., 2011b; Samy et al., 2011; Wedyan and Preston, 2008b)。

本研究对 PM<sub>2.5</sub> 中结合 Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$  值进行了首次测量。与 F-Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$  值相比, 发现 PM<sub>2.5</sub> 中 C-Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$  值更加偏负(图 18)。因为植物源( $-11.2 \pm 2.0\%$ )和土壤源( $+2.6 \pm 4.6\%$ )比生物质燃烧源的 C-Gly 的氮同位素值( $+19.2 \pm 0.6\%$ )更加偏负, 这进一步支持了本研究 PM<sub>2.5</sub> 样品中结合 Gly 受自然源的影响更大。因此, 可以得出结论, 气溶胶中残留的 CAA 可能反映了当地新鲜释放的生物源蛋白质。

#### 4.5.2 大气中 FAAs 的自然源与转化

最近的研究表明, 气溶胶中的 FAAs 可能通过蛋白质和多肽的直接光解(紫外线辐射)、光催化水解和酶水解而释放。例如, Song 等人(Song et al., 2017a)发现蛋白质含量和总游离氨基酸含量均与 PM<sub>2.5</sub> 中的 O<sub>3</sub> 呈显著相关性。相似的, 观察到 FAA 浓度与 O<sub>3</sub> 的线性相关性在美国 Research Triangle 公园中也被观测到(Samy et al., 2013a)。有趣的是, 我们发现 PM<sub>2.5</sub> 中 CAA 和 FAA 的百分比分布差异很大(图 21)。游离甘氨酸是 PM<sub>2.5</sub> 中最丰富的 FAA 化合物。这一结果在以前的研究工作中也被发现(表 12,13)(Di Filippo et al., 2014; Ho et al., 2015a; Mace et al., 2003b; Samy et al., 2013a; Yang et al., 2005; Zhang and Anastasio, 2003b)。FAAs 和 CAAs 之间的这些分布模式差异可能与从 CAAs 释放后的气溶胶中每个 FAAs 的进一步大气转化有关。Mopper and Zika (1987b)发现, FAA 可以通过与氧化剂反应形成如 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、酰胺和酮酸等产物而被破坏。Barbaro et al.

(2011b)表明, 氨基酸的氧化反应(例如 Met 转化为 MetSO, Pro 转化为 4-Hyp)可能发生在大气颗粒中。具有富电子侧链的 AAs (Tyr 和 His) 在光敏反应中易发生氧化反应, 并在大气中被降解为其他氮化合物(Milne and Zika, 1993b)。此外, 一些 FAAs 可以参与二次有机气溶胶的形成(Haan et al., 2009)。

然而, 游离氨基酸在气溶胶中表现出广泛的反应性, 半衰期范围从不到 2.5 小时 (Cys, Trp, Met, Tyr 和 His) 到几个月 (Gly)。许多 FAAs 在气溶胶颗粒中迅速被光破坏, 而 Gly 与气溶胶中其他的 FAAs 相比保留时间更长。先前的研究表明, FAA 损失的机理是由于氨基酸的直接光反应(即氨基化合物对光的直接吸收)和间接光反应(即氨基酸与羟基自由基的反应)的结合。由于 FAA 主要以两性离子(例如带有质子化胺基和去质子化的羧酸基)的形式存在于气溶胶中, 因此 FAAs 直接光解的反应速率常数非常低, 而 FAAs 的间接光反应是造成气溶胶中 FAAs 损失的主要原因(McGregor and Anastasio, 2001)。反应性氨基酸的破坏取决于其侧链的化学性质。因此, 由于 Gly (最简单的氨基酸) 不存在侧链, 其在气溶胶中并未受到明显破坏, 因而在气溶胶 FAA 中占主要部分(Anastasio and McGregor, 2000a)。此外, 最近的研究工作提出, 大气 Gly, 作为最稳定的氨基酸, 可以被用作老化气溶胶的标志物(Barbaro et al., 2015a)。Gly-N/DFAA-N 的比值被用于示踪气溶胶的远距离运输, 该值越高表明远距离传输的贡献越大(Feltracco et al., 2019; Matsumoto and Uematsu, 2005)。相反, 其他 FAAs (例如具有反应性侧链的 Met 和 Trp) 在老化气溶胶中已被分解。因此, 那些反应活性高的 FAAs 在大气中可能不那么常见, 或者浓度较低, 并且对 FAA 库的贡献很小。总的来说, 大气中发生的光氧化过程可能会导致气溶胶中 FAA 占比发生改变、降低反应性氨基酸的占比、以及增加 Gly 在总游离氨基酸中的占比。

表 12 不同区域、不同季节采集的大气颗粒物中游离氨基酸浓度和占比

采样区	采样点	颗粒物	季节	游离氨基酸浓度 ( $\text{pmol m}^{-3}$ )	主要游离氨基酸种类	游离甘氨酸 ( $\text{pmol m}^{-3}$ )	甘氨酸 百分比 (%)	参考文献
Urban	Venice Italy	TSP	spring autumn	334 (nd-1308)	Gly, Gln, Pro, Ala, Asn	80	23	Barbaro et al.,2011
Urban	Nanjing,China	PM2.5	winter	942 (598-1372)	Gly,Cys,Val,Ala,Phe	136	14	Yang et al., 2005
Urban	Nanjing,China	PM2.5	summer	620 (287-1182)	Cys,Val,Phe,Gly,Lys	34	5	Yang et al., 2005
Urban	Davis,California	PM2.5	year	427 (63-1720)	Orn,Gly,Thr,Ser,Ala	101	26	Zhang and Anastasio,2003
Urban	Xi'an China	PM2.5	year	1320 (322-4320)	Gly, Cys, Ala	459 (71-1550)	35	Ho et al.,2015
Urban	Xi'an China	PM2.5	spring	1340	Gly, Cys, Ala	388	29	Ho et al.,2015
Urban	Xi'an China	PM2.5	summer	514	Gly, Cys, Ala	138	27	Ho et al.,2015
Urban	Xi'an China	PM2.5	fall	1659	Gly, Cys, Ala	662	40	Ho et al.,2015
Urban	Xi'an China	PM2.5	winter	2217	Gly, Cys, Ala	836	38	Ho et al.,2015
Urban	Rome,Italy	PM10	summer	1982	Gly, His, Gln,Ser,Asp	304	15	Filippo et al.,2014
Urban	Rome,Italy	PM10	winter	1421	Gly, His, Gln,Ser,Asp	136	10	Filippo et al.,2014
<b>Urban</b>	City center,Nanchang, China	PM2.5	spring	306.8 (84.7-587.3)	Gly, Ala	224.9 (76.5-456.6)	73.3	This study
Suburban	Nanjing,China	PM2.5	winter	1380 (427-2891)	Gly, Cys, Val, Ala	451	33	Yang et al., 2005

采样区	采样点	颗粒物	季节	游离氨基酸浓度 ( $\text{pmol m}^{-3}$ )	主要游离氨基酸种类	游离甘氨酸 ( $\text{pmol m}^{-3}$ )	甘氨酸 百分比 (%)	参考文献
Suburban	Research Triangle Park, US	PM2.5	fall	80	Gly, Ala, Asp, Arg	29	36	Samy et al., 2013
<b>Suburban</b>	Nanchang, China	PM2.5	spring	263.5 (58.9-461.4)	Gly,Pro	148.0 (30.0-318.1)	55.1	This study
Rural	Duke forest, US	PM2.5	summer	161 (80-291)	Gly, Ala, Asp, Arg	59	31	Samy et al., 2011
Rural	Gosan, jeju island, South island	PM2.5	spring	188 (107-354)	Gly, Glu, Val			Yang et al., 2004
Rural	Amazonia, Brazil	PM10	dry season	150 (11-1214)	Arg, His, Lys			Mace et al., 2003c
Rural	Tianhu, Guangzhou, China	PM2.5	year	971 (432-2036)	Gly, Val, Met, Phe, Lys	193	19.9	Song et al., 2017
<b>Rural</b>	Airport, Nanchang, China	PM2.5	spring	321.1 (100.5-811.9)	Gly, Pro	170.5 (40.3-419.0)	52.6	This study
Forest	Amazonia, Brazil	PM10	wet season	79 (5-307)	Arg, His, Lys			Mace et al., 2003c
<b>Forest</b>	Meiling, Nanchang, China	PM2.5	spring	220.1 (57.0-503.7)	Gly, Ala, Homoser	152.5 (37.2-395.1)	68.8	This study
Marine	Eastern Mediterranean Sea at Erdemli, Turkey	TSP	spring	264 (29-336)	Gly, Arg, Pro, Val			Mace et al., 2003a
Marine	Tasmania, Australia	TSP	spring	71 (29-157)	Arg, Gly, Ala, Val, Pro		12.4-19	Mace et al., 2003b
Marine	Gulf of Mexico and northwest atlantic ocean	TSP		2180	Ser, Gly			Mopper and Zika 1987

