

DOI: 10.5846/stxb201407111412

洪志强,熊瑛,李艳,崔骏,刘钰钦,何江伟,王京刚,袁冬海.白洋淀沉水植物腐解释放溶解性有机物光谱特性.生态学报,2016,36(19):6308-6317.

Hong Z Q, Xiong Y, Li Y, Cui J, Liu Y Q, He J W, Wang J G, Yuan D H. The spectra characterization on dissolved organic matter of submerged plant decomposition in Lake Baiyangdian. Acta Ecologica Sinica, 2016, 36(19): 6308-6317.

白洋淀沉水植物腐解释放溶解性有机物光谱特性

洪志强^{1,2}, 熊 瑛², 李 艳³, 崔 骏⁴, 刘钰钦¹, 何江伟², 王京刚¹, 袁冬海^{2,*}

1 北京化工大学环境系, 北京 100029

2 北京建筑大学, 北京应对气候变化研究与人才培养基地, 北京市可持续城市水系统构建与风险控制工程技术研究中心, 北京 100044

3 鞍钢集团工程技术有限公司能源环保事业部, 鞍山 114002

4 北京师范大学环境学院, 北京 100875

摘要:利用水生植物修复受污染水体中,水生植物在秋冬季节腐烂分解会释放大量溶解性有机物(DOM),DOM可影响水环境中污染物的迁移转化,对水体中的化学和生物过程产生一定影响。因此利用紫外可见光光谱(UV-vis)结合平行因子分析法(PARAFAC)和主成分分析法(PCA)来表征和分析水生植物腐解产物中DOM的组分及其特点。UV-vis的研究表明随着腐解时间的增加,样品中DOM的腐殖化程度逐渐升高,当腐殖化程度达到最高值时,腐解进入矿化阶段,此时腐殖化程度逐渐降低。通过PARAFAC分析可以分离出3种类蛋白组分(C1、C2和C5)和2种类腐殖酸组分(C3和C4)。由PCA可以得出在腐解初期,类蛋白组分占据主导地位;随着腐解时间的增加,类蛋白组分含量逐渐降低,而类腐殖酸组分含量逐渐升高。

关键词:水生植物腐解;溶解性有机物(DOM);平行因子(PARAFAC);主成分分析(PCA);光谱特性

The spectra characterization on dissolved organic matter of submerged plant decomposition in Lake Baiyangdian

HONG Zhiqiang^{1,2}, XIONG Ying², LI Yan³, CUI Jun⁴, LIU Yuqin¹, HE Jiangwei², WANG Jinggang¹, YUAN Donghai^{2,*}

1 Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China

2 Beijing Climate Change Response Research and Education Center, Beijing Engineering Research Center of Sustainable Urban Water System Construction and Risk Control, Beijing University of Civil Engineering and Architecture, Beijing 100044, China

3 Energy and Environment Department, Angang Steel Engineering and Technology Co., Ltd., Anshan 114002, China

4 School of Environment, Beijing Normal University, Beijing 100875, China

Abstract: Urban polluted landscape water was purified by macrophytes that absorb nutrients and degrade pollutants. However, macrophytes are decomposed in autumn and winter, affecting water quality since they release the absorbed nutrients and pollutants back into the environment. Meanwhile, dissolved organic matter (DOM) released by decomposing macrophytes sharply increases organic pollutants. Previous studies focused on the macrophyte-purified water, biodiversity maintenance of landscape water, and eco-culture lineage, but just a few of them studied the negative effects of urban polluted landscape water purified by macrophytes. DOM is a complex mixture of compounds, most of which remain unknown, because it is hard to separate and characterize them. These compounds affect the distribution of pollutants, such as heavy metals and organic pollutants that react with DOM to form an even more complex mixture. Lake Baiyangdian is one

基金项目:国家自然科学基金资助项目(51578037,51209003)

收稿日期:2014-07-11; 网络出版日期:2016-03-18

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: yuandonghai@aliyun.com

of the largest lakes in north China that serves as an aquaculture and aquatic natural reserve, and contributes to the adjustment of the surrounding climate and carbon cycling. In this study, we investigated the effect of DOM released by macrophyte decomposition during the winter in Lake Baiyangdian, where mounts of phytoplankton, emergent aquatic plants, and submerged plants are grown. We used UV-vis and fluorescence spectra combined with Parallel Factor (PARAFAC) and Principal Component Analysis (PCA) to study DOM released by macrophyte decomposition and reveal its humification degree, aromatic degree, and molecular weight. UV-vis results indicated that the number of plants positively affected the number of carboxyl, carbonyl, and esters groups in DOM molecular composition. The humification degree increased with increasing decomposition time, but it decreased after reaching the peak value, probably because decomposition process entered into the mineralization phase. PARAFAC provided more detailed information on the components in DOM samples that hardly detected by traditional peak picking. Five components were identified by PARAFAC, including 3 protein-like components (C1, C2, and C5) and 2 humic-like acid components (C3 and C4). C1 was classified as tyrosine-like group, C2 and C5 were classified as tryptophan-like groups, C4 was dominated by humic-like acid, and C3 was a combination of marine and terrestrial humic-like acids. Correlation analysis showed that C3 was significant positive correlated with C4, as well as C1, C2 with C5, results that indicated the close relationship of protein-like substances with humic-like acids. PCA provided information on the contribution of components in DOM samples. The results showed a relatively high factor 1 score in the beginning of decomposition, indicating that the protein-like substances were dominant. During the process of decomposition, the proportion of protein-like substances decreased and the humic-like substances increased. At the end of decomposition, the humic-like acids had a relative high proportion and were dominant in DOM samples

Key Words: macrophyte decomposition; dissolved organic matter (DOM); parallel factor analysis (PARAFAC); principle component analysis (PCA); spectra characterization

白洋淀是我国北方地区最大的草型湖泊之一,具有调节小气候和提供饮用水源的功能,同时可发展旅游和水产养殖业等。随着周边及上游地区经济的快速发展,大量污水排入白洋淀上游河道中,导致白洋淀水体污染严重,如重金属和有机污染物含量超标。白洋淀作为典型的草型湖泊,可以考虑使用大量现存的水生植物对水体进行修复。利用水生植物修复技术可以有效地吸收氮、磷和重金属等污染物^[1],修复污染水体,改善水体水质,促进有机物的矿化作用,达到控制富营养化和恢复并重建水体生态环境的目的^[2]。

