

## 洱海沉积物孔隙水中溶解有机质的三维荧光光谱特征\*

傅平青<sup>①②</sup> 刘丛强<sup>①</sup> 吴丰昌<sup>①</sup>  
魏中青<sup>①②</sup> 黎文<sup>①②</sup> 梅毅<sup>①②</sup> 黄荣贵<sup>①</sup>

(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, 贵阳 550002; ②中国科学院研究生院, 北京 100039)

**摘要** 文章应用三维荧光光谱技术对洱海沉积物孔隙水中的溶解有机质进行了研究。结果表明,所有样品均含有 4 个明显的荧光峰,其中 A 和 C 为类腐殖酸荧光, B 和 D 为类蛋白荧光。荧光强度在沉积物-水界面特别强,在 1cm 处急剧下降,之后随着沉积深度呈上升趋势。孔隙水溶解有机质均具有强的类蛋白荧光,揭示了溶解有机质中含有大量色氨酸、酪氨酸等芳环结构的类蛋白质,并且在早期成岩过程中随着沉积深度呈积累趋势;类蛋白荧光与类腐殖酸荧光之间具有一定的相关关系, $r(A, C)$  值在 0.94~1.79 之间,随着沉积深度逐渐下降, $r(D, B)$  值在 0.90~1.75 之间,与  $r(A, C)$  值极为接近,且随着沉积深度有着类似的变化趋势,说明在洱海沉积物孔隙水中, $r(D, B)$  与  $r(A, C)$  之间具有一定的相关性。

**主题词** 溶解有机质 沉积物孔隙水 三维荧光光谱 洱海

**中图分类号** O657.3, X132 **文献标识码** A

## 1 引言

在湖泊生态系统中,普遍存在着溶解有机质(dissolved organic matter, 简称 DOM),它在湖泊各种物理、化学和生物过程中都扮演着重要角色<sup>[1-4]</sup>。沉积物孔隙水是沉积物与其上覆水体之间进行物质交换的重要介质,目前,人们对沉积物孔隙水中重金属或营养元素的地球化学行为进行了广泛研究<sup>[5-8]</sup>,取得重要进展。可是人们对孔隙水中的 DOM 知之甚少,其主要原因是由于 DOM 本身的结构和化学组成非常复杂,目前还缺乏很好的手段来描述和表征它们。DOM 能够与营养元素或痕量重金属离子相互作用,影响这些物质在沉积物-水界面的迁移转化及其毒性和生物可利用性等<sup>[9]</sup>,因此有必要对沉积物孔隙水中 DOM 的物理化学特性进行研究。

荧光光谱技术被广泛用于表征海洋、河流、湖沼、土壤、洞穴滴水等不同来源的 DOM,如荧光发射光谱;固定波长差  $\Delta\lambda$ (18nm, 20nm, 40nm 或 60nm)的

同步荧光光谱(synchronous fluorescence spectroscopy, 简称 SFS);以及能够获得激发波长和发射波长同时变化的光谱信息的三维荧光光谱(three-dimensional excitation emission matrix fluorescence spectroscopy, 简称 3DEEM)等<sup>[2,4,10-15]</sup>。相对于其他仪器方法(如红外光谱、核磁共振、GC-MS 等),3DEEM 具有灵敏度高( $10^{-9}$ 数量级)、用量少(1~2ml)和不破坏样品结构等优点<sup>[11]</sup>。目前,人们对沉积物孔隙水 DOM 的 3DEEM 特性鲜有报道<sup>[4,11]</sup>。本文拟用 3DEEM 来研究和描述洱海沉积物孔隙水中 DOM 的荧光光谱特性,以期有助于理解 DOM 自身的和孔隙水中营养元素、痕量重金属等的地球化学行为,以及沉积物早期成岩过程中有机质的降解特征等。