采样区	采样点	颗粒物	季节	游离氨基酸浓度 ( $\text{pmol m}^{-3}$ )	主要游离氨基酸种类	游离甘氨酸 ( $\text{pmol m}^{-3}$ )	甘氨酸 百分比 (%)	参考文献
Marine	Finokalia, Crete island	PM1	year	357	Gly		54.00	Violaka and Mihalopoulos 2010
Marine	Western Atlantic Ocean	TSP	summer	108.8 (0.02-1164)	Ser, Gly, Arg, Ala			Gorzelska and Galloway 1990
Marine	Finokalia, Greece, Eastern Mediterranean	TSP	summer	167.9 (94.9-248.2)	Trp, Gly, Gln	26.3	15.70	Mandalakis et al., 2010
Marine	Finokalia, Greece, Eastern Mediterranean	TSP	summer	172 (6-648)	Gly	114	61±17	Mandalakis et al., 2011
Marine	western north pacific ocean (cruise)	TSP	summer	7.6 (1.1-22)	Gly, Ser, Asp, Ala, His	4.84	45.00	Matsumoto et al., 2005
Marine	Atlantic ocean	TSP	spring	20	Gly, Ala			Wedyan and Preston, 2008
Polar	Mario Zucchelli Station, Antarctic	PM10	summer	11	Arg, Gly		11-56	Barbaro et al., 2015
Polar	Dome C, Antarctic plateau	PM10	summer	0.7-0.8	Gly, Asp, Ala			Barbaro et al., 2015
Polar	Ross Sea, Antarctic (cruise)	TSP	summer	3.5 (2-12)	Gly			Barbaro et al., 2015
Polar	Polar station in Svabard Islands, Arctic	PM0.5	summer	1 (nd-3)	Ser, Gly	0.4	36.00	Scalabrin et al., 2012
Polar	Polar station in Svabard Islands, Arctic	PM10	summer	1 (0.6-4.7)	Ser, Gly		40.00	Scalabrin et al., 2012

表 13 不同区域、不同采样点气溶胶中结合氨基酸浓度和结合甘氨酸占比。

区域	采样点	颗粒物	季节	结合氨基酸浓度 ( $\text{pmol m}^{-3}$ )	主要结合氨基酸种类	结合甘氨酸浓度 ( $\text{pmol m}^{-3}$ )	甘氨酸 占比 (%)	参考文献
Urban	Beijing	TSP		1730-25700	Gly,Ala,Val	4030	32.7	Ren et al., 2018
Urban	University of Rome, Rome, Italy	PM10	winter	4156.3	Gly,Glu,Gln,Asp,Leu	829.8	20	Filippo et al.,2014
Urban	University of Rome, Rome, Italy	PM10	summer	7092.7	Gly,Glu,Gln,Ser,Leu	1249.2	18	Filippo et al.,2014
Urban	City center, Nanchang, China	PM2.5	spring	2651.0 (349.4-7155.9)	Pro,Leu,Ile,Gly	379.0 (3.6-1307.4)	12.3	This study
Suburban	Research Triangle Park, North Carolina, US	PM2.5	Summer autumn	336.0 (102.3-672.0)	Ala,Gly,Glu,Thr	60	18	Samy et al., 2013
Suburban	Nanchang, China	PM2.5	spring	1402.7 (142.8-4040.3)	Pro,Glu,Ala,Val, Leu,Pro	282.2 (0.5-901.7)	15.0	This study
Rural	Gosan, Jeju Island, South Coreia	PM2.5	spring	803.5 (455.8-1512.1)	Gly,Glu,Arg,Val	522.0	65.0	Yang et al., 2004
Rural	Davids, California, US	PM2.5	year	2050 (1022.6-3206.7)	Ser,Gly,Ala,Glu	182.5	8.9	Zhang et al., 2003
Rural	Duke Forest, Chapel Hill, North Carolina, US	PM2.5	Summer	401.8 (102.3-935.0)	Asp,Ala,Glu,Gly	39.4	10	Samy et al., 2011
Rural	Airport, Nanchang, China	PM2.5	spring	3172.0 (257.5-6496.9)	Pro,Gly,Glu, Ala,Val,Leu	469.5 (4.4-947.8)	14.0	This study
Forest	Meiling, Nanchang, China	PM2.5	spring	2196.1 (308.4-5055.6)	Pro,Gly,Ala, Val,Leu	465.0 (0.5-1299.4)	18.4	This study
Marine	Atlantic Ocean (cruise)	TSP	spring	66.7	Gly,Ala,Phe	260		Wedyan and

区域	采样点	颗粒物	季节	结合氨基酸浓度 ( $\text{pmol m}^{-3}$ )	主要结合氨基酸种类	结合甘氨酸浓度 ( $\text{pmol m}^{-3}$ )	甘氨酸 占比 (%)	参考文献
Marine	Finokalia, Crete island, Greece	TSP	summer	(13.4-266.6) 718.8 (254-1570.5)	Gly,Ala,Glu,Asp,Val	302	42	Preston,2008 Mandalakis et al.,2011

### 4.5.3 大气中 Gly 转化与氮分馏

我们以前的研究表明,自然过程产生的游离 Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$  值可能与主要的自然来源中 Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$  值非常相似(Zhu et al., 2019)。这可以解释为由于 Gly 的低位阻,氧化剂在光化学水解过程中优先攻击蛋白质的多肽骨架(Liu et al., 2017)。此外,由于 Gly 主要存在于细胞壁中,因此 Gly 是气溶胶中微生物相关的酶促裂解过程中的难降解成分(Dauwe et al., 1999a; Yan et al., 2015)。在随后的大气过程中,由于缺少活性侧链,游离 Gly 难以降解。因此我们推测在大气过程中 Gly 的转化所伴随的氮同位素分馏可能相对较小。

然而,尚无研究测量 PM2.5 中 C-Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$  值。也从未测量过气溶胶中由蛋白质/多肽水解成 FAAs 过程中所伴随的氮同位素分馏。本研究首次测定了 PM2.5 中 C-Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$  值(图 22)。为了探索与气溶胶中此过程相关的氮同位素分馏,我们使用了“SIAR”模型计算了 5 个不同区域中生物质燃烧、土壤和植物源分别对 PM2.5 中总游离和结合 Gly 的平均比例贡献(图 24)。我们观察到由生物质燃烧、土壤和植物源各自贡献的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$  值与 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  值之间有很强的相关性( $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}} = 1.06 \times \delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}} + 0.98$ ;  $R^2 = 0.96$ ;  $p < 0.001$ ) (图 25), 表明特定来源贡献的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$  的变化主要受该来源中的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$  控制。此外,线性斜率接近 1,进一步证明了气溶胶中 Gly 转化所伴随的氮同位素效应很小。这为利用气溶胶中甘氨酸氮同位素值示踪大气氨基酸来源提供了基础。

### 4.5.4 生物质燃烧中 CAAs 和 FAAs 的转化

据报道,蛋白质-N 是生物质来源中燃料-N 的主要来源,并且在生物质燃烧过程中蛋白质-N 的转化非常复杂(Anca-Couce et al., 2018)。然而,通过比较生物质燃烧产生的气溶胶中 Gly 和其他 AAs 之间的百分比分布,我们发现无论在何种生物质燃烧来源中,游离态 Gly 和结合态 Gly 占总氨基酸的比例都是最高(图 17),这表明 Gly 是生物质燃烧产生的最重要的氨基酸。这在以前的研究中也有很好的记录。Mace et al. (2003b)首次在亚马逊盆地生物质燃烧过程中采集的气溶胶中发现 Gly。Barbaro et al. (2019)发现气溶胶中的 Gly 可以用作生物质燃烧的指标。Feltracco et al. (2019)报道了来自俄罗斯北部森林大火的气溶胶中游离甘氨酸

的浓度较高。此外,在东地中海已经观察到 Gly 与元素碳( EC)之间的显著相关性(Violaki and Mihalopoulos, 2010b)。这些证明燃烧过程可以提高气溶胶中的 Gly 的水平。由于 Gly 的稳定性,在生物质燃烧过程中 Gly 的降解程度比其他 AAs 要低;因此,含有高比例的 Gly 气溶胶会在燃烧过程中释放出来。如本研究所调查,在生物质燃烧过程中自然源中的 AAs 的组成发生了变化。由生物质燃烧释放的气溶胶中 Gly 在 CAA 和 FAA 中的平均占比要高于其在自然源中的占比(图 15)。此外, FAA/F-Gly 比率在生物质燃烧中最低,并且在所有生物质燃烧样品中该比率均低于 1(图 16),这进一步证实了 Gly 在燃烧过程中比其他 AAs 稳定的观点。显然,虽然在生物质燃烧过程中所有氨基酸都被降解,但是 Gly 浓度的降低远低于其他 AAs,因此使稳定的 Gly 成为了生物质燃烧气溶胶中最丰富的氨基酸。