由于水生植物在秋冬季节腐烂分解,会释放出大量的营养盐类物质,致使水体遭受二次污染的风险。潘慧云等^[3]研究发现,苦草、金鱼藻衰亡后,其有机质分解造成水体处于厌氧状态,促进了沉积物中磷的释放。李文朝^[4]的研究表明,一些浅水湖泊中菱草的腐烂分解造成了水质的恶化,形成“菱黄水”现象。此外水生植物腐解还会释放出大量溶解性有机物(DOM),这是秋冬季节 DOM 的主要来源之一^[5]。DOM 是一类由植物和微生物降解所产生的、普遍存在于自然水体中的有机物,它的存在影响自然水体中的化学和生物过程^[6-7]。DOM 可与水体中污染物质发生相互作用,影响水体中污染物的迁移转化和生物有效性。张璐璐等^[8]采用 Hakanson 潜在生态风险指数法对白洋淀的重金属现状进行综合评价。结果表明,表层沉积物中重金属处于低风险水平,重金属含量的顺序为 Zn>Cr>Cu>Pb>As>Cd>Hg。Chen 等^[9]对白洋淀水体中重金属含量进行分析并根据美国环保署标准发现鱼体中 As 和 Hg 的含量严重超标。而 Plaze 等^[10]利用荧光技术研究污泥中的腐殖酸与 Cu、Zn、Pb、Cd 的淬灭效果,研究结果表明不同重金属与腐殖酸的络合常数和结合容量不同,Pb 和 Cu 的络合效果较好。

鉴于水生植物腐解过程释放的溶解性有机质分子结构复杂,且在一定程度上影响水体环境,因此需要综合利用多种分析技术表征不同腐解阶段释放有机质的特点,为科学评价水生植物腐解对水环境的影响提供基础。本研究成果可加深对水生植物腐解有机质释放对其周边环境效应的认识,有助于更好的利用水生植物对受损水体进行生态修复。

1 材料与方 法

1.1 样品的采集

试验所使用的水生植物均为多年生沉水植物,包括轮藻、金鱼藻、马来眼子菜和菹齿眼子菜,其质量比设定为 1:1:1:1。多年生草本植物地上部分容易腐解,而地下部分存活时间较长。由于其地上部分和地下部分的分解节律不同,这里仅选用水生植物地上部分(茎、叶)作为实验材料。通过对白洋淀单位面积生物量的多次调查发现其生物量密度在 0—5 kg/m² 范围之间波动。因此,本实验设置 6 个不同的生物量梯度:0、0.5、1、3、5、8 kg/m²。将采集的沉水植物用水反复冲洗,再用蒸馏水进行漂洗,去除其表面杂质后进行风干,将风干后的植物放置于烘箱中烘干至恒量,保存在干燥处待用。

实验设置 6 个高为 90 cm,直径为 70 cm 的圆柱形塑料桶。桶底统一铺设 20 cm 厚的白洋淀底泥,向 6 个桶中分别添加烘干的水生植物残体,使其生物量密度分别为 0、0.5、1、3、5、8 kg/m²,分别记为 U₀、U₁、U₂、U₃、U₄和 U₅,然后注入约 40 cm 高的湖水。为了保证实验条件在最大程度上贴近白洋淀的自然环境,将 6 个塑料桶放置于白洋淀岸边,并且每周向桶内补充一定量相同体积的湖水,来弥补由于蒸发导致的水分丧失。静置 3d 后,以 2012 年 9 月 20 日作为腐解实验的第一次采样时间。实验共采集 4 次样本,分别为 2012 年 9 月,2012 年 12 月,2013 年 3 月和 2013 年 6 月,分别记为 T₁、T₂、T₃和 T₄批,每批采集 6 个样品。DOM 样品采集于沉积物与上覆水交界处的上覆水样,所取样品保存在低温(≤4℃)条件下送回实验室。以 7000 r/min 的转速离心 10 min 后,将上清液通过 0.45 μm 滤膜,最终所得滤液保存在 4℃ 下待用。

1.2 紫外吸收光谱测定

紫外吸收光谱是由装有紫外探针软件的电脑控制的双束光谱测定仪进行测定的。测定波长范围为 200—700 nm,测定时使用 1 cm 的石英器皿在室温(20℃)下进行测定,每组实验都使用超纯水作为空白样进行校正。

1.3 溶解性有机碳(DOC)的测定

采用 TOC-VCN 总有机碳分析仪对样品的有机碳含量进行测定,DOC 的浓度可以近似用来表示 DOM 的浓度。在 800℃ 的高温催化氧化条件下,将待测样品放入样品槽中,使用 8% 的 HCl 酸化,选用 Non-Purgeable Organic Carbon(NPOC)的非挥发性有机碳模式测定。分别配置 5、20、40、80、100 mg/L 的邻苯二甲酸氢钾,采用标准曲线法得出待测样品的 DOC 值。本实验 DOC 的测定值为 3 次测定所得的平均值。

1.4 荧光光谱的测定

为了降低内过滤效应的影响,同时使样本具有可比性,在测定荧光光谱前,所有样本的 DOC 浓度统一使用超纯水稀释至小于等于 10 mg/L^[11]。使用 Hitachi F-4600 荧光光谱测定仪进行荧光光谱的测量。光源为 150 W 的疝气灯,PMT 电压为 700 V。激发波长 E_x 的扫描范围为 200—450 nm,发射波长 E_m 的扫描范围为 280—550 nm,扫描速度为 2400 nm/min,响应时间为 0.5 s。激发和发射光的带通均为 5 nm。同步荧光光谱扫描范围 E_x = 250—600 nm,Δλ = E_m - E_x = 55 nm。样品均在室温下测定,为了消除瑞利散射峰,所有光谱在使用前,需减去由超纯水测定的空白光谱^[12-13]。样品所有参数的测定均在同一天内完成。

1.5 平行因子分析法

由于使用传统的激发发射光谱(EEMs)难以将 DOM 样品中重叠的荧光峰分离出来,因此使用平行因子法(PARAFAC)结合 EEMs 分析 DOM 样品已被广泛使用^[14-15]。PARAFAC 结合 EEMs 不仅可以分离出荧光峰的种类,还可以确定荧光峰的强弱^[16],为 DOM 的定性和定量研究提供了科学依据。

