

溶解有机质的三维荧光光谱特征研究

傅平青^{1,2}, 刘丛强¹, 吴丰昌^{1*}

1. 中国科学院地球化学研究所环境地球化学国家重点实验室, 贵州 贵阳 550002
2. 中国科学院研究生院, 北京 100039

摘要 利用三维荧光光谱研究了河流、湖泊等不同来源溶解有机质(DOM)的荧光光谱特性。河流 DOM 的三维荧光光谱图中含有类富里酸荧光峰 A 和 C 以及类蛋白荧光峰 B 和 D, 一般而言, 类富里酸荧光峰强度比较大, 或者只有类富里酸荧光, 但是受人类活动污染河流 DOM 的三维荧光光谱图中具有极强的类蛋白荧光。同样, 红枫湖 DOM 可以由陆源输入, 还可以由水体内微生物活动产生, 具有 4 个荧光峰, 受人类活动影响比较显著的百花湖 DOM 则表现出强的类蛋白荧光。贵阳市地下水中 DOM 含量相对较低, 一般只含有类富里酸荧光峰, 但是若受生产生活污水污染, 也可检测出强的类蛋白荧光峰。考察 DOM 含量(以 DOC 表示)与类富里酸荧光强度(peak C)以及在 254 nm 处紫外吸收光谱强度的关系时发现它们都具有良好的线性相关关系($r^2 = 0.82$ 和 0.95), 而紫外区类富里酸荧光与可见区类富里酸荧光之间也存在良好的线性相关关系($r^2 = 0.96$)。此外, pH 对 DOM 的三维荧光光谱具有显著影响, 并且类富里酸荧光峰 A 和 C 的 pH 值效应基本一致, 荧光强度最大值出现在 pH 10 左右, 类蛋白荧光峰 B 的 pH 值效应与之略有区别, 荧光强度最大值出现 pH 8.5 左右。

关键词 溶解有机质; 腐殖质; 三维荧光光谱

中图分类号: O657.3; X132

文献标识码: A

文章编号: 1000-0593(2005)12-2024-05

引言

溶解有机质(dissolved organic matter, DOM)是指存在于各种天然水体中(如河流、湖泊、海洋、地下水、雨水等), 可以通过 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜的天然有机质混合物, 其组分包括腐殖酸、富里酸以及各种亲水性有机酸、羧酸、氨基酸、碳水化合物等^[1]。由于 DOM 在陆地和水生生态系统中扮演着重要角色, 越来越受到环境科学和地球科学家的关注^[1-6]。

自 1949 年 Kalle 开创性地利用荧光光谱表征有机质的物理化学特性以来, 人们利用各种荧光光谱技术研究海洋、河流、湖沼、土壤孔隙水、沉积物孔隙水等不同来源的 DOM^[1-7]。如固定激发光波长的荧光发射光谱, 固定发射光与激发光波长差 $\Delta\lambda$ ($\Delta\lambda = \lambda_{em} - \lambda_{ex}$) 同步荧光光谱以及三维荧光光谱等。我国对泥碳、煤或土壤腐殖质的常规荧光光谱和同步荧光光谱特征, 以及利用三维荧光光谱研究油气样品、商品腐殖酸等有一些报道^[8-11], 但对天然水体中 DOM 的荧光光谱特征, 尤其是三维荧光光谱特征的研究较少。相对于利用红外光谱、核磁共振、GC-MS 等其他方法研究 DOM, 三维荧光光谱具有高灵敏度、高选择性、高信息量、且不破

坏样品结构等优点^[2, 7, 11, 12]。本文拟通过三维荧光光谱技术研究和表征河流、湖泊、地下水等不同来源水体中 DOM 的荧光光谱特征及其 pH 值效应。