然而,由于温度高,大部分的游离甘氨酸在生物质燃烧过程中仍被降解。在我们过去的研究发现生物质燃烧产生的气溶胶颗粒中的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$ 值更正(范围: +16.9‰至+27.3‰)(Zhu et al., 2019)。这是因为在生物质燃烧过程中游离 Gly 的氨基-N 通过 C-N 裂解释放了一些贫 $^{15}\text{N}$ 的挥发性含氮化合物,例如气体 $\text{NH}_3$ ,使富集 $^{15}\text{N}$ 的游离 Gly 进入气溶胶中。本研究首次确定了生物质燃烧产生的气溶胶颗粒中 C-Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$ 值。同样的从生物质燃烧气溶胶颗粒中的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$ 值比其他自然源中的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$ 值更富集 $^{15}\text{N}$ (图 18 和图 23),这说明在燃烧过程中也发生了结合态甘氨酸的氨基 N 的 C-N 键断裂。有趣的是,我们发现草燃烧样品中的游离 Gly 和结合 Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$ 值之间存在差异,并且草燃烧样品有着较低的 F-Gly / C-Gly 浓度比值(图 19)。相反,在木材和蜂窝煤燃烧样品中, $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$ 值接近于 $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$ 值,其中观察到相近的 F-Gly / C-Gly 浓度比。气溶胶颗粒中的 F-Gly 或 C-Gly 浓度反映了在燃烧中没有分解并被随后释放到气溶胶中的 Gly。因此,生物质燃烧释放气溶胶中的游离甘氨酸和结合甘氨酸的氮同位素值被认为可能与生物质燃烧过程中游离甘氨酸和结合甘氨酸的降解程度有关。如果与结合 Gly 相比,在燃烧中有更多的游离 Gly 被降解,那么游离 Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$ 值则应比结合 Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$ 值更偏正。而草燃烧释放气溶胶样品中有着更低的 F-Gly/C-Gly 浓度比值,同时游离 Gly 比结合 Gly 的 $\delta^{15}\text{N}$ 值显著偏正,这一结果证实了上述假设。

尽管从不同生物质来源(蜂窝煤、木材和草)释放的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$ 值和 $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$

值显示出一定的差异性，但是生物质燃烧过程中甘氨酸分子中的氨基氮从 C-N 键的脱落会使得生物质燃烧释放气溶胶中的甘氨酸氮同位素值 (+16.9‰~+27.3‰) 比生物源要显著偏正 (-19.3‰~+9.4‰)。因此，可以得出结论，游离 Gly 和结合 Gly 的氮同位素是追踪大气中生物质燃烧源的有效工具。

#### 4.5.5 雨季生物质颗粒的释放

对生物气溶胶的研究表明，降雨会促进生物颗粒的释放 (Bauer et al., 2002; Boyer, 2008; Huffman et al., 2013a)。整个降雨过程中释放的那些生物颗粒可能是生长在湿润地面上的细菌、真菌孢子、花粉碎片和生物群（例如真菌、地衣和其他隐性植物喷出的孢子）(Després et al., 2012; Paul et al., 2004; Pummer et al., 2012)。降雨期间 PM2.5 中氨基酸浓度、占比和甘氨酸氮同位素变化均能为生物颗粒从采样地点附近的湿润地面新鲜释放提供新的证据，如下所述。

首先，因为气溶胶中 AAs 的清除率非常高，甚至高于观察到的  $\text{NH}_4^+$  比率 (>500)，所以假设在降雨过程中 AAs 的浓度被认为会降低 (Gorzelska and Galloway, 1990)。然而，在本次研究中发现了有些氨基酸单体浓度出现了相反的趋势。虽然在降雨期间观察到 PM2.5 中结合氨基酸的总浓度降低，但在降雨期间结合态 Pro, Thr, Lys, His 和 Tyr 的浓度并未显著降低 ( $p > 0.05$ ) (图 20)。同时除游离 Gly 外的其他 FAAs 的浓度以及总游离氨基酸浓度并不受降雨的影响 ( $p > 0.05$ ) (图 20)。显然，在降雨过程中有新的 CAA 和 FAA 源使得 PM2.5 中 CAA 和 FAA 浓度增加，这个增加的幅度以至于可以平衡降雨清除功能。这些新的氨基酸来源最有可能是生物源，因为已证明生物来源包含大量的结合和游离氨基酸 (Ren et al., 2018)。Samy et al. (2013a) 发现降雨后游离态 Ser、Gln 和 Thr 的浓度显著增加。Ren et al. (2018) 还报道了在降雨期间出现在蛋白质中的 Asp、Glu、Met、Tyr 和 His 的浓度显著增加。他们都将这些增加归因于降雨期间的生物源贡献的增加。此外，对气溶胶样品进行 DNA 分析发现，在潮湿条件下采集的气溶胶样品中，生物物质（细菌和真菌）的出现频率要比干燥条件下高 2 到 10 倍 (Huffman et al., 2013a)。因此，降雨期间某些特定 CAA 和 FAA 的浓度均无显著变化，表明降雨对生物物质的释放具有刺激作用。

其次，在这项研究中，观察到降雨对 CAA 和 FAA 的百分比占比有显著影响。

某些来自自然源的结合氨基酸（Pro 和 Lys）的百分占比在降雨期间会增加（图 21），这为降雨会促进生物源的释放提供了进一步的证据。降雨期间生物颗粒形成的机制可归因于以下几种方式：吸湿性溶胀（例如花粉碎片）(Pummer et al., 2012)；真菌孢子的喷射(Després et al., 2012)和雨滴的机械扰动(Paul et al., 2004)。此外，Joung and Buie (2015b)证明，当液滴撞击多孔表面时，它们可以将多孔介质中所含有的成分释放到气溶胶中。由于不同采样点地面中所含有的氨基酸的含量和种类存在差异，因此我们认为降雨对不同采样点 PM<sub>2.5</sub> 中氨基酸百分比分布的影响并不相同。显然，由于城市和城镇两个地点的土壤和植被覆盖率较低，因此，降雨在这两个地方的生物颗粒形成量将低与其他采样点。相应地，受降雨影响的 FAA 占比变化在城市和城镇中也相对较小。相反，在郊区、机场和森林中，这些有着更高植物和土壤的覆盖的地区，在土壤源（例如 Val、Pro、Leu 和 Ile）和植物源（例如 Glu 和 Lys）中有着高占比的 AAs 在降雨期间占 PM<sub>2.5</sub> 总氨基酸的比例增加（图 21）。这可能归因于在郊区、机场和森林地区的多孔土壤和植物表面中保留的雨水释放的 AA。值得注意的是，与其他地区相比，森林中非蛋白质氨基酸对总 FAA 的贡献比其他采样点更大（图 21）。由于微生物可以在周围环境中利用其蛋白质前体产生非蛋白质氨基酸，而这些氨基酸随后被保存在沉积物中，因此非蛋白质氨基酸已被证明是中等至广泛降解的敏感指标 (Dauwe et al., 1999a)。因此，我们推断在森林降雨期间气溶胶中增加的非蛋白质氨基酸主要来自于经过降解过程的蛋白质。以上讨论说明降雨期间结合氨基酸和游离氨基酸占比的变化是因为雨水将多孔的土壤和植物表面的特定氨基酸释放到了 PM<sub>2.5</sub> 中。另外，降雨过程中有着高反应活性的氨基酸（Glu, Asp, His 和 Tyr）的增加可能与降雨期间氧化反应速率降低有关。例如，Ren et al. (2018)提出在降雨期间自由基和反应性氨基酸之间的光氧化反应减慢；因此在降雨期间气溶胶中能观察到更多的 Met、His 和 Tyr。

最后，降雨期和非降雨期 PM<sub>2.5</sub> 中  $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$  特征之间缺乏差异（图 18）。这可以解释为 PM<sub>2.5</sub> 中的结合 Gly 受到自然源的影响更大。如上文所述，气溶胶中的 CAA 可能反映了当地释放的新鲜天然蛋白质的来源。同一地点的降雨事件中，天然蛋白质源并不会随之而变化。因此， $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$  值不受降雨的影响。然而，降雨会影响 PM<sub>2.5</sub> 中游离氨基酸的氮同位素值。在 5 月 8 日的降雨天森林区域