PARAFAC 是一种运用数学计算方法的研究手段,具体的是运用交替最小二乘法程序将 *N* 种组分分解成 *n* 种载荷矩阵。简而言之,三维荧光光谱数据组成一个三维的数据集 *I* × *J* × *K*,*I* 表示样品数量,*J* 表示发射光谱数目,*K* 表示激发光谱数目。PARAFAC 将三维的数据集分解成 3 个矩阵标记为 *A*(得分矩阵)、*B* 和 *C*(载荷矩阵),及元素 *a_{ij}*、*b_{ij}*和 *c_{ij}*。公式如下:

$$X_{ijk} = \sum_{f=1}^F a_{if} b_{jf} c_{kf} + e_{ijk}; i = 1, 2, \dots, I; j = 1, 2, \dots, J; k = 1, 2, \dots, K \quad (1)$$

式中, f 为某个荧光组分, F 为荧光组分的总数目, 本实验中, 使用带有 DOMFlour 工具包的 Matlab7.0 软件进行 PARAFAC 分析^[17-18]。分析步骤如下: (1) 将每个研究样品的 EEM 减去纯净水的 EEM 图谱; (2) 将所有扣除空白样的 EEMs 及标准化后的数据导入 DOMFlour 工具包中; (3) 将 EEMs 图整理成三维的数据图, 在 PARAFAC 分析中, 运用各种分析方法再结合交替最小二乘法对 PARAFAC 模型求解; (4) 计算出 2 到 8 个组分, 由残差、平方误差和置信度等综合指标, 得出最优组分和荧光强度。

1.6 主成分分析方法

使用科学的数据统计软件 SPSS 16.0 进行主成分分析 (Principle component analysis; PCA)。PCA 用于确定主要成分, 它可以解释光谱“类型”, 定义包含 DOM 中大量荧光光谱变化的复合物。潜在的非独立性的数据可以影响 PCA 的结果, 因此应用 Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) 和 Bartlett 的实验测试各个组分的相关性和独立性。同时, 所有的光谱数据使用 Varimax Raw 运算法则进行旋转以获得主成分数据矩阵中最大的光谱变化和负荷。

2 结果与分析

2.1 紫外吸收光谱特性

通过对 DOM 样品进行紫外吸收光谱的全波长扫描, 可以分析出 DOM 分子结构中部分官能团的性质。由于 DOM 分子结构中存在大量的且相互干扰的官能团, 因此紫外可见光谱通常没有明显的特征峰 (图 1)。上覆水 DOM 样品的紫外吸收光谱具有相似的趋势, 在 200 nm 到 400 nm 处, 紫外吸收值随着波长的增加而迅速降低, 在 400 nm 到 700 nm 处曲线趋于稳定。随着水生植物腐解时间的增加, 上覆水 DOM 的紫外吸收值呈现出升高的趋势 (图 1A)。同样, 随着生物量的增加, 紫外吸收值逐渐上升, 在达到最大值后, 随着生物量的增加呈现降低的趋势。但仍高于未添加生物量时的紫外吸收值 (图 1B)。

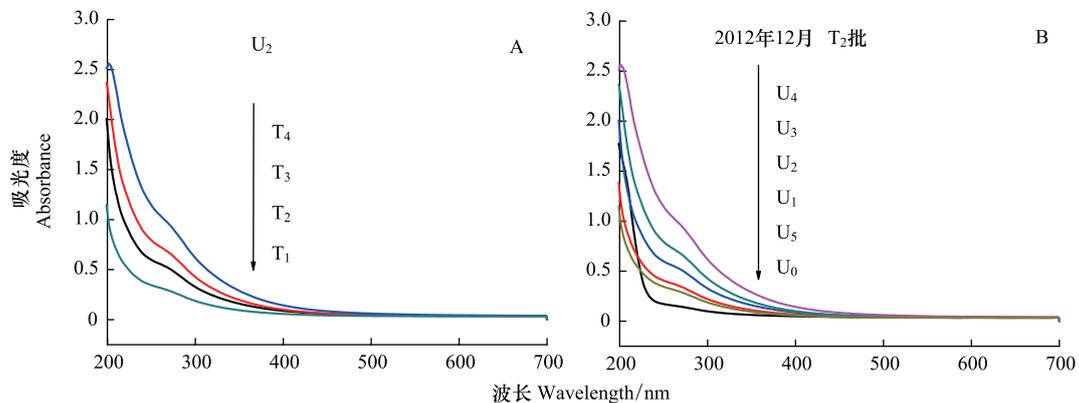


图 1 上覆水 DOM 样品紫外吸收曲线

Fig.1 The UV-Vis absorption curves of DOM samples in overlying water

(A) 样品 U_2 在不同采样时间段的紫外吸收光谱变化; (B) T_2 批次不同样品的紫外吸收光谱比较

$SUVA_{254}$ (Specific Ultraviolet Absorbance 254nm) 被广泛用于评价表示 DOM 中腐殖质含量的高低及不饱和 $C=C$ 键的芳香族化合物的含量, 该值越大, 表明 DOM 的腐殖化程度、不饱和程度和芳香化程度越高^[19-21]。通常以 DOM 样品在 254 nm 处的吸光度值乘以 100 与 DOC 的比值表示。样品 U_3 随时间变化的 $SUVA_{254}$ 的值在 0.22—1.88 之间 (表 1), 且随着腐解时间的增加而逐渐增大。表明随着腐解的进行, 容易分解的物质 (如蛋白质等) 被逐步消耗而使富含芳香环结构的腐殖质所占比例逐步升高, 导致 DOM 的芳香化程度增大。 $SUVA_{254}$ 的变化范围为 0.48—3.43 (表 2), 其中 U_2 的芳香化程度相对较高且饱和结构较多, 而 U_5 的腐殖化程

度最低。腐解进行到 6 月份(T_4 批次), U_0 中有机物基本被分解完, 而样品 U_1 、 U_2 、 U_3 和 U_4 尚处于分解纤维素和半纤维素等大分子物质阶段, U_5 尚不确定是否开始分解大分子物质, 理论上 U_0 和 U_5 应该分别具有最大值和最小值, 然而实验结果与分析结果有所偏差, 究其原因可能是因为腐烂分解进行到一定阶段后, 腐殖质的含量开始减少^[22], 进入矿化阶段。因此, 推断 U_5 的 $SUVA_{254}$ 值较低可能是由于其大分子类物质(如腐殖质)开始分解。