1 实验样品与仪器

红枫湖、百花湖 DOM 样品采于 2003 年 1 月, 南盘江、北盘江、南明河以及贵阳市地下水 DOM 样品采于 2003 年 7 月, 雅河 DOM 样品采于 2003 年 9 月, 小溪流 DOM 样品采于 2004 年 1 月。所有 DOM 样品采集运回实验室后立即用玻璃纤维滤膜(GF/F, Whatman, U.K., 预先于 $450 \text{ }^\circ\text{C}$ 灼烧 5 h)过滤, 保存在 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱里。化学试剂均为分析纯, 实验用水均为 Milli-Q 超纯水(Millipore, $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}^{-1}$)。

利用高温催化氧化法进行溶解有机碳(DOC)含量测定, 仪器为 High TOC II 分析仪(Elementar, Germany), 使用一系列不同浓度的邻苯二甲酸氢钾溶液作为有机碳标准。

三维荧光光谱测定在 Hitachi F-4500 型荧光光谱分析仪上进行。激发光源: 150-W 氙弧灯; PMT 电压: 700 V; 信噪比 > 110 ; 带通(Bandpass): $\text{Ex} = 5 \text{ nm}$, $\text{Em} = 10 \text{ nm}$; 响应时间: 自动; 扫描速度: $1200 \text{ nm} \cdot \text{min}^{-1}$; 扫描光谱进行仪器自

收稿日期: 2004-06-02, 修订日期: 2004-09-10

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目(2002CB412300), 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KZCX3-SW-140)资助

作者简介: 傅平青, 1974 年生, 中国科学院地球化学研究所环境地球化学专业博士研究生 * 通讯联系人

动校正。 $E_{ex} = 220 \sim 400 \text{ nm}$, $E_{em} = 250 \sim 500 \text{ nm}$ 。在 pH 值对 DOM 的三维荧光光谱影响实验中, 各移取 20 mL DOM 样品于 26 个 30 mL 玻璃瓶中, 使用两种浓度(0.1 和 1 mol·L⁻¹)的 HClO₄ 和 NaOH 溶液, 并采用 10 μL 色谱进样器(最小刻度 0.2 μL)调节样品 pH, 使其在 2~12 范围内, 样品 pH 间隔为 0.4~0.5 单位, 每个样品加入的酸碱试剂最多不超过 100 μL, 所以可以忽略浓度稀释效应。使用奥立龙 818 型 pH 计测定 pH 值(测定前均用 pH 4.00, 6.86, 9.18 标准缓冲溶液进行两点校正)。样品在装入 1 cm 石英荧光样品池测定前保持温度恒定[恒温水浴(20 ± 1)℃]。实验空白为 Milli-Q 超纯水。每次实验过程扫描 10 次, 利用 Milli-Q 超纯水的拉曼光谱强度监控荧光仪的稳定性, 没有发现明显的仪器误差。使用 SigmaPlot 2000(SPSS)软件进行三维荧光光谱图的

绘制。

2 结果与讨论

荧光光谱特性是表征天然水体中的 DOM 以及评估其来源的重要参数^[2]。传统的荧光发射光谱检测 DOM 时通常可观测到宽而无特征的荧光峰, 表明 DOM 是许多荧光基团的复杂混合物。同步荧光光谱能给出更多的结构和官能团信息, 但容易受到拉曼散射的影响。三维荧光光谱则可以检测到 DOM 中不同类型的荧光峰, 如类腐殖酸荧光(Humic-like), 类富里酸荧光(Fulvic-like)以及类蛋白荧光(Protein-like)等^[1,4]。

Table 1 Summary of dissolved inorganic carbon, dissolved organic carbon and spectrophotometric data