显示出最低的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$ 值 (-5.5‰) (图 8), 这接近于植物源的范围 (-19.3‰至 -8.2‰), 这说明在雨天来自于植物源对森林 PM<sub>2.5</sub> 中游离氨基酸的贡献更大。此外, 在雨天森林中观察到更多的非蛋白质氨基酸可能来自于已降解的蛋白质。而我们认为植物可能是这些已降解蛋白质的来源。(Philben et al., 2018)分析了由多肽和蛋白质水解成游离氨基酸过程中的氮同位素分馏。他们发现氨基酸氮同位素值在有机氮的分解过程中并不发生变化。因此, 来自于植物蛋白降解过程中释放的游离 Gly 氮同位素值应该与其在未降解植物中的氮同位素值一致。这与在森林地区降雨天我们观测到的更偏负的游离甘氨酸氮同位素值相吻合。因此, 我们认为森林地区降雨期间释放的生物物质主要是经过降解后的植物蛋白。

#### 4.6 结论

我们发现 PM<sub>2.5</sub> 中 CAA 和 FAA 的百分比分配显著不同。在 CAAs 中每个蛋白质氨基酸平均分布并且结合甘氨酸的氮同位素被发现更加贫  $^{15}\text{N}$ 。这说明 PM<sub>2.5</sub> 中的结合态氨基酸可能主要是生物来源。PM<sub>2.5</sub> 中结合氨基酸的百分比分布反映了其自然贡献源中结合氨基酸的分布规律。尽管气溶胶中游离氨基酸的主要形成途径之一是来自于 CAA 的水解, 但是在 PM<sub>2.5</sub> 中游离 Gly 是最主要的 FAA 组成, 这与 CAA 的百分比规律显著不同。这可能是由于大气中的光化学氧化反应显著改变了气溶胶中游离氨基酸的百分比分布。

本研究首次测定了 PM<sub>2.5</sub> 中结合态 Gly 的氮同位素值。我们用“SIAR”模型计算了在每个采样点中分别来自生物质燃烧、土壤和植物源的贡献比例。我们发现 PM<sub>2.5</sub> 中由生物质燃烧、土壤和植物源贡献的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$ 值和  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$ 值有着良好的线性相关性, 并且斜率接近于 1。这一结果说明在气溶胶中有结合态 Gly 转化为游离态 Gly 的过程中氮同位素效应很小。但是在生物质燃烧过程中尽管 Gly (包括游离态和结合态) 相比其他氨基酸更加的稳定, 还是会有大量的 Gly (包括游离态和结合态) 被降解。并且气溶胶中 $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$ 值和  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$ 值与燃烧过程中 Gly 的降解程度有关。尽管由不同生物质燃烧释放的 $\delta^{15}\text{N}_{\text{C-Gly}}$ 值和  $\delta^{15}\text{N}_{\text{F-Gly}}$ 值存在一些差异, 但是由生物质燃烧释放到气溶胶中的 Gly 同位素值相比于自然源中 Gly 的同位素值显著偏正。这一结果可以被用于示踪生物质燃烧源。

我们还发现降雨期间由周围潮湿地面释放的新鲜的生物颗粒物会使得

PM2.5 中游离氨基酸的浓度、百分比分布以及游离 Gly 的氮同位素值发生变化。

## 参考文献

- [1] Abe, R.Y., Akutsu, Y., Kagemoto, H., 2015. Protein amino acids as markers for biological sources in urban aerosols. *Environmental Chemistry Letters* 14, 1-7.
- [2] Anastasio, C., McGregor, K.G., 2000a. Photodestruction of dissolved organic nitrogen species in fog waters. *Aerosol Science & Technology* 32, 106-119.
- [3] Anastasio, C., McGregor, K.G., 2000b. Photodestruction of Dissolved Organic Nitrogen Species in Fog Waters. *Aerosol Science and Technology* 32, 106-119.
- [4] Anca-Couce, A., Sommersacher, P., Evic, N., Mehrabian, R., Scharler, R., 2018. Experiments and modelling of NO<sub>x</sub> precursors release (NH<sub>3</sub> and HCN) in fixed-bed biomass combustion conditions. *Fuel* 222, 529-537.
- [5] Armstrong, D.W., Kullman, J.P., Chen, X., Rowe, M., 2001. Composition and chirality of amino acids in aerosol/dust from laboratory and residential enclosures. *Chirality* 13, 153-158.
- [6] Barbaro, E., Feltracco, M., Cesari, D., Padoan, S., Zangrando, R., Contini, D., Barbante, C., Gambaro, A., 2019. Characterization of the water soluble fraction in ultrafine, fine, and coarse atmospheric aerosol. *Science of the Total Environment* 658, 1423-1439.
- [7] Barbaro, E., Zangrando, R., Moret, I., Barbante, C., Cescon, P., Gambaro, A., 2011a. Free amino acids in atmospheric particulate matter of Venice, Italy. *Atmospheric Environment* 45, 5050-5057.
- [8] Barbaro, E., Zangrando, R., Moret, I., Barbante, C., Cescon, P., Gambaro, A., 2011b. Free amino acids in atmospheric particulate matter of Venice, Italy. *Atmospheric environment* 45, 5050-5057.
- [9] Barbaro, E., Zangrando, R., Vecchiato, M., Piazza, R., Cairns, W., Capodaglio, G., Barbante, C., Gambaro, A., 2015a. Free amino acids in Antarctic aerosol: potential markers for the evolution and fate of marine aerosol. *Atmospheric Chemistry and Physics* 15, 5457-5469.
- [10] Barbaro, E., Zangrando, R., Vecchiato, M., Piazza, R., Cairns, W.R.L., Capodaglio, G., Barbante, C., Gambaro, A., 2015b. Free amino acids in Antarctic aerosol: potential markers for the evolution and fate of marine aerosol. *Atmospheric Chemistry and Physics* 15, 5457-5469.
- [11] Bauer, H., Kasper-Giebl, A., Löflund, M., Giebl, H., Hitzemberger, R., Zibuschka, F., Puxbaum, H., 2002. The contribution of bacteria and fungal spores to the organic carbon content of cloud water, precipitation and aerosols. *Atmospheric Research* 64, 109-119.
- [12] Baxter, R., Emes, M.J., Lee, J.A., 1992. Effects of an experimentally applied increase in ammonium on growth and amino-acid metabolism of *Sphagnum cuspidatum* Ehrh. ex. Hoffm. from differently polluted areas. *New Phytologist* 120, 265-274.
- [13] Berg, L.v.d., CJ, P., MR, A., JG, R., 2008. Reduced nitrogen has a greater effect than oxidised nitrogen on dry heathland vegetation. *Environmental Pollution* 154, 359-369.
- [14] Bernard, S.M., Habash, D.Z., 2009. The importance of cytosolic glutamine synthetase in nitrogen assimilation and recycling. *New Phytologist* 182, 608-620.
- [15] Binder, S., Knill, T., Schuster, J., 2007. Branched-chain amino acid metabolism in higher plants. *Physiologia Plantarum* 129, 68-78.
- [16] Bol, R., Ostle, N.J., Petzke, K.J., 2002. Compound specific plant amino acid  $\delta^{15}\text{N}$  values differ with functional plant strategies in temperate grassland. *Journal of Plant Nutrition & Soil Science* 165, 661-667.