表 1 DOM 紫外吸收参数随时间的变化(U_3 样品)

Table 1 The variation of UV-Vis absorption parameters with the time changing (U_3)

采样日期 Data	$SUVA_{254}$	E_2/E_3	E_4/E_6	$A_{253/203}$	$A_{226-400}$	$f_{450/500}$	BIX
2012-09(T_1)	0.22	5.17	2.62	0.17	14.77	1.68	0.86
2012-12(T_2)	0.65	5.75	4.24	0.20	24.75	1.64	0.84
2013-03(T_3)	1.57	3.62	1.53	0.31	57.04	1.66	0.89
2013-06(T_4)	1.88	5.00	1.54	0.36	75.53	1.73	0.90

通常将激发波长固定在 370 nm 处, 所得到的在 450 nm 和 500 nm 处的发射波长比值称为荧光指数 FI (Fluorescence Index, $f_{450/500}$), $f_{450/500}$ 可用于表征 DOM 的来源^[23]。当 $f_{450/500}$ 在 1.4 左右时, 认为 DOM 主要受陆源影响; 当 $f_{450/500}$ 在 1.9 左右时, 认为 DOM 主要受微生物源影响。 T_4 批样品的 $f_{450/500}$ 变化范围为 1.62—1.74 (表 2), 表明上覆水 DOM 受陆源和微生物源共同作用。不同采样批次的 $f_{450/500}$ 值在 1.64—1.73 之间变化(表 1), 其中 T_4 的 $f_{450/500}$ 较高, 表明这个时段微生物活动相对强烈。

生物指数 (Biological Index) BIX 通常用来评价样品中由微生物活动所产生的新鲜 DOM。BIX < 0.6 表示样品受微生物影响较弱^[24]。 T_4 批样品的 BIX 的变化范围为 0.85—1.02 之间(表 2), 其中 U_0 具有较大的 BIX 值, 表明 U_0 中由微生物产生的新鲜的 DOM 较多, 这是由于 U_0 中未添加生物量, 有机质含量较少, DOM 主要来源于微生物的活动, 因此造成样品中微生物来源相对贡献较大。在不同批次的样品中, T_4 的 BIX 较大, T_2 的 BIX 较小(表 1), 这是由于夏季微生物活动频繁, 冬季微生物活动较少, 从而使得不同阶段的 BIX 存在一定差异。

表 2 T_4 批样品的紫外吸收参数(6 月份)

Table 2 The UV-Vis absorption parameters of T_4 's samples (June)

样品 Samples	$SUVA_{254}$	E_2/E_3	E_4/E_6	$A_{253/203}$	$A_{226-400}$	$f_{450/500}$	BIX
U_0	1.85	2.98	1.14	0.10	19.09	1.62	1.02
U_1	2.84	4.34	1.26	0.36	39.49	1.66	0.93
U_2	3.43	4.54	1.44	0.35	58.02	1.74	0.95
U_3	1.88	5.00	1.54	0.36	75.53	1.73	0.90
U_4	1.90	4.97	1.85	0.44	109.01	1.70	0.85
U_5	0.48	4.33	1.17	0.37	33.46	1.67	0.92

E_2/E_3 为吸光度在 250 nm 与 365 nm 处的比值, 其常用来区分不同来源的 DOM 吸收特性^[25], 当 E_2/E_3 小于 3.5 时, 主要反映 DOM 中胡敏酸的吸收特性, 当比值大于 3.5 时, 主要反映 DOM 中富里酸的吸收特性^[23]。植物腐解样品中的 E_2/E_3 均大于 3.5 (表 1 和表 2), 说明上覆水 DOM 样品中以富里酸为主。而未添加生物量的样品 U_0 , 其比值小于 3.5, 表明其 DOM 主要以胡敏酸为主。 E_4/E_6 通常为 465 nm 处的吸光度值与 665 nm 吸光度值的比值, 通常反应的是胡敏酸的腐殖化程度及芳香化合物的缩合程度^[26]。样品 U_3 在不同阶段中, E_4/E_6 的变化范围为 1.53—4.24 (表 1)。其中 T_2 批次的平均值最大, 表明在此阶段胡敏酸的缩合度和腐殖化程度比较高。在 6 月份的不同样品中, E_4/E_6 的比值在 1.14—1.85 之间(表 2), 差异较小, 并且与添加量成正比, 到 U_4 后开始降低。表明胡敏酸的芳香化程度随着植物量的增多而呈现缓慢的上升趋势, 而到达最大值后迅速降低, 表明过量的生物量会导致腐殖化程度降低。

$A_{253/203}$ 主要用来反映芳香环上取代基的种类及取代程度的高低。一般情况下, 当芳香环上取代基中的脂

肪链所占比例升高时, $A_{253/203}$ 值降低, 而当芳香环上的羟基、羧基、羰基和酯类等取代基的比例升高时, $A_{253/203}$ 值升高^[27]。表 1 显示出 $A_{253/203}$ 与腐解时间的长短有着明显的变化规律, $A_{253/203}$ 的数值随着腐解时间的增加而升高, 表明取代基由简单的链状结构向更为复杂的羧基、羟基等转变。U₁—U₅ 的 $A_{253/203}$ 值在 0.35—0.44 之间(表 2)。U₀ 的 $A_{253/203}$ 值为 0.10, 表明芳香环取代基的脂肪链含量较多, 同时表明植物量的加入使上覆水 DOM 中芳香环取代基羧基、羰基、酯类的含量增多。

$A_{226-400}$ 指紫外吸收光谱在 226 nm 至 400 nm 之间的积分面积, 通常反映的是有机质的吸收光谱特征。其值越高, 表示具有苯环结构的化合物所占比例较高。按照时间顺序, $A_{226-400}$ 值逐渐升高(表 1), 表明随着腐解时间增长, DOM 分子中苯环结构所占比例升高, 越难分解。此外, 样品 U₄ 的 $A_{226-400}$ 值最高, 说明样品 U₄ 中具有苯环结构的化合物含量最高。