## 2 样品与分析

### 2.1 样品采集与处理

洱海位于云南省大理市北郊,为滇西最大的断陷湖,属澜沧江水系。湖水面积 249.8km<sup>2</sup>,汇水面

第一作者简介:傅平青 男 29岁 博士 环境地球化学专业 E-mail:pqfu@mail.gyig.ac.cn

\* 国家重点基础研究发展规划项目(批准号:2002CB412300)和中国科学院知识创新工程重要方向项目(批准号:KZCX3-SW-140)资助  
2004-04-12 收稿,2004-08-11 收修稿

通讯作者:吴丰昌 E-mail:fcwu@skleg.ac.cn

积 2 470km<sup>2</sup>,湖水补给系数约为 10,湖泊长 42km,最大宽度 9km,平均水深 10.5m,最大水深 20.9m,库容约  $2.56 \times 10^9 \text{m}^3$ ,湖水寄宿时间约为 2.75 年。主要入湖河流为自北而南的弥苴河,其汇水面积占洱海总汇水面积的 54%,汇入洱海的水量占该湖总水补给量的 50% 以上。洱海经西洱河出水,最终汇入澜沧江<sup>[5,6,16]</sup>。沉积物孔隙水样品于 2003 年 10 月采自洱海中部深水区,采样点水深 18m。首先利用湖水采样器采取湖泊表层(0~1m)和底层(18m)两个水样,然后在同一位置利用沉积物-水界面采样装置采得沉积柱芯长 30cm,悬浮层未经扰动,界面水清澈透明。野外现场按照 1cm 间隔对沉积柱芯进行精细分样(编号为 0~29),装入 100ml 离心管,封口胶密封。室内使用冷冻离心机对沉积物样品离心分离 30min,转速 4 000r/min,倾出水立即用 0.45 $\mu\text{m}$  玻璃纤维滤膜(GF/F, Whatman, U.K.)(预先于 450 $^\circ\text{C}$  灼烧 5 小时)过滤,装入玻璃瓶内保存在 4 $^\circ\text{C}$  冰箱里。实验用水为 Milli-Q 超纯水(Millipore, 18.2M $\Omega \cdot \text{cm}$ )。

## 2.2 三维荧光光谱测定

利用荧光光谱分析仪(Hitachi F-4500, Japan)进行 DOM 的三维荧光光谱测定,实验均在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完成。仪器参数如下,激发光源:150-W 氙弧灯;PMT 电压:700V;信噪比 > 110;带通(bandpass):Ex = 5nm, Em = 10nm;响应时间:自动;扫描速度:1 200nm/min;扫描光谱进行仪器自动校正。Ex = 220~400nm, Em = 250~550nm。样品在装入 1cm 石英荧光样品池测定前保持温度恒定(恒温水浴  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ )。空白为 Milli-Q 超纯水。实验过程中使用 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。利用 SigmaPlot 软件(SPSS)进行三维荧光光谱图像处理。

## 3 实验结果与讨论

应用三维荧光光谱技术研究 DOM 是基于其组分中含有大量带有各种低能量  $\pi \rightarrow \pi^*$  跃迁的芳香结构或共轭生色团以及未饱和和脂肪链。DOM 包含腐殖酸、富里酸以及一些各种亲水性有机酸、羧酸、氨基酸、碳水化合物等复杂组分<sup>[13,14,17]</sup>,其荧光特性包含了与结构、官能团、构型、非均质性、分子内与分子间的动力学特征等有关的信息。

洱海沉积物孔隙水 DOM 的 3DEEM 均出现 4 个明显的荧光峰(图 1)。Wu 等<sup>[9]</sup>和 Leenheer 等<sup>[13]</sup>对天然水体中 DOM 的 3DEEM 图中 Ex/Em 荧光峰位置进行了总结。一般而言,峰 A 为紫外区类腐殖酸荧光(UV humic-like),峰 C 为可见区类腐殖酸荧光(visible humic-like),两者与腐殖质中的碳基和羧基有关;峰 B 为类蛋白荧光(protein-like,可细分为 tryptophan-like 和 tyrosine-like),与芳环氨基酸结构有关<sup>[9]</sup>;对于荧光峰 D,由于过去研究 DOM 的 3DEEM 只从 Ex = 250nm 开始扫描,所以一直被忽略,最近 Chen 等<sup>[14]</sup>和 Burdige 等<sup>[18]</sup>指出,峰 D 所处位置的荧光峰也应该与类蛋白质物质有关。