- [17] Boltersdorf, S., Werner, W., 2013. Source attribution of agriculture-related deposition by using total nitrogen and  $\delta\text{N}$  in epiphytic lichen tissue, bark and deposition water samples in Germany. *Isotopes in Environmental & Health Studies* 49, 197-218.
- [18] Bond, T.C., Streets, D., Yarber, K., Nelson, S., 2004. A technology-based inventory of black and organic carbon emissions from combustion. *Journal of Geophysical Research Atmospheres* 109, D14203.
- [19] Boyer, D.G., 2008. Fecal coliform dispersal by rain splash on slopes. *Agricultural and Forest Meteorology* 148, 1395-1400.
- [20] Bragazza, L., Limpens, J., Gerdol, R., Grosvernier, P., Hajek, M., Hajek, T., Hajkova, P., Hansen, I., Iacumin, P., Kutnar, L., 2005. Nitrogen concentration and  $\delta^{15}\text{N}$  signature of ombrotrophic Sphagnum mosses at different N deposition levels in Europe. *Global Change Biology* 11, 106-114.
- [21] Calanni, J., Berg, E., Wood, M., Mangis, D., Boyce, R., Weathers, W., Sievering, H., 1999. Atmospheric nitrogen deposition at a conifer forest: response of free amino acids in Engelmann spruce needles. *Environmental Pollution* 105, 79-89.
- [22] Cantón, F.R., Suárez, M.F., Cánovas, F.M., 2005. Molecular aspects of nitrogen mobilization and recycling in trees. *Photosynthesis Research* 83, 265-278.
- [23] Casagrande, D.J., Gronli, K., Sutton, N., 1980. The distribution of sulfur and organic matter in various fractions of peat: origins of sulfur in coal. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 44, 25-32.
- [24] Chan, M.N., Choi, M.Y., Ng, N.L., Chan, C.K., 2005. Hygroscopicity of Water-Soluble Organic Compounds in Atmospheric Aerosols: Amino Acids and Biomass Burning Derived Organic Species. *Environmental Science & Technology* 39, 1555-1562.
- [25] Cheng, Y., Engling, G., He, K.B., Duan, F.K., Ma, Y.L., Du, Z.Y., Liu, J.M., Zheng, M., Weber, R.J., 2013. Biomass burning contribution to Beijing aerosol. *Atmos. Chem. Phys.* 13, 7765-7781.
- [26] Dauwe, B., Middelburg, J.J., Herman, P.M., Heip, C.H., 1999a. Linking diagenetic alteration of amino acids and bulk organic matter reactivity. *Limnology and Oceanography* 44, 1809-1814.
- [27] Dauwe, B., Middelburg, J.J.J.L., Oceanography, 1999b. Linking Diagenetic Alteration of Amino Acids and Bulk Organic Matter Reactivity. 44, 1809-1814.
- [28] Deniro, M.J., Hastorf, C.A., 1985. Alteration of  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  and  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ratios of plant matter during the initial stages of diagenesis: Studies utilizing archaeological specimens from Peru. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* 49, 97-115.
- [29] Després, V., Huffman, J.A., Burrows, S.M., Hoose, C., Safatov, A., Buryak, G., Fröhlich-Nowoisky, J., Elbert, W., Andreae, M., Pöschl, U., 2012. Primary biological aerosol particles in the atmosphere: a review. *Tellus B: Chemical and Physical Meteorology* 64, 15598.
- [30] Di Filippo, P., Pomata, D., Riccardi, C., Buiarelli, F., Gallo, V., Quaranta, A., 2014. Free and combined amino acids in size-segregated atmospheric aerosol samples. *Atmospheric Environment* 98, 179-189.
- [31] Dijk, H.F.G.V., Roelofs, J.G.M., 1988. Effects of excessive ammonium deposition on the nutritional status and condition of pine needles. *Physiologia Plantarum* 73, 494-501.
- [32] Duan, X., Jiang, Y., Wang, B., Zhao, X., Shen, G., Cao, S., Huang, N., Qian, Y., Chen, Y., Wang, L., 2014. Household fuel use for cooking and heating in China: Results from the first Chinese Environmental Exposure-Related Human Activity Patterns Survey (CEERHAPS). *Applied Energy* 136, 692-703.
- [33] Feltracco, M., Barbaro, E., Kirchgeorg, T., Spolaor, A., Turetta, C., Zangrando, R., Barbante, C.,

- Gambaro, A., 2019. Free and combined L-and D-amino acids in Arctic aerosol. *Chemosphere* 220, 412-421.
- [34] Feng, J., Chan, C.K., Fang, M., Hu, M., He, L., Tang, X., 2006. Characteristics of organic matter in PM<sub>2.5</sub> in Shanghai. *Chemosphere* 64, 1393-1400.
- [35] Fernandes, R., Meadows, J., Dreves, A., Nadeau, M.-J., Grootes, P., 2014. A preliminary study on the influence of cooking on the C and N isotopic composition of multiple organic fractions of fish (mackerel and haddock). *Journal of Archaeological Science* 50, 153-159.
- [36] Freyer, H.D., 1978. Seasonal trends of NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and NO<sub>3</sub><sup>-</sup> nitrogen isotope composition in rain collected at Jülich, Germany. *Tellus* 30, 83-92.
- [37] Fu, J.S., Hsu, N.C., Gao, Y., Huang, K., Li, C., Lin, N.H., Tsay, S.C., 2012. Evaluating the influences of biomass burning during 2006 BASE-ASIA: a regional chemical transport modeling. *Atmos. Chem. Phys.* 12, 3837-3855.
- [38] Gauthier, P.P., Lamothe, M., Mahé, A., Molero, G., Nogués, S., Hodges, M., Tcherkez, G., 2013. Metabolic origin of  $\delta^{15}\text{N}$  values in nitrogenous compounds from *Brassica napus* L. leaves. *Plant Cell & Environment* 36, 128-137.
- [39] Ge, P., Luo, G., Luo, Y., Huang, W., Xie, H., Chen, J., Qu, J., 2018. Molecular understanding of the interaction of amino acids with sulfuric acid in the presence of water and the atmospheric implication. *Chemosphere* 210, 215-223.
- [40] Ge, X., Wexler, A.S., Clegg, S.L., 2011. Atmospheric amines - Part I. A review. *Atmospheric Environment* 45, 524-546.
- [41] Gorzelska, K., Galloway, J.N., 1990. Amine nitrogen in the atmospheric environment over the North Atlantic Ocean. *Global Biogeochemical Cycles* 4, 309-333.
- [42] Haan, D.O.D., Corrigan, A.L., Smith, K.W., Stroik, D.R., Turley, J.J., Lee, F.E., Tolbert, M.A., Jimenez, J.L., Cordova, K.E., Ferrell, G.R., 2009. Secondary organic aerosol-forming reactions of glyoxal with amino acids. *Environmental science & technology* 43, 2818-2824.
- [43] Harrison, R.M., Beddows, D.C.S., Hu, L., Yin, J., 2012. Comparison of methods for evaluation of wood smoke and estimation of UK ambient concentrations. *Atmos. Chem. Phys.* 12, 8271-8283.
- [44] HEATON, T.H.E., 1986. ISOTOPIC STUDIES OF NITROGEN POLLUTION IN THE HYDROSPHERE AND ATMOSPHERE: A REVIEW. *Chemical Geology* 59, 87-102.
- [45] Heaton, T.H.E., 1990.  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  ratios of NO<sub>x</sub> from vehicle engines and coal - fired power stations. *Tellus* 42, 304-307.
- [46] Hennigan, C.J., Sullivan, A.P., Collett Jr., J.L., Robinson, A.L., 2010. Levoglucosan stability in biomass burning particles exposed to hydroxyl radicals. *Geophysical Research Letters* 37.
- [47] Hicks, W., Leith, I., Woodin, S., Fowler, D., 2000. Can the foliar nitrogen concentration of upland vegetation be used for predicting atmospheric nitrogen deposition? Evidence from field surveys. *Environmental Pollution* 107, 367-376.
- [48] Ho, K., Ho, S.S.H., Huang, R.-J., Liu, S., Cao, J.-J., Zhang, T., Chuang, H.-C., Chan, C., Hu, D., Tian, L., 2015a. Characteristics of water-soluble organic nitrogen in fine particulate matter in the continental area of China. *Atmospheric Environment* 106, 252-261.
- [49] Ho, K.F., Ho, S.S.H., Huang, R.J., Liu, S.X., Cao, J.J., Zhang, T., Chuang, H.C., Chan, C.S., Hu, D., Tian, L., 2015b. Characteristics of water-soluble organic nitrogen in fine particulate matter in the continental area of China. *Atmospheric Environment* 106, 252-261.
- [50] Hofmann, D., Gehre, M., Jung, K., 2003. Sample preparation techniques for the determination of natural  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  variations in amino acids by gas chromatography-combustion-isotope ratio