2.2 平行因子荧光组分分析

通过对不同阶段白洋淀水生植物腐解样品的 EEMs 进行平行因子分析, 共有 5 种组分被分离出来(图 2)。根据激发区间和发射区间的不同对其进行分类, 可以得出组分 C1(275 nm/300 nm)、C2(280 nm/350 nm) 和 C5(215(280) nm/325 nm) 属于类蛋白组分, 而组分 C3(220(305) nm/400 nm) 和 C4(270 nm/455 nm) 属于类腐殖酸组分。

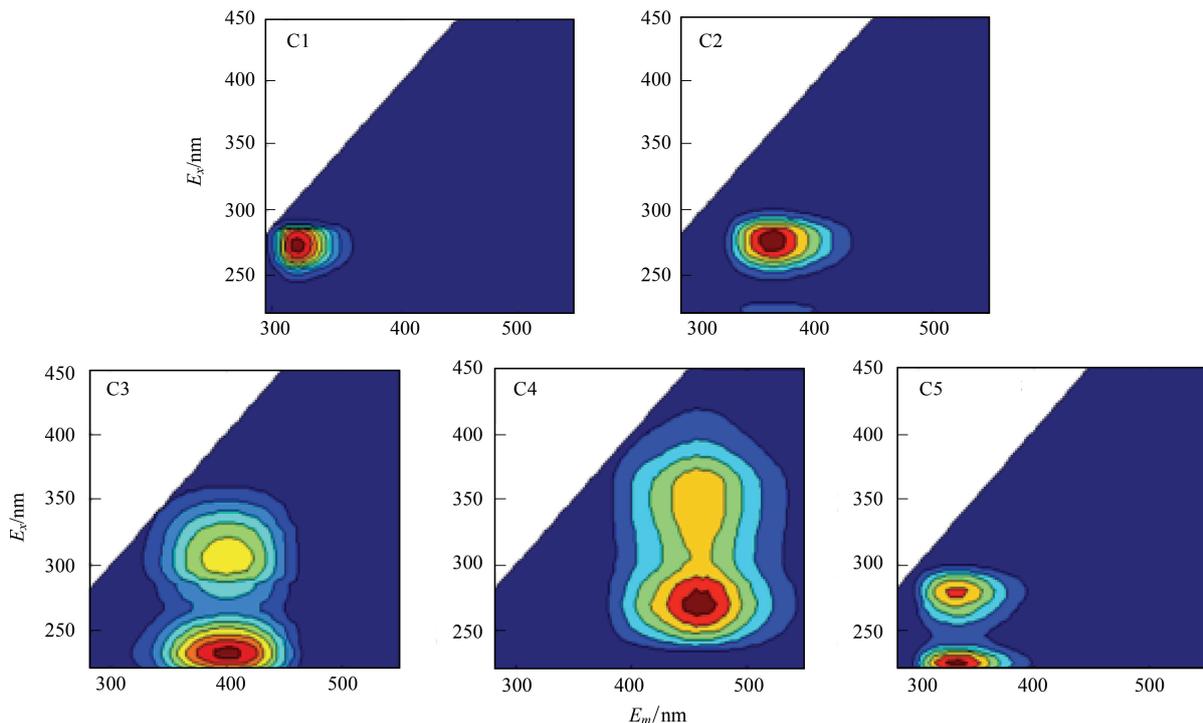


图 2 平行因子组分荧光光谱图

Fig.2 Fluorescence components identified by the PARAFAC model

表 3 指出水生植物腐解 DOM 组分的荧光峰位置和与先前研究结果的对比。其中 C1 在 $E_x/E_m = 275$ nm/300 nm 处出现单一峰, 与 Fellman 等^[28] 研究得到的类酪氨酸组分 ($E_x/E_m = 270-275$ nm/304-312 nm) 在同一区间内, 被认为是类酪氨酸组分。C2 在 $E_x/E_m = 280$ nm/350 nm 出现的单峰与 Coble 等^[29] 发现的 T 峰 ($E_x/E_m = 275$ nm/340 nm) 相似, 此峰被 Coble 认为是结合或游离态的类色氨酸峰。C3 出现了双峰, 与 Williams 等^[30] 研究得出的 C1 ($E_x/E_m = <260(305)$ nm/428 nm) 相比, 稍有蓝移, 被认为是陆源及海洋类腐殖酸的混合组分。C4 与先前研究相比也发生了蓝移, 属于陆源类腐殖酸, 此外, C4 的 E_x 范围较大, 介于 225—415 nm 之间, 说明在 C4 中含有高芳香性或是大分子的荧光基团。C5 在 $E_x/E_m = 215(280)$ nm/325 nm 处出现双峰, 然而之前并没有研究显示在 215 nm/325 nm 处的峰类型及特点。从 C5 的位置分布来看, C5 为类色氨酸组分。

表 3 水生植物腐解 DOM 五种组分的荧光峰位置及描述

Table 3 Comparison of the EEM peaks in this study with those reported in previous studies

荧光组分 Fluorescence components	E_x/E_m	类型 Type	参考文献 References
C1	275 nm/300 nm	类酪氨酸	[31]
C2	280 nm/350 nm	类色氨酸	[29]
C3	220(305) nm/400 nm	陆源及海洋源类腐殖酸	[30,32]
C4	270 nm/455 nm	陆源类腐殖酸	[33]
C5	215(280) nm/325 nm	类色氨酸	[34]

2.3 DOM 荧光组分主成分分析

为了进一步评价荧光组分的变化规律,使用由 PARAFAC 分析得出的荧光组分得分值进行 PCA 解析。在进行主成分分析前,对两个参数:KMO 和 P 进行测试检验可以用来评估 PCA 的可行性。PCA 显示参数 $KMO=0.93, P<0.001$,通常 KMO 大于 0.9, P 值小于 0.001 就可以被视为适合 PCA^[35]。

对所有 PARAFAC 得出的荧光组分进行主成分分析后得出第一主成分和第二主成分分别占据荧光组分变化的 48.31% 和 40.16%,两个主成分共占据了 88.47% 的变化。

$$F1=0.471C1+0.517C2+0.073C3+0.012C4+0.481C5$$

$$F2=0.052C1+0.069C2+0.610C3+0.681C4+0.004C5$$

通过主成分得分图 3A 可得出,5 种组分均与主成分 1 和主成分 2 正相关。其中 3 个类蛋白组分 C1、C2、C5 具有高的 F1 负荷,更接近于 PC1 轴,同时主成分 2 的得分接近于 0,表示主成分 1 中类蛋白质物质占主导地位。陆源和海洋源的类腐殖酸组分 C3 和 C4 显示出高的 F2 负荷,更接近于 PC2 轴,表明主成分 2 中以腐植酸物质为主。本研究中将 PCA 与 PARAFAC 分析相结合可以分离 DOM 中不同特征的荧光组分,从而可以分辨不同样点荧光物质的特点及贡献率。