结合图 1 和图 2 可以发现,不同荧光峰强度随沉积深度具有相同的变化趋势。总体上从 1~29cm 呈上升趋势,而在沉积物-水界面(0cm)其强度突然增强,这一现象与研究剖面的 DOC(溶解有机碳)含量变化趋势基本一致<sup>1)</sup>。由于洱海属于永久性含氧湖泊,在氧化条件下 DOC 向孔隙水扩散作用比较强,并且洱海北部深水区沉积物以粘土矿物为主,粒径小,比表面积大,因此 DOM 在沉积物-水界面富集。洱海沉积物孔隙水 DOM 的荧光发射光谱强度(Ex = 335nm)与 DOC 含量之间具有一定的线性相关关系<sup>1)</sup>。说明沉积物孔隙水 DOM 组分中腐殖酸、富里酸、类蛋白质物质等一些荧光物质在 DOC 中占的比例比较大。另外,随着沉积深度的增加,荧光强度总体上呈上升趋势,但在 6cm,14cm,22~24cm 等处存在次级峰(见图 2)。对此我们认为除了沉积效应以外,随着沉积深度的增加,生物和非生物还原作用增强,沉积物颗粒态有机质发生部分矿化作用,以及在还原条件下,Fe, Mn 等金属氧化物的分解作用导致了被其吸附的有机质的二次释放,造成孔隙水中 DOM 含量随深度呈上升趋势,并且在不同沉积深度,这些作用过程及其强度存在差异,因而导致上述次级峰的出现。

本文研究得到不同荧光峰之间的强度顺序依次是:A > C > D > B(见图 2)。尽管类腐殖酸荧光强度比类蛋白荧光强度略大,但是,相对于天然水体(如河流、湖泊、海洋)而言,沉积物孔隙水 DOM 的类蛋白荧光仍然很强。与之相反,洱海湖水中表层 1m 和底层 18m 处 DOM 的 3DEEM 类似,并且 3DEEM 中类蛋白荧光峰不是很明显(图 3)。Coble<sup>[11]</sup>以及 Burdige 等<sup>[18]</sup>在研究海洋沉积物孔隙水 DOM 的

1) 傅平青, 吴丰昌, 刘丛强. 洱海沉积物孔隙水中溶解有机质的地球化学特性. 水科学进展(待刊)