DOM samples	Carbon analysis/(mg·L ⁻¹)			Absorption/cm ⁻¹	Fluorescence intensity/arb					r(A, C)
	TC	DIC	DOC	A _{254 nm}	Flu A	Flu B	Flu C	Flu D	Flu E	
南明河 1	48.1	44.8	3.26	0.072	587.9	339.2	361.8	526.3	231.2	1.62
南明河 2	54.1	49.4	4.68	0.123	1 380	1 189	616.1	2 362	513.7	2.34
南明河 3	44.9	41.1	3.84	0.084	556.0	410.4	357.5	713.1	173.5	1.55
南明河 4	47.1	44.2	2.89	0.062	809.3	453.4	389.4	988.4	399.6	2.08
雅河	40.4	37.6	2.77	0.042	-	871.4	-	4 063	-	-
南盘江	36.2	35.0	1.19	0.017	252.5	-	121.1	154.9	-	2.09
北盘江	32.3	31.4	0.86	0.013	199.3	-	87.49	129.4	-	2.28
小溪流 1	0.83	0.24	0.59	0.007	74.97	-	32.64	-	-	2.30
小溪流 2	1.05	0.44	0.61	0.008	80.85	-	41.32	-	-	1.96
小溪流 3	2.70	1.49	1.21	0.018	155.8	-	96.06	129.9	84.83	1.62
小溪流 4	1.46	0.66	0.80	0.013	115.9	-	61.17	71.52	-	1.89
地下水 1	65.0	64.3	0.66	0.008	130.5	-	54.47	110.4	62.75	2.40
地下水 2	65.0	64.1	0.85	0.019	259.5	-	86.67	224.4	-	2.99
地下水 3	54.4	53.8	0.56	0.007	123.2	-	48.04	104.0	-	2.56
地下水 4	54.3	53.7	0.64	0.010	157.4	103.1	68.93	261.4	-	2.28
红枫湖 1	22.8	20.6	2.18	0.034	229.7	-	125.8	-	-	1.83
红枫湖 2	26.0	23.9	2.08	0.034	226.9	-	115.1	-	-	1.97
红枫湖 3	27.1	25.0	2.06	0.033	235.7	-	131.3	-	-	1.80
红枫湖 4	27.9	25.9	1.97	0.031	230.3	-	130.6	-	-	1.76
百花湖 1	26.9	24.8	2.06	0.032	234.0	108.1	125.2	234.8	-	1.87
百花湖 2	27.2	25.0	2.21	0.036	236.0	102.6	128.3	238.8	-	1.84
百花湖 3	27.4	25.2	2.19	0.036	223.4	102.6	126.1	226.8	-	1.77
百花湖 4	26.9	24.6	2.32	0.039	233.9	112.8	133.1	252.4	-	1.7

图 1 所示为几种不同来源 DOM 的三维荧光光谱图。荧光峰 A, C 属于类富里酸荧光, 被认为与腐殖质结构中的羰基和羧基有关, 其中荧光峰 A 称为紫外区类富里酸荧光($E_{ex}/E_{em} = 235 \sim 255 \text{ nm}/320 \sim 350 \text{ nm}$), 荧光峰 C 为可见区类富里酸荧光($E_{ex}/E_{em} = 310 \sim 330 \text{ nm}/410 \sim 450 \text{ nm}$)^[1, 2, 5, 11]。荧光峰 B 属于类蛋白荧光, 与 DOM 中的芳环氨基酸结构有关。一般认为荧光峰 B 可分为类色氨酸荧光(tryptophan-like, $E_{ex}/E_{em} = 270 \sim 290 \text{ nm}/320 \sim 350 \text{ nm}$)和类酪氨酸荧光(tyrosine-like, $E_{ex}/E_{em} = 270 \sim 290 \text{ nm}/300 \sim 320 \text{ nm}$)^[1, 2], 在河流、海洋 DOM 中都有这类荧光峰出现。荧光峰 D 和 E 也被认为与微生物降解产生的类蛋白质物质有关^[6]。

从图 1 及表 1 可以看出天然水体中不同来源 DOM 的三维荧光光谱特征差异。南盘江、北盘江 DOM 的三维荧光光谱图中基本上可分辨出 4 个荧光峰, 并且紫外区的荧光峰 A, D 强于可见区的荧光峰 B, C。对照受工农业和城市生产生活污水污染的贵阳市南明河 DOM 的三维荧光光谱图, 可以明显发现, 其类蛋白荧光强度非常高。Baker 等^[4]研究也表明, 受工业废水污染的河流中 DOM 的类蛋白荧光显著增强。同样, 流经某居民生活区的雅河中 DOM 的三维荧光光谱图中, 发现荧光峰 B 和 D 极强, 类富里酸荧光则几乎观察不到。而采自浙江磐安某小溪流, 由于此溪流是东阳江水库上游支流的发源地, 水质清澈, 未受工农业生产污染, 4 个采样点的三维荧光光谱图中各种有机质的荧光峰都有体现,