将所有样品 PCA 的得分绘制于一张图中(图 3B)。从图中可以看出部分点位主成分 1 的得分较高,其他点位的主成分 2 得分较高,大多数样品相对分散,表明水泥交界面处的样品中 DOM 组分会随着时间的变化而发生变化。图 3C 中显示出不同时间条件下表层水植物腐解样品的主成分分析图, T_4 时间段的样本主成分得分较为集中,其它月份较为分散,且主成分 1 得分明显低于主成分 2 得分,PC1 从 -0.98 到 -0.58,均为负值,PC2 得分从 0.87 到 1.72。表明 2013 年 6 月 DOM 的行为主要受主成分 2 的影响,类腐植酸物质的贡献较大。

为了进一步分析样品的特征,按照采样时间和采样点对各个点位进行绘制主成分得分图(图 3D)。结果表明,不同样本的主成分未呈现明显的差异,分析原因可能是因为其来源相同。按照时间序列对其进行分析时发现,各个样点随时间的变化规律一致,腐解初期,主成分 1 的比例高于主成分 2,DOM 中以类蛋白质物质为主,随着腐解的进行,主成分 1 与主成分 2 比例相似,表明 DOM 来源于类蛋白质物质和类腐植酸物质的共同作用,腐解后期呈现出主成分 2 的比例明显高于主成分 1,说明此时 DOM 主要受类腐植酸组分的影响。分析结果表明,水生植物的消亡过程会导致水体的蛋白质含量的变化,随着腐解时间的增加,类蛋白质物质含量逐渐降低,类腐植酸物质含量逐渐升高,腐烂分解后期主要受沉积物的内源释放和剧烈的生物矿化作用的影响^[36]。

2.4 相关性分析

为了更清晰地分析 DOM 各个参数之间的相互关系,采用相关性分析对紫外和荧光指数进行相关系数的计算。 $SUVA_{254}$ 、 E_2/E_3 、 E_4/E_6 、 $A_{253/203}$ 和 $A_{226-400}$ 值能够用于表征 DOM 腐殖化程度、芳香化程度或缩合度和分子量的大小等。在紫外参数之间, E_2/E_3 与 $A_{253/203}$ 存在显著地相关性($r=0.937, P<0.01$)(表 4), E_4/E_6 与 $A_{226-400}$ 之间也表现为显著正相关关系($r=0.993, P<0.01$)(表 4),然而芳香腐殖化指数 $SUVA_{254}$ 与其它参数的相关关系并不明显,其它的文献中也并未说明 $SUVA_{254}$ 与其他参数的相关性。

生物指数(Biotic Index)BIX 与腐殖化指数 E_2/E_3 、 $A_{253/203}$ 和 $A_{226-400}$ 均存在显著负相关关系(相关系数分别