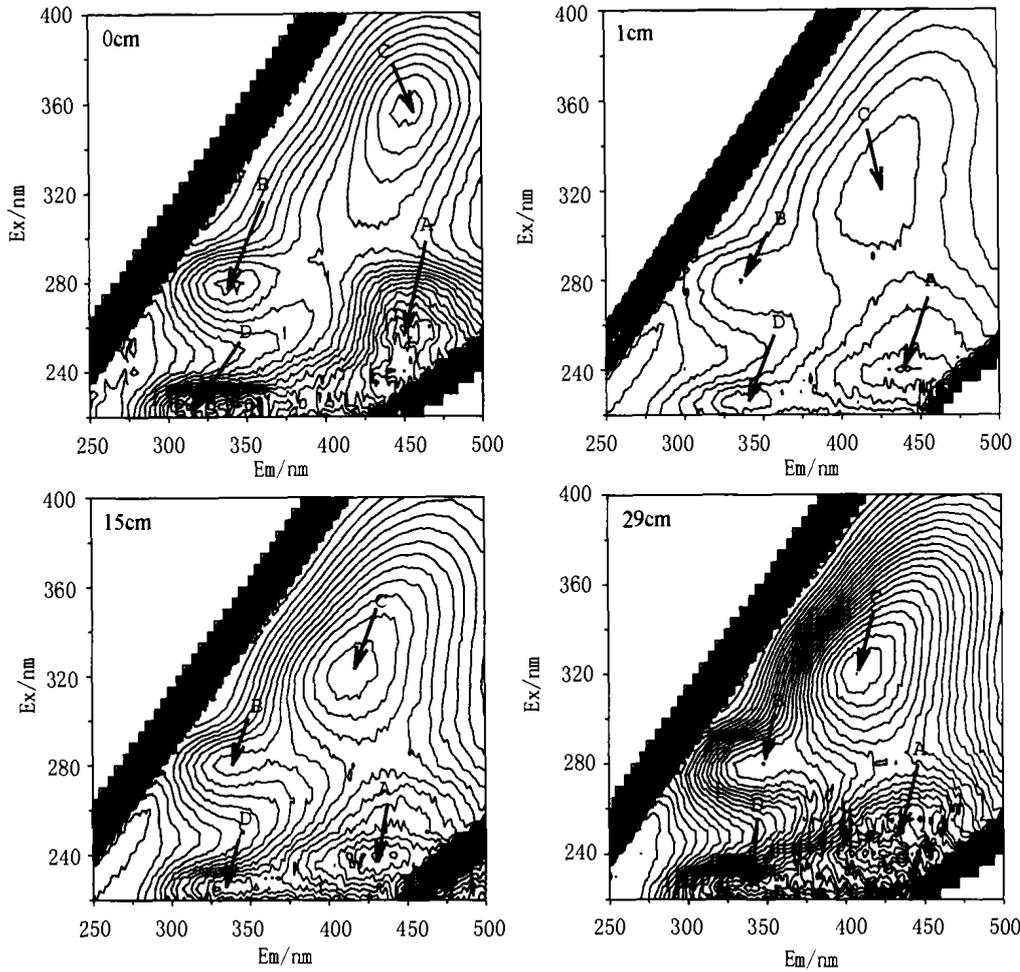


图 1 洱海沉积物孔隙水中 0, 1cm, 15cm 和 29cm 处 DOM 的三维荧光光谱  
其中 A, B, C, D 分别代表 4 个不同荧光峰

Fig. 1 3DEEMs of DOM in sediment pore water in Lake Erhai

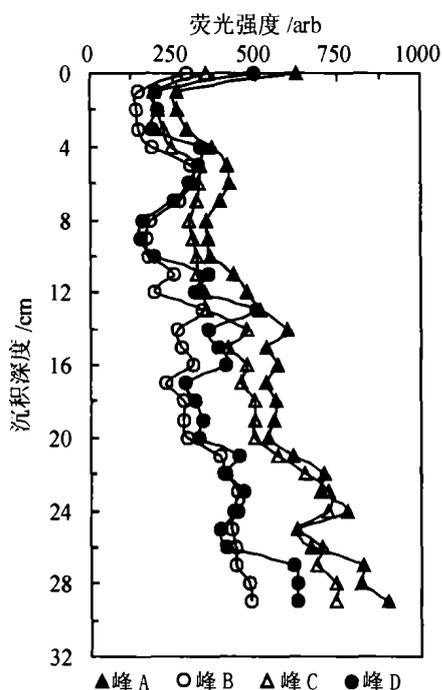


图 2 不同荧光峰强度的垂直分布情况

Fig. 2 Vertical distribution of different fluorescent peaks

3DEEM 时,也发现强的类蛋白荧光。由于进入湖泊沉积物的陆源生物、水生生物以及微生物残骸均含有大量蛋白质,微生物分泌的胞外酶和生物细胞残留的蛋白酶能够把蛋白质水解成氨基酸而进入沉积物孔隙水中,造成孔隙水 DOM 具有强的类蛋白荧光。梁小兵等<sup>[19]</sup>研究贵州百花湖和阿哈湖沉积物孔隙水中氨基酸的动态变化时发现,氨基酸含量随着沉积深度呈现积累趋势,其原因解释为在一定的沉积深度,微生物活动减弱导致氨基酸在湖泊沉积物中积累。对红枫湖沉积物有机质降解过程的研究也表明,表层 9cm 沉积物深度内微生物活动较为强烈,是微生物降解有机质的主要位置<sup>[20]</sup>。