- mass spectrometry (GC-C-IRMS). *Isotopes in Environmental and Health Studies* 39, 233-244.
- [51] Huffman, J.A., Prenni, A., DeMott, P., Pöhlker, C., Mason, R., Robinson, N., Fröhlich-Nowoisky, J., Tobo, Y., Després, V., Garcia, E., 2013a. High concentrations of biological aerosol particles and ice nuclei during and after rain. *Atmospheric Chemistry and Physics* 13, 6151.
- [52] Huffman, J.A., Prenni, A.J., DeMott, P.J., Pöhlker, C., Mason, R.H., Robinson, N.H., Fröhlich-Nowoisky, J., Tobo, Y., Després, V.R., Garcia, E., Gochis, D.J., Harris, E., Müller-Germann, I., Ruzene, C., Schmer, B., Sinha, B., Day, D.A., Andreae, M.O., Jimenez, J.L., Gallagher, M., Kreidenweis, S.M., Bertram, A.K., Pöschl, U., 2013b. High concentrations of biological aerosol particles and ice nuclei during and after rain. *Atmos. Chem. Phys.* 13, 6151-6164.
- [53] Huhn, G., Schulz, H., 1996. Contents of free amino acids in Scots pine needles from field sites with different levels of nitrogen deposition. *New Phytologist* 134, 95-101.
- [54] Jaenicke, R., 2005. Abundance of Cellular Material and Proteins in the Atmosphere. *Science* 308, 73-73.
- [55] Jung, Y.S., Buie, C.R., 2015a. Aerosol generation by raindrop impact on soil. *Nature Communications* 6, 6083-6083.
- [56] Jung, Y.S., Buie, C.R., 2015b. Aerosol generation by raindrop impact on soil. *Nature communications* 6, 6083.
- [57] Kahl, S., Gerendás, J., Heeschen, V., Ratcliffe, R.G., Rudolph, H., 1997. Ammonium assimilation in bryophytes. l-glutamine synthetase from *Sphagnum fallax*. *Physiologia Plantarum* 101, 86-92.
- [58] Kang, H., Xie, Z., Hu, Q., 2012a. Ambient protein concentration in PM<sub>10</sub> in Hefei, central China. *Atmospheric environment* 54, 73-79.
- [59] Kang, H., Xie, Z., Hu, Q., 2012b. Ambient protein concentration in PM<sub>10</sub> in Hefei, central China. *Atmospheric Environment* 54, 73-79.
- [60] Kelemen, S.R., Gorbaty, M.L., Kwiatek, P.J., 1994. Quantification of Nitrogen Forms in Argonne Premium Coals. *Energy & Fuels* 8, 896-906.
- [61] Koranda, M., Kerschbaum, S., Wanek, W., Zechmeister, H., Richter, A., 2007. Physiological responses of bryophytes *Thuidium tamariscinum* and *Hylocomium splendens* to increased nitrogen deposition. *Ann Bot* 99, 161-169.
- [62] Kundu, S., Kawamura, K., Andreae, T.W., Hoffer, A., Andreae, M.O., 2010. Diurnal variation in the water-soluble inorganic ions, organic carbon and isotopic compositions of total carbon and nitrogen in biomass burning aerosols from the LBA-SMOCC campaign in Rondônia, Brazil. *Journal of Aerosol Science* 41, 118-133.
- [63] Kunwar, B., Kawamura, K., 2014. One-year observations of carbonaceous and nitrogenous components and major ions in the aerosols from subtropical Okinawa Island, an outflow region of Asian dusts. *Atmos. Chem. Phys.* 14, 1819-1836.
- [64] Limpens, J., Berendse, F., 2003. Growth reduction of *Sphagnum magellanicum* subjected to high nitrogen deposition: the role of amino acid nitrogen concentration. *Oecologia* 135, 339-345.
- [65] Lipson, D.A., Bowman, W.D., Monson, R.K., 1996. Luxury Uptake and Storage of Nitrogen in the Rhizomatous Alpine Herb, *Bistorta bistortoides*. *Ecology* 77, 1277-1285.
- [66] Liu, B., Na, S., Dai, Q., Mei, R., Sui, B., Bi, X., Feng, Y., 2016. Chemical composition and source apportionment of ambient PM 2.5 during the non-heating period in Taian, China. *Atmospheric Research* 170, 23-33.
- [67] Liu, F., Lai, S., Tong, H., Lakey, P.S.J., Shiraiwa, M., Weller, M.G., Pöschl, U., Kampf, C.J.J.A.,

- Chemistry, B., 2017. Release of free amino acids upon oxidation of peptides and proteins by hydroxyl radicals. 409, 2411-2420.
- [68] Liu, X.Y., Koba, K., Makabe, A., Li, X.D., Yoh, M., Liu, C.Q., 2013. Ammonium first: natural mosses prefer atmospheric ammonium but vary utilization of dissolved organic nitrogen depending on habitat and nitrogen deposition. *New Phytologist* 199, 407-419.
- [69] Liu, X.Y., Xiao, H.Y., Liu, C.Q., Li, Y.Y., 2007.  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  of moss *Haplocladium microphyllum* (Hedw.) Broth. for indicating growing environment variation and canopy retention on atmospheric nitrogen deposition. *Atmospheric Environment* 41, 4897-4907.
- [70] Liu, X.Y., Xiao, H.Y., Liu, C.Q., Li, Y.Y., Xiao, H.W., 2008a. Stable carbon and nitrogen isotopes of the moss *Haplocladium microphyllum* in an urban and a background area (SW China): The role of environmental conditions and atmospheric nitrogen deposition. *Atmospheric Environment* 42, 5413-5423.
- [71] Liu, X.Y., Xiao, H.Y., Liu, C.Q., Li, Y.Y., Xiao, H.W., 2008b. Tissue N content and  $^{15}\text{N}$  natural abundance in epilithic mosses for indicating atmospheric N deposition in the Guiyang area, SW China. *Applied Geochemistry* 23, 2708-2715.
- [72] Luo, L., Wu, Y., Xiao, H., Zhang, R., Lin, H., Zhang, X., Kao, S.-j., 2019. Origins of aerosol nitrate in Beijing during late winter through spring. *Science of The Total Environment* 653, 776-782.
- [73] Mace, K.A., Artaxo, P., Duce, R.A., 2003a. Water-soluble organic nitrogen in Amazon Basin aerosols during the dry (biomass burning) and wet seasons. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres* 108.
- [74] Mace, K.A., Artaxo, P., Duce, R.A., 2003b. Water - soluble organic nitrogen in Amazon Basin aerosols during the dry (biomass burning) and wet seasons. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres* 108.
- [75] Mandalakis, M., Apostolaki, M., Tzias, T., Polymenakou, P., Stephanou, E.G., 2011a. Free and combined amino acids in marine background atmospheric aerosols over the Eastern Mediterranean. *Atmospheric Environment* 45, 1003-1009.
- [76] Mandalakis, M., Apostolaki, M., Tzias, T., Polymenakou, P., Stephanou, E.G., 2011b. Free and combined amino acids in marine background atmospheric aerosols over the Eastern Mediterranean. *Atmospheric environment* 45, 1003-1009.
- [77] Masclaux-Daubresse, C., Reisdorf-Cren, M., Pageau, K., Lelandais, M., Grandjean, O., Kronenberger, J., Valadier, M.-H., Feraud, M., Jougllet, T., Suzuki, A., 2006. Glutamine synthetase-glutamate synthase pathway and glutamate dehydrogenase play distinct roles in the sink-source nitrogen cycle in tobacco. *Plant physiology* 140, 444-456.
- [78] Matos, J.T., Duarte, R.M., Duarte, A.C., 2016a. Challenges in the identification and characterization of free amino acids and proteinaceous compounds in atmospheric aerosols: a critical review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 75, 97-107.
- [79] Matos, J.T.V., Duarte, R.M.B.O., Duarte, A.C.J.T.i.A.C., 2016b. Challenges in the identification and characterization of free amino acids and proteinaceous compounds in atmospheric aerosols: A critical review. 75, 97-107.
- [80] Matsumoto, K., Uematsu, M., 2005. Free amino acids in marine aerosols over the western North Pacific Ocean. *Atmospheric Environment* 39, 2163-2170.
- [81] Mccarthy, M.D., Lehman, J., Kudela, R., 2013. Compound-specific amino acid  $\delta^{15}\text{N}$  patterns in marine algae: Tracer potential for cyanobacterial vs. eukaryotic organic nitrogen sources in the