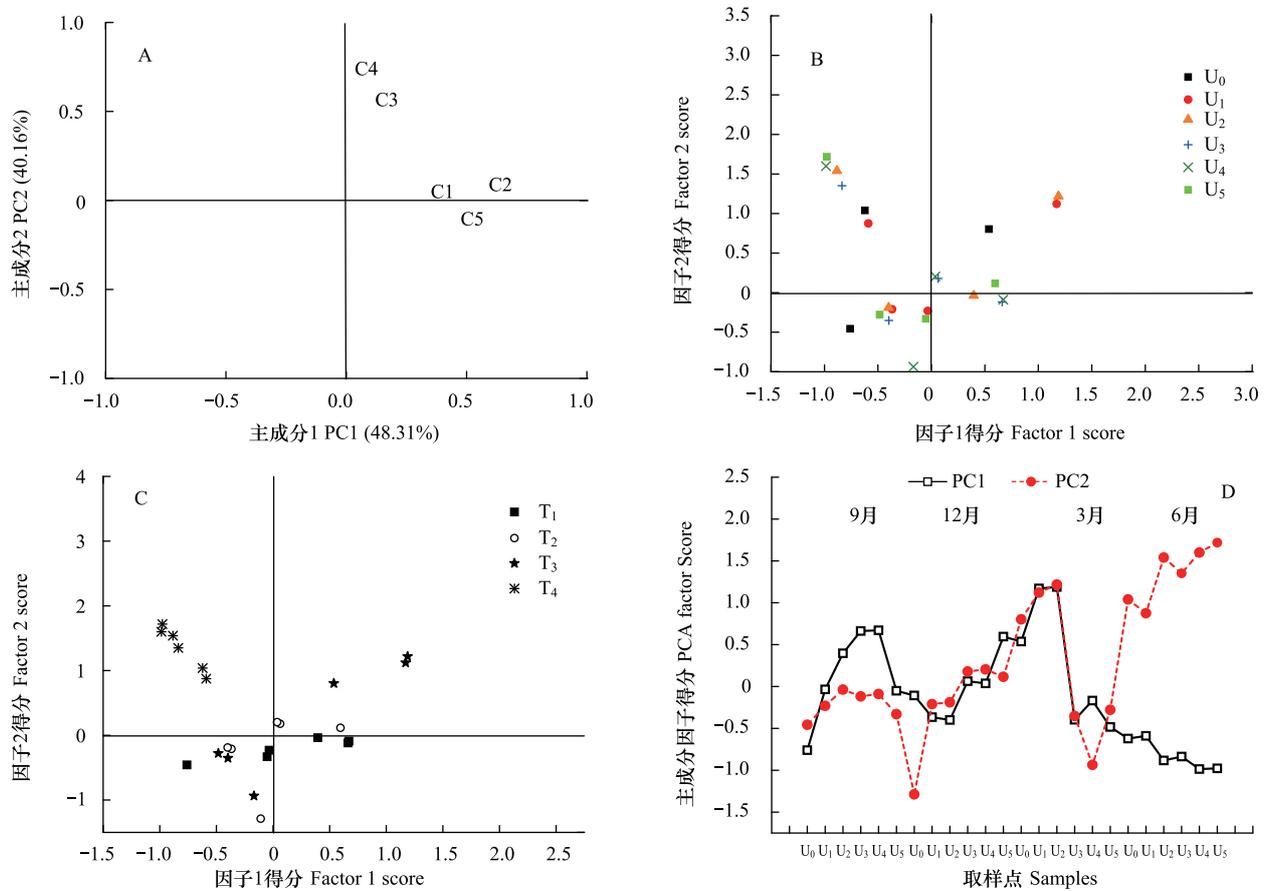


图3 PCA 分析结合 PARAFAC 分离的四种组分

Fig.3 PCA combined with PARAFAC

A: 主成分分析各组分因子负荷图 The loading for the fluorescent components; B: 不同腐解时间所有样点 PCA 因子得分图 The score of all the samples; C: 时间序列主成分因子得分图 The score order by time; D: 不同时间样品主成分得分图 The score of different time

为 $r = -0.906, -0.920, -0.856$)。 E_2/E_3 与 $f_{450/500}$ 的结果表明, 两者之间存在着显著正相关关系 ($r = 0.826, P < 0.05$), Wang 等^[37] 的研究发现, E_2/E_3 与腐殖化程度和分子量大小存在负相关性, E_2/E_3 的值越小, 表明腐殖化程度越高, DOM 分子量越大。因此可以推断荧光指数 $f_{450/500}$ 与腐殖化程度之间存在着负相关性, 这个结论与郭旭晶^[38] 对乌梁素海水体进行相关性分析的结论一致。

表 4 紫外光谱参数与荧光指数的相关性

Table 4 The relationship between UV-vis spectra parameters and fluorescence indexes

指标 indexes	SUVA ₂₅₄	E_2/E_3	E_4/E_6	$A_{253/203}$	$A_{226-400}$	$f_{450/500}$	BIX
SUVA ₂₅₄	1	—	—	—	—	—	—
E_2/E_3	0.410	1	—	—	—	—	—
E_4/E_6	0.161	0.744	1	—	—	—	—
$A_{253/203}$	0.006	0.937 **	0.638	1	—	—	—
$A_{226-400}$	0.090	0.806	0.993 **	0.707	1	—	—
$f_{450/500}$	0.269	0.826 *	0.638	0.664	0.665	1	—
BIX	0.177	-0.906 *	-0.796	-0.920 **	-0.856 *	-0.557	1

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

通过对平行因子各个组分之间的相关性进行研究, 发现 C3 与 C4 具有较高的显著性水平 ($r = 0.932, P < 0.01$) (表 5)。同时 C1、C2 和 C5 之间也存在较高的显著性水平。进一步证明了两种腐殖酸组分和三种类蛋

白质组分分别具有相同的来源与组分特征。

表 5 平行因子各组分之间相关性

Table 5 The relationship between the fluorescence components

组分 Components	C1	C2	C3	C4	C5
C1	1				
C2	0.974 **	1			
C3	0.423	0.308	1		
C4	0.209	0.383	0.932 **	1	
C5	0.960 **	0.985 **	0.370	0.429	1

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

3 结论

本实验运用 UV-vis 和 EEM 结合 PARAFAC 和 PCA 等分析方法对白洋淀不同水生植物腐解量及不同腐解时间的上覆水 DOM 进行了研究。其结果表明:

(1) UV-vis 能够有效的评估 DOM 的宏观结构和来源。腐殖化指数显示出样品的芳香化程度呈现出先增大后减小的趋势,未添加任何植物量的 U_0 样品腐殖化程度最低。对紫外指数 $SUVA_{254}$ 、 $A_{253/203}$ 和 $A_{226-400}$ 的研究表明,随着腐解时间的增长,DOM 分子结构越来越复杂,缩合度和腐殖化程度越来越高,更难以被微生物所降解利用。

(2) 通过 PARAFAC 共分离出 5 种荧光组分,3 种为类蛋白组分 (C1、C2、C5),两种为类腐植酸组分 (C3、C4)。利用 PCA 对 PARAFAC 的结果进一步判断得出 C1、C2、C5 与主成分 1 明显正相关,C3、C4 与主成分 2 明显正相关。按照腐解时间顺序,腐解初期类蛋白组分在 DOM 样品中占据主导地位;腐解中期 DOM 样品受类蛋白与类腐植酸组分共同作用,腐解后期腐植酸物质占主导地位,并随着腐解时间的增加逐渐进入矿化阶段。

参考文献 (References):

- [1] Sooknah R D, Wilkie A C. Nutrient removal by floating aquatic macrophytes cultured in anaerobically digested flushed dairy manure wastewater. *Ecological Engineering*, 2004, 22(1): 27-42.
- [2] 秦伯强. 湖泊生态恢复的基本原理与实现. *生态学报*, 2007, 27(11): 4848-4858.
- [3] 潘慧云, 徐小花, 高士祥. 沉水植物衰亡过程中营养盐的释放过程及规律. *环境科学研究*, 2008, 21(1): 64-68.
- [4] 李文朝. 东太湖茭黄水发生原因与防治对策探讨. *湖泊科学*, 1997, 9(4): 364-368.
- [5] Zhang Y L, Liu X H, Wang M Z, Qin B Q. Compositional differences of chromophoric dissolved organic matter derived from phytoplankton and macrophytes. *Organic Geochemistry*, 2013, 55: 26-37.
- [6] Kwon B, Lee S, Cho J, Ahn H, Lee D, Shin H S. Biodegradability, DBP formation, and membrane fouling potential of natural organic matter: characterization and controllability. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39(3): 732-739.
- [7] Bonnie A L, Rose M C, Howard S W. Changes in dissolved organic matter fluorescence and disinfection byproduct formation from UV and subsequent chlorination/chloramination. *Journal of Hazardous Materials*, 2014, 264: 411-419.
- [8] 张璐璐, 刘静玲, 李毅. 白洋淀底栖动物群落特征与重金属潜在生态风险的相关性研究. *农业环境科学学报*, 2013, 32(3): 612-621.
- [9] Chen C Y, Pickhardt P C, Xu M Q, Folt C L. Mercury and arsenic bioaccumulation and eutrophication in Baiyangdian Lake, China. *Water, Air, and Soil Pollutant*, 2008, 190(1/4): 115-127.
- [10] Plaza C, Brunetti G, Senesi N, Polo A. Molecular and quantitative analysis of metal ion binding to humic acids from sewage sludge and sludge-amended soils by fluorescence spectroscopy. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(3): 917-923.
- [11] Ohno T. Fluorescence inner-filtering correction for determining the humification index of dissolved organic matter. *Environmental Science & Technology*, 2002, 36(4): 742-746.
- [12] Baker A, Curry M. Fluorescence of leachates from three contrasting landfills. *Water Research*, 2004, 38(10): 2605-2613.
- [13] Hudson N, Baker A, Reynolds D. Fluorescence analysis of dissolved organic matter in natural, waste and polluted waters - a review. *River Research and Applications*, 2007, 23(6): 631-649.
- [14] Stedmon C A, Markager S. Resolving the variability in dissolved organic matter fluorescence in a temperate estuary and its catchment using