Wu 等<sup>[21]</sup>研究洱海沉积物中氨基酸的分布特征时发现,色氨酸在总水解态氨基酸 (THAA) 中的摩尔百分含量随着沉积深度具有增大趋势,而酪氨酸则表现出相反趋势。洱海孔隙水 DOM 的 3DEEM 中类蛋白荧光强度(荧光峰 B),随着沉积深度同样具有上升趋势(见图 2),说明类蛋白荧光主要由色氨酸所贡献。

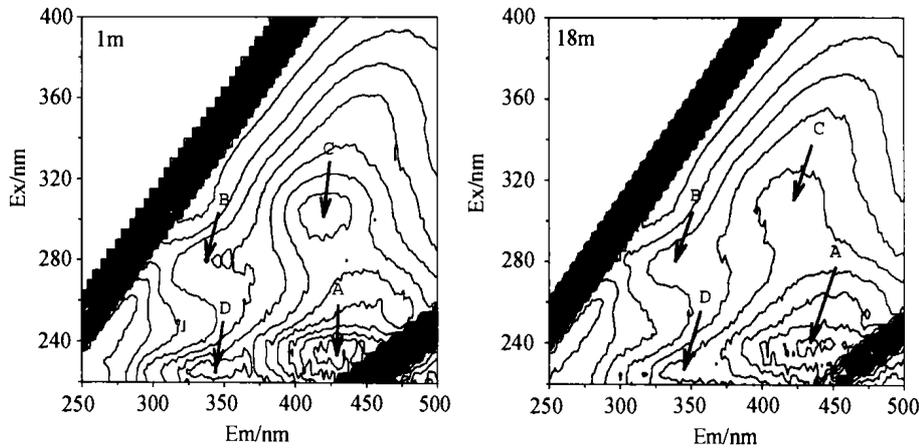


图3 洱海表层和底层湖水中 DOM 的三维荧光光谱

Fig.3 3DEEMs of dissolved organic matter in the surface and deep water of Lake Erhai

类蛋白荧光与类腐殖酸荧光之间具有一定的相关关系(图4),预示着洱海沉积物孔隙水 DOM 中的类蛋白物质与类腐殖酸物质可能有着相同的来源,或者两者的结构之间具有某种联系。并且,紫外区类腐殖酸荧光强度与可见区类腐殖酸荧光强度比值( $r$ )中  $r(B,C)$  在 0.54~0.96 之间(图5),而我们在研究受污染河流 DOM 的  $r(B,C)$  一般大于 1.5<sup>1)</sup>,说明类蛋白荧光并非受人类活动污染产生,而是如前所述,乃陆源和湖泊内部微生物残骸经分解作用而产生。