- ocean. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* 103, 104-120.
- [82] McGregor, K.G., Anastasio, C., 2001. Chemistry of fog waters in California's Central Valley: 2. Photochemical transformations of amino acids and alkyl amines. *Atmospheric Environment* 35, 1091-1104.
- [83] Miguel, A.G., Cass, G.R., Glovsky, M.M., Weiss, J.J.E.S., Technology, 1999. Allergens in Paved Road Dust and Airborne Particles. 33, 4159-4168.
- [84] Milne, P.J., Zika, R.G., 1993a. Amino acid nitrogen in atmospheric aerosols: Occurrence, sources and photochemical modification. *Journal of Atmospheric Chemistry* 16, 361-398.
- [85] Milne, P.J., Zika, R.G., 1993b. Amino acid nitrogen in atmospheric aerosols: Occurrence, sources and photochemical modification. *Journal of Atmospheric Chemistry* 16, 361-398.
- [86] Molero, G., Aranjuelo, I., Teixidor, P., Araus, J.L., Nogués, S., 2011. Measurement of  $^{13}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$  isotope labeling by gas chromatography/combustion/isotope ratio mass spectrometry to study amino acid fluxes in a plant-microbe symbiotic association. *Rapid Communications in Mass Spectrometry Rcm* 25, 599-607.
- [87] Moore, H., 1977. The isotopic composition of ammonia, nitrogen dioxide and nitrate in the atmosphere. *Atmospheric Environment* 11, 1239-1243.
- [88] Mopper, K., Zika, R.G., 1987a. Free amino acids in marine rains: evidence for oxidation and potential role in nitrogen cycling. 325, 246-249.
- [89] Mopper, K., Zika, R.G., 1987b. Free amino acids in marine rains: evidence for oxidation and potential role in nitrogen cycling. *Nature* 325, 246.
- [90] Näsholm, A.-B., Ericsson, A., Nordén, L.G., 1994. Accumulation of amino acids in some boreal forest plants in response to increased nitrogen availability. *New Phytologist* 126, 137-143.
- [91] Näsholm, T., Ericsson, A., 1990. Seasonal changes in amino acids, protein and total nitrogen in needles of fertilized Scots pine trees. *Tree Physiology* 6, 267-281.
- [92] Nordin, A., Nasholm, T., Ericson, L., 1998. Effects of Simulated N Deposition on Understorey Vegetation of a Boreal Coniferous Forest. *Functional Ecology* 12, 691-699.
- [93] Nussbaum, S., Ballmoos, P.V., Gfeller, H., Schlunegger, U.P., Fuhrer, J., Rhodes, D., Brunold, C., 1993. Incorporation of atmospheric  $^{15}\text{N}$  -nitrogen into free amino acids by Norway spruce *Picea abies* (L.) Karst. *Oecologia* 94, 408-414.
- [94] Ohlson, M., Nordin, A., Näsholm, T., 1995. Accumulation of Amino Acids in Forest Plants in Relation to Ecological Amplitude and Nitrogen Supply. *Functional Ecology* 9, 596-605.
- [95] Paolini, M., Ziller, L., Laursen, K.H., Husted, S., Camin, F., 2015. Compound-Specific  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  Analyses of Amino Acids for Potential Discrimination between Organically and Conventionally Grown Wheat. *Journal of Agricultural & Food Chemistry* 63, 5841.
- [96] Paul, P., El-Allaf, S., Lipps, P., Madden, L., 2004. Rain splash dispersal of *Gibberella zeae* within wheat canopies in Ohio. *Phytopathology* 94, 1342-1349.
- [97] Philben, M., Billings, S.A., Edwards, K.A., Podrebarac, F.A., van Biesen, G., Ziegler, S.E., 2018. Amino acid  $\delta^{15}\text{N}$  indicates lack of N isotope fractionation during soil organic nitrogen decomposition. *Biogeochemistry* 138, 69-83.
- [98] Pitcairn, C.E., Fowler, D., Leith, I.D., Sheppard, L.J., Sutton, M.A., Kennedy, V., Okello, E., 2003. Bioindicators of enhanced nitrogen deposition. *Environmental Pollution* 126, 353-361.
- [99] Potel, F., Valadier, M.H., Ferrario - Méry, S., Grandjean, O., Morin, H., Gaufichon, L., Boutet - Mercey, S., Lothier, J., Rothstein, S.J., Hirose, N., 2009. Assimilation of excess ammonium into amino acids and nitrogen translocation in *Arabidopsis thaliana*—roles of glutamate

- synthases and carbamoylphosphate synthetase in leaves. *The FEBS journal* 276, 4061-4076.
- [100] Power, S.A., Collins, C.M., 2010. Use of *Calluna vulgaris* to detect signals of nitrogen deposition across an urban-rural gradient. *Atmospheric Environment* 44, 1772-1780.
- [101] Pummer, B., Bauer, H., Bernardi, J., Bleicher, S., Grothe, H., 2012. Suspendable macromolecules are responsible for ice nucleation activity of birch and conifer pollen. *Atmospheric Chemistry and Physics* 12, 2541-2550.
- [102] Qiu, X., Duan, L., Chai, F., Wang, S., Yu, Q., Wang, S., 2016. Deriving High-Resolution Emission Inventory of Open Biomass Burning in China based on Satellite Observations. *Environmental Science & Technology* 50, 11779-11786.
- [103] Ren, L., Bai, H., Yu, X., Wu, F., Yue, S., Ren, H., Li, L., Lai, S., Sun, Y., Wang, Z., 2018. Molecular composition and seasonal variation of amino acids in urban aerosols from Beijing, China. *Atmospheric Research* 203, 28-35.
- [104] Richter, C.M., Kranig, S., Wild, A., 1995. Contents of free amino acids in needles of Norway Spruce trees in relation to novel forest decline. *Studies on trees from a site in the northern Black Forest. Environmental Pollution* 87, 303-312.
- [105] Rui, D.A., Assunção, J.V.D., Pesquero, C.R., Bruns, R.E., Nóbrega, R.P., 2009. Emission of polycyclic aromatic hydrocarbons from gasohol and ethanol vehicles. *Atmospheric Environment* 43, 648-654.
- [106] Salma, I., Németh, Z., Weidinger, T., Maenhaut, W., Claeys, M., Molnár, M., Major, I., Ajtai, T., Utry, N., Bozóki, Z., 2017. Source apportionment of carbonaceous chemical species to fossil fuel combustion, biomass burning and biogenic emissions by a coupled radiocarbon–levoglucosan marker method. *Atmos. Chem. Phys.* 17, 13767-13781.
- [107] Samy, S., Robinson, J., Hays, M.D., 2011. An advanced LC-MS (Q-TOF) technique for the detection of amino acids in atmospheric aerosols. *Analytical and bioanalytical chemistry* 401, 3103-3113.
- [108] Samy, S., Robinson, J., Rumsey, I.C., Walker, J.T., Hays, M.D., 2013a. Speciation and trends of organic nitrogen in southeastern US fine particulate matter (PM<sub>2.5</sub>). *Journal of Geophysical Research: Atmospheres* 118, 1996-2006.
- [109] Samy, S., Robinson, J., Rumsey, I.C., Walker, J.T., Hays, M.D., Robinson, J., Rumsey, I.C., Hays, M.D., 2013b. Speciation and trends of organic nitrogen in southeastern U.S. fine particulate matter (PM<sub>2.5</sub>). *Journal of Geophysical Research: Atmospheres* 118, 1996-2006.
- [110] Saurer, M., Cherubini, P., Ammann, M., Cinti, B.D., Siegwolf, R., 2004. First detection of nitrogen from NO<sub>x</sub> in tree rings: a 15 N/ 14 N study near a motorway. *Atmospheric Environment* 38, 2779-2787.
- [111] Scalabrin, E., Zangrando, R., Barbaro, E., Kehrwald, N.M., Gabrieli, J., Barbante, C., Gambaro, A., 2012. Amino acids in Arctic aerosols. *Atmospheric Chemistry and Physics* 12, 10453-10463.
- [112] Scheller, E., 2001. Amino acids in dew – origin and seasonal variation. *Atmospheric Environment* 35, 2179-2192.
- [113] Simpson, I., Bol, R., Bull, I., Evershed, R., Petzke, K., Dockrill, S., 1999. Interpreting early land management through compound specific stable isotope analysis of archaeological soils. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 13, 1315-1319.
- [114] Skopelitis, D.S., Paranychiakis, N.V., Paschalidis, K.A., Pliakonis, E.D., Delis, I.D., Yakoumakis, D.I., Kouvarakis, A., Papadakis, A.K., Stephanou, E.G., Roubelakis-Angelakis, K.A.,

2006. Abiotic stress generates ROS that signal expression of anionic glutamate dehydrogenases to form glutamate for proline synthesis in tobacco and grapevine. *The Plant Cell* 18, 2767-2781.
- [115] Skudnik, M., Jeran, Z., Batič, F., Kastelec, D., 2016. Spatial interpolation of N concentrations and  $\delta^{15}\text{N}$  values in the moss *Hypnum cupressiforme* collected in the forests of Slovenia. *Ecological Indicators* 61, 366-377.
- [116] Smallwood, B.J., Wooller, M.J., Jacobson, M.E., Fogel, M.L., 2003. Isotopic and molecular distributions of biochemicals from fresh and buried *Rhizophora mangle* leaves. *Geochemical Transactions* 4, 38-46.
- [117] Song, T., Wang, S., Zhang, Y., Song, J., Liu, F., Fu, P., Shiraiwa, M., Xie, Z., Yue, D., Zhong, L., 2017a. Proteins and amino acids in fine particulate matter in rural Guangzhou, Southern China: seasonal cycles, sources, and atmospheric processes. *Environmental science & technology* 51, 6773-6781.
- [118] Song, T., Wang, S., Zhang, Y., Song, J., Liu, F., Fu, P., Shiraiwa, M., Xie, Z., Yue, D., Zhong, L., Zheng, J., Lai, S., 2017b. Proteins and Amino Acids in Fine Particulate Matter in Rural Guangzhou, Southern China: Seasonal Cycles, Sources, and Atmospheric Processes. *Environmental Science & Technology* 51, 6773-6781.
- [119] Styring, A.K., Fraser, R.A., Bogaard, A., Evershed, R.P., 2014a. Cereal grain, rachis and pulse seed amino acid  $\delta^{15}\text{N}$  values as indicators of plant nitrogen metabolism. *Phytochemistry* 97, 20-29.
- [120] Styring, A.K., Fraser, R.A., Bogaard, A., Evershed, R.P., 2014b. The effect of manuring on cereal and pulse amino acid  $\delta^{15}\text{N}$  values. *Phytochemistry* 102, 40-45.
- [121] Szyrmer, W., Zawadzki, I., 1997. Biogenic and Anthropogenic Sources of Ice-Forming Nuclei: A Review. *Bulletin of the American Meteorological Society* 78, 209-228.
- [122] Tao, S., Ru, M.Y., Du, W., Zhu, X., Zhong, Q.R., Li, B.G., Shen, G.F., Pan, X.L., Meng, W.J., Chen, Y.L., Shen, H.Z., Lin, N., Su, S., Zhuo, S.J., Huang, T.B., Xu, Y., Yun, X., Liu, J.F., Wang, X.L., Liu, W.X., Cheng, H.F., Zhu, D.Q., 2018. Quantifying the rural residential energy transition in China from 1992 to 2012 through a representative national survey. *Nature Energy* 3, 567-573.
- [123] Tcherkez, G., 2011. Natural  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  isotope composition in  $\text{C}_3$  leaves: are enzymatic isotope effects informative for predicting the  $^{15}\text{N}$ -abundance in key metabolites? *Functional Plant Biology* 38, 1-12.
- [124] Tomassen, H.B.M., Roelofs, J.G.M., 2003. Stimulated Growth of *Betula pubescens* and *Molinia caerulea* on Ombrotrophic Bogs: Role of High Levels of Atmospheric Nitrogen Deposition. *Journal of Ecology* 91, 357-370.
- [125] Turekian, V.C., Macko, S., Ballentine, D., Swap, R.J., Garstang, M., 1998. Causes of bulk carbon and nitrogen isotopic fractionations in the products of vegetation burns: laboratory studies. *Chemical Geology* 152, 181-192.
- [126] Vanoni, M.A., Curti, B., 2005. Structure–function studies on the iron–sulfur flavoenzyme glutamate synthase: an unexpectedly complex self-regulated enzyme. *Archives of biochemistry and biophysics* 433, 193-211.
- [127] Varela, Z., Carballeira, A., Fernández, J.A., Aboal, J.R., 2013. On the Use of Epigeaeic Mosses to Biomonitor Atmospheric Deposition of Nitrogen. *Archives of Environmental Contamination & Toxicology* 64, 562-572.
- [128] Vermeulen, I., Block, C., Vandecasteele, C., 2012. Estimation of fuel-nitrogen oxide emissions from the element composition of the solid or waste fuel. *Fuel* 94, 75-80.