- PARAFAC analysis. *Limnology and Oceanography*, 2005, 50(2): 686-697.
- [15] Stedmon C A, Markager S. Tracing the production and degradation of autochthonous fractions of dissolved organic matter by fluorescence analysis. *Limnology and Oceanography*, 2005, 50(5): 1415-1426.
- [16] Yao X, Zhang Y L, Zhu G W, Qin B Q, Feng L Q, Cai L L, Gao G. Resolving the variability of CDOM fluorescence to differentiate the sources and fate of DOM in Lake Taihu and its tributaries. *Chemosphere*, 2011, 82(2): 145-155.
- [17] Smilde A, Bro R, Geladi P. *Multi-Way Analysis: Applications in the Chemical Sciences*. Chichester: Wiley, 2004.
- [18] Lyes L, Victor A, Thierry A. PARAFAC analysis of front-face fluorescence data: Absorption and scattering effects assessed by means of Monte Carlo simulations. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 2012, 116: 112-122.
- [19] Shao Z H, He P J, Zhang D Q, Shao L M. Characterization of water-extractable organic matter during the biostabilization of municipal solid waste. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 164(2-3): 1191-1197.
- [20] He X S, Xi B D, Wei Z M, Guo X J, Li M X, An D, Liu H L. Spectroscopic characterization of water extractable organic matter during composting of municipal solid waste. *Chemosphere*, 2011, 82(4): 541-548.
- [21] Nishijima W, Speitel G E Jr. Fate of biodegradable dissolved organic carbon produced by ozonation on biological activated carbon. *Chemosphere*, 2004, 56(2): 113-119.
- [22] 李翠兰, 张晋京, 窦森, 任志成. 玉米秸秆分解期间土壤腐殖质数量动态变化的研究. *吉林农业大学学报*, 2009, 31(6): 729-732.
- [23] Yuan D H, He L S, Xi B D, Yan C L, Zhang L Y, Huo S L, Liu H L. Characterization of Natural Organic Matter (NOM) in waters and sediment pore waters from Lake Baiyangdian, China. *Fresenius Environmental Bulletin*, 2011, 20(4A): 1027-1035.
- [24] Huguet A, Vacher L, Relexans S, Froidefond J M, Parlanti E. Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary. *Organic Geochemistry*, 2009, 40(6): 706-719.
- [25] Fialho L L, da Silva W T L, Milori D M B P, Simões M L, Martin-Neto L. Characterization of organic matter from composting of different residues by physicochemical and spectroscopic methods. *Bioresource Technology*, 2010, 101(6): 1927-1934.
- [26] Kang K H, Shin H S, Park H. Characterization of humic substances present in landfill leachates with different landfill ages and its implications. *Water Research*, 2002, 36(16): 4023-4032.
- [27] Kumke M U, Specht C H, Brinkmann T, Frimmel F H. Alkaline hydrolysis of humic substances—spectroscopic and chromatographic investigations. *Chemosphere*, 2001, 45(6/7): 1023-1031.
- [28] Fellman J B, Hood E, Spencer R G M. Fluorescence spectroscopy opens new windows into dissolved organic matter dynamics in freshwater ecosystems; A review. *Limnology and Oceanography*, 2010, 55(6): 2452-2462.
- [29] Coble P G. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. *Marine Chemistry*, 1996, 51(4): 325-346.
- [30] Williams C J, Yamashita Y, Wilson H F, Jaffé R, Xenopoulos M A. Unraveling the role of land use and microbial activity in shaping dissolved organic matter characteristics in stream ecosystems. *Limnology and Oceanography*, 2010, 55(3): 1159-1171.
- [31] Cory R M, McKnight D M. Fluorescence spectroscopy reveals ubiquitous presence of oxidized and reduced quinones in dissolved organic matter. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39(21): 8142-8149.
- [32] Stedmon C A, Bro R. Characterizing dissolved organic matter fluorescence with parallel factor analysis; a tutorial. *Limnology and Oceanography: Methods*, 2008, 6(11): 572-579.
- [33] Stedmon C A, Markager S, Bro R. Tracing dissolved organic matter in aquatic environments using a new approach to fluorescence spectroscopy. *Marine Chemistry*, 2003, 82(3/4): 239-254.
- [34] Guo W D, Yang L Y, Hong H S, Stedmon C A, Wang F L, Xu J, Xie Y Y. Assessing the dynamics of chromophoric dissolved organic matter in a subtropical estuary using parallel factor analysis. *Marine Chemistry*, 2011, 124(1/4): 125-133.
- [35] Guo X J, Yuan D H, Jiang J Y, Zhang H, Deng Y. Detection of dissolved organic matter in saline-alkali soils using synchronous fluorescence spectroscopy and principal component analysis. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2013, 104: 280-286.
- [36] Burdige D J, Kline S W, Chen W H. Fluorescent dissolved organic matter in marine sediment pore waters. *Marine Chemistry*, 2004, 89(1/4): 289-311.
- [37] Wang L Y, Wu F C, Zhang R Y, Li W, Liao H Q. Characterization of dissolved organic matter fractions from Lake Hongfeng, Southwestern China Plateau. *Journal of Environmental Sciences*, 2009, 21(5): 581-588.
- [38] 郭旭晶. 乌梁素海 DOM 光谱特性及其与金属离子相互作用的研究. 北京师范大学, 2010.