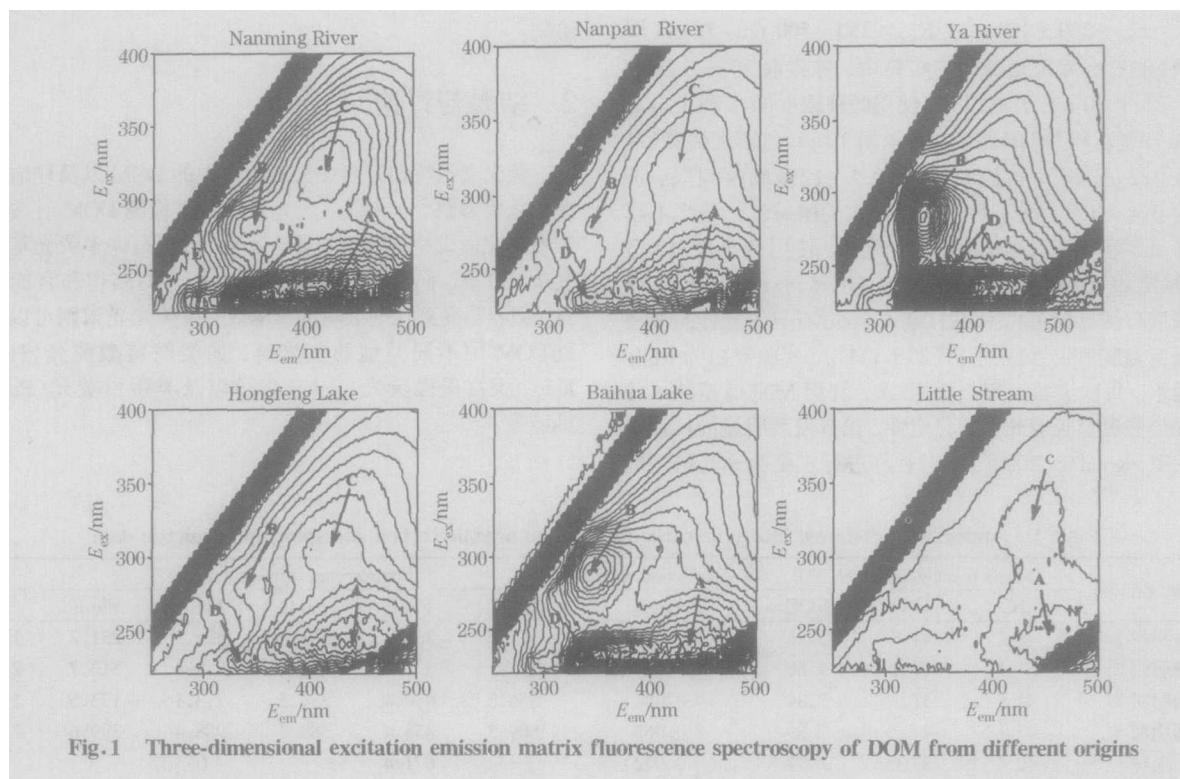


Fig. 1 Three-dimensional excitation emission matrix fluorescence spectroscopy of DOM from different origins

但是强度偏弱,从表 1 可知其 DOC 含量很低,而溶解无机碳(DIC)含量也比西部喀斯特地区河流、湖泊中低很多(表 1 中 TC 为总碳)。

红枫湖中 DOM 的三维荧光光谱图中,荧光峰 A 和 C 比较明显,而类蛋白荧光峰 B 和 D 相对较弱,说明红枫湖 DOM 的来源以陆源有机质为主,而由湖泊微生物产生的有机质比较少。百花湖 DOM 则表现出强类蛋白荧光。由于百花湖位于红枫湖下游,从红枫湖流经百花湖途中纳入许多工农业废水,同时微生物活动增强,使得其 DOM 中含有更多的类蛋白质。