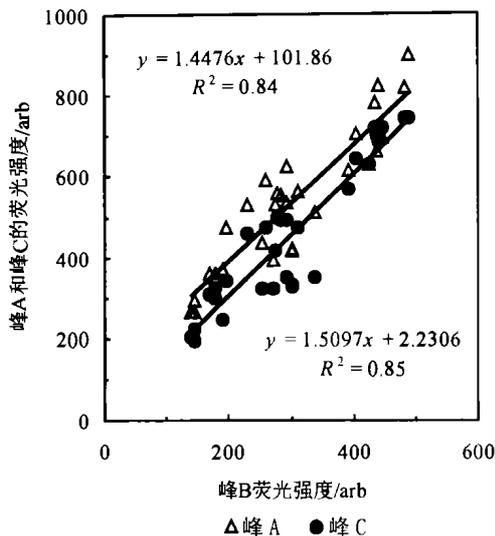


图4 类蛋白荧光(峰B)与类腐殖酸荧光之间的关系

Fig.4 Relationship between protein-like fluorescence and humic-like fluorescence

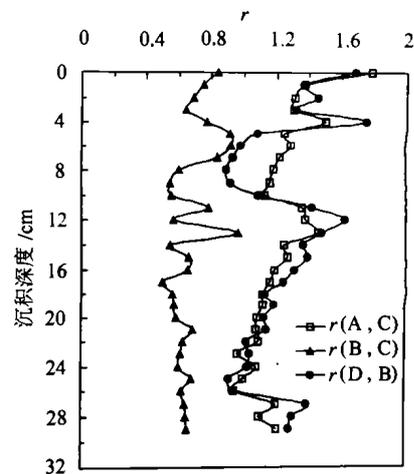


图5 不同荧光峰之间的比值  $r(B,C)$ ,  $r(A,C)$  和  $r(D,B)$  的垂直分布情况

Fig.5 Vertical distribution of  $r(B,C)$ ,  $r(A,C)$  and  $r(D,B)$

$r(A,C)$  是一个与有机质结构和成熟度有关的指标。洱海水体中 DOM 的  $r(A,C)$  值为 1.73, 沉积物孔隙水 DOM 的  $r(A,C)$  在 0.94~1.79 之间, 随着沉积深度逐渐下降(见图5)。 $r(A,C)$  值的变化说明了在 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。Coble<sup>[11]</sup> 的研究结果显示, 孔隙水的  $r(A,C)$  平均值为 0.77, CuiCui 湖的  $r(A,C)$  值为 1.26。这是因为  $r(A,C)$  值受有机质分子的大小、溶液 pH 值等因素影响<sup>[11]</sup>。

人们现在知道荧光峰 D 的产生也与芳环氨基酸有关<sup>[14]</sup>。在这里我们考察了荧光峰 D 与类蛋白

1) 傅平青, 吴丰昌, 刘丛强. 洱海沉积物孔隙水中溶解有机质的地球化学特性. 水科学进展 (待刊)

荧光峰 B 的比值  $r(D, B)$ , 结果显示,  $r(D, B)$  值在 0.90 ~ 1.75 之间, 与  $r(A, C)$  值极其接近(见图 5), 且随着沉积深度有着相同的变化趋势, 说明至少在沉积物孔隙水中,  $r(D, B)$  与  $r(A, C)$  有着类似的指示功能。并且,  $r(D, B)$  值的变化同样说明了在 DOM 中, 至少含有两种类型的类蛋白荧光基团, 若只有一种基团,  $r(D, B)$  也应该为一定值。

## 4 结语

本文应用三维荧光光谱技术研究洱海沉积物孔隙水中的 DOM, 得到以下认识:

(1) 沉积剖面所有 DOM 样品均含有 4 个荧光峰 A, B, C 和 D, 其中 A 和 C 为类腐殖酸荧光峰, B 和 D 为类蛋白荧光峰, 所有荧光峰的荧光强度在沉积物-水界面特别强, 在 1cm 处急剧下降, 之后随着沉积深度呈上升趋势。

(2) 孔隙水 DOM 表现出强的类蛋白荧光, 揭示了沉积物孔隙水中含有大量含有色氨酸、酪氨酸等芳环结构的类蛋白质, 并且随着沉积深度呈积累趋势。

(3) 类蛋白荧光与类腐殖酸荧光之间具有一定的相关关系, 预示着洱海沉积物孔隙水 DOM 中的类蛋白质与类腐殖酸物质可能有着相同的来源, 或者两者的结构之间具有某种联系。 $r(A, C)$  值在 0.94 ~ 1.79 之间, 随着沉积深度逐渐下降,  $r(D, B)$  值在 0.90 ~ 1.75 之间, 与  $r(A, C)$  值极为接近, 且随着沉积深度有着类似的变化趋势, 说明至少在沉积物孔隙水中,  $r(D, B)$  与  $r(A, C)$  之间具有一定的相关性。