- [129] Violaki, K., Mihalopoulos, N., 2010a. Water-soluble organic nitrogen (WSO<sub>N</sub>) in size-segregated atmospheric particles over the Eastern Mediterranean. *Atmospheric Environment* 44, 4339-4345.
- [130] Violaki, K., Mihalopoulos, N., 2010b. Water-soluble organic nitrogen (WSO<sub>N</sub>) in size-segregated atmospheric particles over the Eastern Mediterranean. *Atmospheric Environment* 44, 4339-4345.
- [131] Wang, Y., Zhuang, G., Xu, C., An, Z., 2007. The air pollution caused by the burning of fireworks during the lantern festival in Beijing. *Atmospheric Environment* 41, 417-431.
- [132] Wang, Y.Q., Zhang, X.Y., Draxler, R.R., 2009. TrajStat: GIS-based software that uses various trajectory statistical analysis methods to identify potential sources from long-term air pollution measurement data. *Environmental Modelling & Software* 24, 938-939.
- [133] Wedyan, M.A., Preston, M.R., 2008a. The coupling of surface seawater organic nitrogen and the marine aerosol as inferred from enantiomer-specific amino acid analysis. *Atmospheric Environment* 42, 8698-8705.
- [134] Wedyan, M.A., Preston, M.R., 2008b. The coupling of surface seawater organic nitrogen and the marine aerosol as inferred from enantiomer-specific amino acid analysis. *Atmospheric Environment* 42, 8698-8705.
- [135] Werner, R.A., Schmidt, H.L., 2002. The in vivo nitrogen isotope discrimination among organic plant compounds. *Phytochemistry* 61, 465-484.
- [136] Xiao, H.Y., Liu, C.Q., 2002. Sources of nitrogen and sulfur in wet deposition at Guiyang, southwest China. *Atmospheric Environment* 36, 5121-5130.
- [137] Xiao, H.Y., Tang, C.G., Xiao, H.W., Liu, X.Y., Liu, C.Q., 2010a. Mosses Indicating Atmospheric Nitrogen Deposition and Sources in the Yangtze River Drainage Basin, China. *Journal of Geophysical Research Atmospheres* 115.
- [138] Xiao, H.Y., Tang, C.G., Xiao, H.W., Liu, X.Y., Liu, C.Q., 2010b. Stable sulphur and nitrogen isotopes of the moss *Haplocladium microphyllum* at urban, rural and forested sites. *Atmospheric Environment* 44, 4312-4317.
- [139] Xu, Y., Xiao, H., 2017a. Concentrations and nitrogen isotope compositions of free amino acids in *Pinus massoniana* (Lamb.) needles of different ages as indicators of atmospheric nitrogen pollution. *Atmospheric Environment* 164, 348-359.
- [140] Xu, Y., Xiao, H., 2017b. Free amino acid concentrations and nitrogen isotope signatures in *Pinus massoniana* (Lamb.) needles of different ages for indicating atmospheric nitrogen deposition. *Environmental Pollution* 221, 180-190.
- [141] Yan, G., Kim, G., Kim, J., Jeong, Y.-S., Kim, Y.I., 2015. Dissolved total hydrolyzable enantiomeric amino acids in precipitation: Implications on bacterial contributions to atmospheric organic matter. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 153, 1-14.
- [142] Yang, H., Yu, J.Z., Ho, S.S.H., Xu, J., Wu, W.-S., Wan, C.H., Wang, X., Wang, X., Wang, L., 2005. The chemical composition of inorganic and carbonaceous materials in PM<sub>2.5</sub> in Nanjing, China. *Atmospheric Environment* 39, 3735-3749.
- [143] Yoneyama, T., Tanaka, F., 1999. Natural abundance of <sup>15</sup>N in nitrate, ureides, and amino acids from plant tissues. *Soil Science & Plant Nutrition* 45, 751-755.
- [144] Yoneyama, T., Yamada, N., Kojima, H., Yazaki, J., 1984. Variations of Natural <sup>15</sup>N Abundances in Leguminous Plants and Nodule Fractions. *Plant & Cell Physiology* 25, 1561-1565.
- [145] Zhang, Q., Anastasio, C., 2003a. Free and combined amino compounds in atmospheric fine

- particles (PM<sub>2.5</sub>) and fog waters from Northern California. *Atmospheric Environment* 37, 2247-2258.
- [146] Zhang, Q., Anastasio, C., 2003b. Free and combined amino compounds in atmospheric fine particles (PM<sub>2.5</sub>) and fog waters from Northern California. *Atmospheric Environment* 37, 2247-2258.
- [147] Zhang, Y., Schauer, J.J., Zhang, Y., Zeng, L., Wei, Y., Liu, Y., Shao, M., 2008. Characteristics of particulate carbon emissions from real-world Chinese coal combustion. *Environmental Science & Technology* 42, 5068-5073.
- [148] Zhang, Z., Xiao, H., Zheng, N., Gao, X., Zhu, R.G., 2016. Compound-Specific Isotope Analysis of Amino Acid Labeling with Stable Isotope Nitrogen (<sup>15</sup>N) in Higher Plants. *Chromatographia*, 1-9.
- [149] Zhou, P., Xiong, S., Zhang, Y., Jiang, H., Chi, Y., Li, L., 2017. Study on the nitrogen transformation during the primary pyrolysis of sewage sludge by Py-GC/MS and Py-FTIR. *International Journal of Hydrogen Energy* 42, 18181-18188.
- [150] Zhu, R.-g., Xiao, H.-Y., Zhang, Z., Lai, Y., 2018. Compound-specific  $\delta^{15}\text{N}$  composition of free amino acids in moss as indicators of atmospheric nitrogen sources. *Scientific Reports* 8, 14347.
- [151] 王镜岩, 朱圣庚, 徐长法, 2002. 生物化学, 第三版. 教育.



## 致谢

本论文是在导师肖化云研究员的悉心指导和严格要求下完成的。从研究方向的确定、论文的选题，到开展野外采样和实验分析工作，以及最后的论文撰写，每一步都得到了肖老师的指导和帮助。肖老师在科研工作上兢兢业业，其求真务实的工作态度尤其值得学生学习；导师对学生谆谆教诲、孜孜不倦，非常注重培养我们严谨求实的科学态度，以及独力工作的能力。谨在此，向导师致以最衷心的感谢和崇高的敬意！

感谢课题组肖红伟、关晖、郑能建、张忠义和瞿玲露等同门的大力支持；感谢该报告评审人等给予的指导和帮助！

感谢感谢我最亲爱的家人，有你们一如既往的理解与支持，我的成长道路才能如此阳光明媚！亲人的抚养和牵挂，过去用学业汇报，今后更要以出色的工作来达成家人的期待！

朱仁果  
2019年11月于贵阳