从上面的分析可知,河流 DOM 基本上以陆源类腐殖酸荧光峰为主,表现在三维荧光光谱图中,荧光峰 A, C 或 E 相对较强,而受污染河流则表现出强的类蛋白荧光;不同湖泊 DOM 由于其来源可以是陆源有机质或湖泊水体内部微生物活动所致,或者也受到污染,表现出强的类蛋白荧光。

紫外区类富里酸荧光强度与可见区类富里酸荧光强度比值 $r_{(A,C)} (= I_A/I_C)$ 是一个与有机质结构和成熟度有关的指标,并且与有机质的分子大小、溶液 pH 等有关^[2, 11]。 $r_{(A,C)}$ 值的变化直接说明了在 DOM 中,至少含有两种类型的富里酸荧光基团,如果只含有一种基团,则 $r_{(A,C)}$ 应该为一定值^[2, 3]。从表 1 可知,不同来源 DOM 的 $r_{(A,C)}$ 值相差显著。红枫湖和百花湖 DOM 的 $r_{(A,C)}$ 值分布在 1.76~1.97 之间,地下水 DOM 的 $r_{(A,C)}$ 值分布在 2.28~2.99 之间,本研究中的河流由于受污染程度相差显著,其 DOM 的 $r_{(A,C)}$ 值分布范围较宽,在 1.55~2.30 之间。Coble 的研究^[2]中,河流 DOM 的 $r_{(A,C)}$ 平均值为 1.08, CuiCui 湖的 $r_{(A,C)}$ 值为 1.26。

通常,人们利用紫外-可见吸收光谱来检测天然水体中

的溶解有机碳含量。本研究的确发现,即使不同来源的 DOM,其 DOC 含量与 254 nm 处的吸光度值之间也具有良好的线性相关关系(见图 2)。而 DOM 的荧光强度与 DOC 中的荧光有机质部分有关,一般而言,天然水体 DOC 中荧光物质含量在 40%~60% 织间^[4]。考察溶解有机质的荧光强度与 DOC 之间的关系时发现,尽管 DOM 的来源不同,DOC 与可见区类富里酸荧光强度(Peak C)之间还是具有良好的相关关系(见图 3)。Smart 等^[13]研究了来自喀斯特温泉、土壤水、农业污水以及海水等 24 个不同来源的 DOM 样品,其荧光强度与溶解有机碳之间的相关系数达 0.98。但 Senesi^[14]指出,同一荧光峰的荧光强度与有机质浓度之间似乎有正相关关系,但不是线性关系。Chen 等^[15]的实验结果也显示,某些海洋 DOM 样品的荧光强度与 DOC 之间的相关性也不好,不过荧光强度与 337 nm 处吸光度值的线性相关系数可达 0.93。总体而言,DOM 的荧光光谱强度受到水体许多物理化学因素

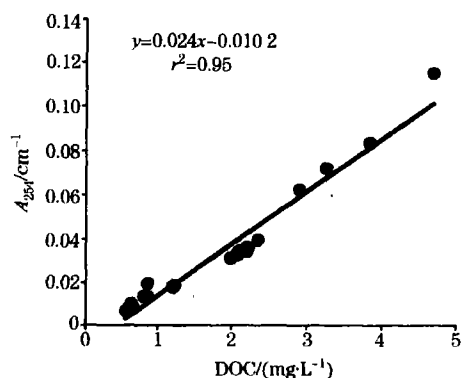


Fig. 2 Correlation between DOC concentrations and A_{254} of DOM from different origins