**致谢** 3 位匿名审稿专家对本文的修改提出了许多宝贵的建议, 作者在此深表谢意。

## 参考文献 (References)

- Molot L A, Dillon P J. Photolytic regulation of dissolved organic carbon in northern lakes. *Global Biogeochemical Cycles*, 1997, 11(3): 357 ~ 365
- Wu F C, Tanoue E, Liu C Q. Fluorescence and amino acid characteristics of molecular size fractions of DOM in the waters of Lake Biwa. *Biogeochemistry*, 2003, 65: 245 ~ 257
- Laskov C, Amelung W, Peiffer S. Organic matter preservation in the sediment of and acidic mining lake. *Environmental Science & Technology*, 2002, 36(20): 4 218 ~ 4 223
- Wolfe A P, Kaushal S S, Fulton J R *et al.* Spectrofluorescence of sediment humic substances and historical changes of lacustrine organic matter provenance in response to atmospheric nutrient enrichment. *Environmental Science & Technology*, 2002, 36(15): 3 217 ~ 3 223
- 万国江, 白占国, 王浩然等. 洱海近代沉积物中碳-氮-硫-磷的地球化学记录. *地球化学*, 2000, 29(2): 189 ~ 197  
Wan Guojiang, Bai Zhanguo, Wang Haoran *et al.* The geochemical records of C-N-S-P in recent sediments of Lake Erhai, China. *Geochimica*, 2000, 29(2): 189 ~ 197
- 罗莎莎, 万国江, 黄荣贵. 云南洱海沉积物——水界面铁、锰的分布和迁移特征. *重庆环境科学*, 2000, 22(6): 19 ~ 21  
Luo Shasha, Wan Guojiang, Huang Ronggui. Characteristics of distribution and removal of Fe and Mn at the sediment-water interface of Erhai Lake, Yunnan Province. *Chongqing Environmental Sciences*, 2000, 22(6): 19 ~ 21
- 马英军, 万国江. 湖泊沉积物-水界面微量重金属扩散作用及其水质影响研究. *环境科学*, 1999, 20(2): 7 ~ 11  
Ma Yingjun, Wan Guojiang. Study on trace heavy metal diffusion at sediment-water interface and its effects on overlying lake water quality. *Environmental Science*, 1999, 20(2): 7 ~ 11
- Wu F, Qing H, Wan G. Regeneration of N, P and Si near the sediment/water interface of lakes from Southwestern China Plateau. *Water Research*, 2001, 35(5): 1 334 ~ 1 337
- Wu F C, Tanoue E. Isolation and partial characterization of dissolved copper-complexing ligands in streamwaters. *Environmental Science & Technology*, 2001, 35: 3 646 ~ 3 652
- Coble P G, Green S A, Blough N V *et al.* Characterization of dissolved organic matter in the Black Sea by fluorescence spectroscopy. *Nature*, 1990, 348(4): 432 ~ 435
- Coble P G. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. *Marine Chemistry*, 1996, 51: 325 ~ 346
- McKnight D M, Boyer E W, Westerhoff P K *et al.* Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic materials and aromaticity. *Limnology & Oceanography*, 2001, 46: 38 ~ 48
- Leenheer J A, Croué J P. Characterizing aquatic dissolved organic matter. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37(1): 19A ~ 26A
- Chen W, Westerhoff P, Leenheer J A *et al.* Fluorescence excitation-emission matrix regional integration to quantify spectra for dissolved organic matter. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37: 5 701 ~ 5 710
- 傅平青, 刘丛强, 尹祚莹等. 腐殖酸三维荧光光谱特性研究. *地球化学*, 2004, 33(3): 301 ~ 308  
Fu Pingqing, Liu Congqiang, Yin Zuoying *et al.* Characterization of humic acid by three-dimensional excitation emission matrix fluorescence spectroscopy. *Geochimica*, 2004, 33(3): 301 ~ 308
- 王苏民, 窦鸿身. 中国湖泊志. 北京: 科学出版社, 1998. 371 ~ 374  
Wang Sumin, Dou Hongshen. Chinese Lake Annals. Beijing: Science Press, 1998. 371 ~ 374
- Jaffé R, Boyer J N, Lu X *et al.* Source characterization of dissolved organic matter in a subtropical mangrove-dominated estuary by fluorescence analysis. *Marine Chemistry*, 2004, 84(1 ~ 4): 195 ~ 210
- Burdige D J, Kline S W, Chen W. Fluorescent dissolved organic matter in marine sediment pore waters. *Marine Chemistry*, 2004, 89: 289 ~