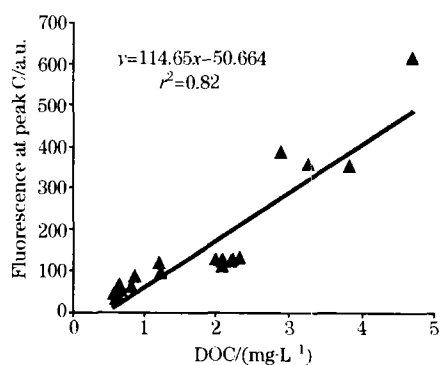


Fig.3 Relationship between DOC concentrations and fluorescence intensity at peak C of DOM from different origins

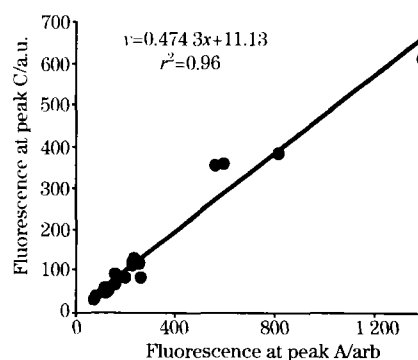


Fig.4 Correlation between fluorescence at peak A and peak C of the DOM samples

的影响,如 DOM 浓度(以 DOC 表示)、温度、pH、水体所含金属离子的类型和浓度、以及 DOM 组分中腐殖酸、富里酸、蛋白类物质以及一些非荧光物质在不同来源 DOM 中所占比例不同,从而导致不同研究者对不同来源 DOM 的荧光强度与 DOC 之间相关性结论存在差异。

图 4 表明,尽管本研究中 DOM 样品来源不同,南明河 DOM 的荧光强度最高,而地下水和小溪流 DOM 的荧光强度最低,并且如前所述,本研究中不同来源 DOM 的 $r_{(A,C)}$ 值不同,分布范围较宽,但是紫外区类富里酸荧光峰强度(Peak A)与可见区类富里酸荧光峰强度(Peak C)之间仍然具有良好的线性相关关系。可是欲解析 DOM 的这种光谱学行为尚存困难。Baker 等^[16]在研究垃圾渗滤液 DOM 的三维荧光光谱时,同样发现了这种线性关系。他们在实验室里的模拟有机质的研究表明,紫外区类富里酸荧光主要是由于一些低分子量、高荧光效率的有机物质(如萘)所引起,而可见区类富里酸荧光则是由相对稳定、高分子量的芳香性类富里酸物质所产生,但是也无法合理解释渗滤液中 DOM 的这种光谱学行为。

另外,我们以南明河 DOM 为例,考察三维荧光光谱图中不同荧光峰强度与 pH 值的关系。从图 5 可以发现, pH 对 DOM 不同组分的荧光峰强度都有影响,并且荧光峰 A 和荧光峰 C 的变化趋势趋于一致,从 pH 2.0~10 范围内,随着 pH 的增高荧光强度总体上也呈增大趋势,其中 pH 3.5~7.0

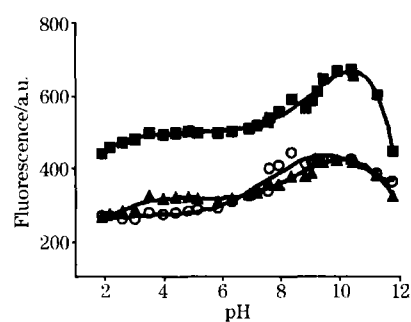


Fig.5 Influence of pH on the fluorescence intensity of DOM in Naming River
■, peak A; ○, peak B; ▲, peak C

范围内荧光强度变化不大。俞天智等^[9]利用同步荧光光谱研究 pH 对土壤胡敏酸的影响时也指出, pH 值在 5.3~7.9 范围内荧光强度基本保持不变。南明河 DOM 的类富里酸荧光强度最大值出现在 pH 10 左右,当 pH 大于 10 时荧光强度急剧下降。而类蛋白荧光峰 B 随 pH 的变化趋势与类富里酸荧光峰基本相同,只是在上述酸性范围内其变化更趋于平缓,荧光强度最大值出现在 pH 8.5 左右。

致谢: 采样及实验过程中得到傅生进老师、赵志琦博士、黄荣贵高工、傅晓帆硕士、王立英硕士等的帮助,在此深表谢忱。

参 考 文 献

- [1] Leenheer J A, et al. *Environmental Science and Technology*, 2003, 37(1): 19A.
- [2] Coble P G. *Marine Chemistry*, 1996, 51(4): 325.
- [3] Coble P G, et al. *Nature*, 1990, 348: 432.
- [4] Baker A. *Environmental Science and Technology*, 2001, 35(5): 948.
- [5] Wu F C, et al. *Environmental Science and Technology*, 2001, 35(18): 3646.
- [6] Chen W, et al. *Environmental Science and Technology*, 2003, 37(24): 5701.
- [7] Alberts J J, et al. *Organic Geochemistry*, 2004, 35(3): 243.
- [8] ZHONG Jian-hua(钟建华). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 1997, 17(4): 100.
- [9] YU Tian-zhi, TENG Xiu-lan, DU Jin-zhou, TAO Zu-yi(俞天智, 滕秀兰, 杜金州, 陶祖贻). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 1998, 18(6): 746.
- [10] SONG Ji-mei, TANG Bi-lian(宋继梅, 唐碧莲). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2000, 20(1): 115.
- [11] FU Ping-qing, et al(傅平青, 等). *Geochimica(地球化学)*, 2004, 33(3): 301.
- [12] YAN Yuan, et al(鄢 远, 等). *Chinese Science Bulletin(科学通报)*, 1997, 42(7): 714.
- [13] Smart P L, et al. *Water Research*, 1976, 10(9): 805.
- [14] Senesi N. *Analytica Chimica Acta*, 1990, 232(1): 77.
- [15] Chen R F, et al. *Deep-Sea Research II*, 2002, 49(20): 4439.
- [16] Baker A, et al. *Water Research*, 2004, 38(10): 2605.

Three-Dimensional Excitation Emission Matrix Fluorescence Spectroscopic Characterization of Dissolved Organic Matter

FU Ping-qing^{1, 2}, LIU Cong-qiang¹, WU Feng-chang^{1*}

1. The State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, the Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China
2. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China

Abstract Three-dimensional excitation emission matrix fluorescence spectroscopy (3DEEM) was applied to characterize the fluorescence properties of dissolved organic matter (DOM) in lakes, rivers, streams, and ground waters. The results showed that the 3DEEM of DOM in aquatic environments mainly have four fluorescence peaks: peak A and C was referred to as fulvic-like fluorescence, and peak B and D was referred to as protein-like fluorescence. Results of river water DOM typically showed strong fulvic-like fluorescence. Polluted river waters often showed strong protein-like fluorescence. Four peaks were also found in the 3DEEM of lake DOM, which can origin from terrestrial runoff or from sources within the lakes. In Lake Baihua, strong protein-like fluorescence was found owing to the pollution by municipal wastewaters. Groundwater DOM has relatively lower DOC concentrations at 0.56-0.85 mg·L⁻¹ and is characterized by fulvic-like fluorescence only if it was polluted by municipal wastewaters, and then it has strong protein-like fluorescence. The authors demonstrate that for all DOM samples, fluorescence intensity at peak C and absorption at 254 nm both showed a strong correlation with DOC concentrations ($r^2 = 0.82$ and 0.95 , respectively). Also a strong linear correlation between UV-fulvic-like fluorescence and visible fulvic-like fluorescence was found ($r^2 = 0.96$). The fulvic-like fluorescence at peak A and C varied in accordance to each other with the pH of the DOM samples, and the maximum fluorescence occurred at pH 10, while the maximum value of protein-like fluorescence (peak B) occurred at pH around 8.5.

Keywords Dissolved organic matter; Humic substances; Three-dimensional excitation emission matrix fluorescence spectroscopy

(Received Jun. 2, 2004; accepted Sep. 10, 2004)

* Corresponding author