- 311  
19 梁小兵, 万国江, 黄荣贵等. 湖泊沉积物中蛋白质和氨基酸的动态变化. 矿物学报, 2001, 21(1): 59 ~ 63  
Liang Xiaobing, Wan Guojiang, Huang Ronggui *et al.* Dynamic study of protein and amino acids in lake sediments. *Acta Mineralogica Sinica*, 2001, 21(1): 59 ~ 63
- 20 梁小兵, 朱建明, 刘丛强等. 贵州红枫湖沉积物有机质的酶及微生物降解. 第四纪研究, 2003, 23(5): 565 ~ 572  
Liang Xiaobing, Zhu Jianming, Liu Congqiang *et al.* Enzymatic and microbial degradation of organic matter in Lake Hongfeng of Guizhou Province. *Quaternary Sciences*, 2003, 23(5): 565 ~ 572
- 21 Wu F C, Tanoue E. Tryptophan in the sediments of lakes from Southwestern China Plateau. *Chemical Geology*, 2002, 184(1 ~ 2): 139 ~ 149

### THREE-DIMENSIONAL EXCITATION EMISSION MATRIX FLUORESCENCE SPECTROSCOPIC CHARACTERIZATION OF DISSOLVED ORGANIC MATTER IN SEDIMENT PORE WATER IN LAKE ERHAI

Fu Pingqing<sup>①②</sup> Liu Congqiang<sup>①</sup> Wu Fengchang<sup>①</sup> Wei Zhongqing<sup>①②</sup> Li Wen<sup>①②</sup>  
Mei Yi<sup>①②</sup> Huang Ronggui<sup>①</sup>

(<sup>①</sup> State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002;

<sup>②</sup> Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039)

#### Abstract

Three-dimensional excitation emission matrix fluorescence spectroscopy (3DEEM) was used to investigate the fluorescence properties of dissolved organic matter (DOM) in sediment pore water in Lake Erhai. Of all the samples analyzed in this study, pore water DOM was found to contain four fluorescence peaks. Peak A and C represent humic-like fluorescence, whereas peak B and D represent protein-like fluorescence. The fluorescence intensity of these peaks were all strong at the sediment-water interface with a sharp decrease at the depth of 1 cm, then increased with depth. The strong protein-like fluorescence found in the sediment pore water DOM in lake Erhai indicated the existence of some protein-like substances that were released from sediment to pore water. Protein-like fluorescence increased with depth, suggesting that a conservative behavior during early diagenesis. The values of  $r(A, C)$  ranged 0.94 ~ 1.79,  $r(D, B)$  ranged 0.90 ~ 1.75. Both  $r(A, C)$  and  $r(D, B)$  decreased slightly with depth and their close values, suggesting a strong relationship between them for the DOM samples from sediment pore water in Lake Erhai.

**Key words** dissolved organic matter, sediment pore water, three-dimensional excitation emission matrix fluorescence spectroscopy (3DEEM), Lake Erhai