

红枫湖和百花湖天然溶解有机质的分子 荧光特征与分子量分布的关系

岳兰秀 吴丰昌* 刘丛强 黎文 傅平青 白英臣

王立英 尹昨莹 和吕志成

(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; 首钢工学院, 北京 100041.

* 联系人, E-mail: wufengchang@vip.skleg.cn)

摘要 由于在水体生态环境系统中的重要功能及化学组成和结构的复杂性,天然溶解有机质(Dissolved Organic Matter, DOM)是近年来水环境研究领域的热点和难点问题之一.分子荧光特征和分子量分布被广泛认为是 DOM 特征研究的重要参数,但是它们之间的关系尚不清楚.本文联合运用分子荧光光谱,高效液相体积排阻色谱、紫外吸收和荧光在线检测技术,研究了贵州红枫湖和百花湖及其河水中溶解有机质的分子荧光与分子量分布特征,及它们之间的关系.水体中 DOM 普遍存在两个明显的类腐殖荧光峰(A 和 B),但河水还存在另一个特征明显的类蛋白荧光峰(C).研究表明:类腐殖荧光物质主要由 1.0~3.0 kD 之间的小分子组分组成,而类蛋白荧光物质主要是一些分子量大于 2.0 kD 的组分组成.运用高效液相体积排阻色谱技术测定 DOM 分子量分布时,估算的分子量分布特征与吸收光谱检测器的波长选择有关.

关键词 高效液相体积排阻色谱 溶解有机质 分子量 紫外吸收 分子荧光光谱

天然水体中溶解有机质(Dissolved Organic Matter, 简称 DOM)是化学组成和结构十分复杂的有机混合物,来源于土壤和水环境中动植物残体.一般认为,DOM 主要由一些具有芳香结构和脂肪链碳氢化合物组成,含有氨基、羧基、羟基和硫醇基等化学官能团,分子量从几百到几万道尔顿(Dalton, 简称 Da)不等^[1].DOM 在水体生态环境中起着重要的作用,它可以和金属离子相结合而减小它们的生物有效性和对水生生物体的毒性^[2,3];同时 DOM 还可以与有机和无机污染物结合,增大它们在水中的溶解性和迁移转化能力^[4].在饮用水处理过程中,DOM 还可以形成有毒的消毒副产品,例如三氯甲烷的生成潜能主要与小到中等分子量的 DOM 有关^[5,6].

由于在水体生态环境系统中的重要作用及化学组成和结构的复杂性,DOM 是近年来水环境研究的热点和难点问题之一.分子荧光特征和分子量分布一直是 DOM 特征研究的重要参数^[7~10].测量 DOM 分子量的方法主要有超滤膜作用、流体流动技术、大气压渗透法、超速离心作用和凝胶渗透色谱等,这些方法各有优缺点.高效液相体积排阻色谱(High-Performance Size-Exclusion Chromatography, 简称 HPSEC)被广泛地应用于研究各种水环境中 DOM 分

子量分布特征^[11~17].HPSEC 具有许多优点,例如,不用对实验样品进行提取和提纯,可以同时测量 DOM 的重均(Weight-averaged Molecular Weight, 简称 M_w)和数均分子量(Number-averaged Molecular Weight, 简称 M_n),同时实验仪器稳定、操作简单、所用的样品量少等.应用于 HPSEC 技术的检测器主要包括在线 DOC 检测,可变紫外可见波长吸收检测器和荧光检测器.分子荧光光谱技术研究 DOM 是基于其组分中含有大量带有各种低能量 $\pi-\pi^*$ 跃迁的芳香结构或共轭生色团以及未饱和脂肪链.DOM 包含腐殖酸、富里酸以及各种亲水性有机酸、羧酸、氨基酸、碳水化合物等复杂组分,其荧光特性包含了与结构、官能团、构型、非均质性和分子量特征等有关的信息.荧光光谱技术被广泛用于表征海洋、河流、湖沼和土壤等不同来源的 DOM^[18~23],如荧光发射光谱;固定波长差的同步荧光光谱;以及能够获得激发波长和发射波长同时变化时光谱信息的三维荧光光谱(Three-dimensional Excitation/Emission Matrix Fluorescence Spectroscopy, 简称 3DEEM)等.相对于其他仪器方法(如核磁共振和 GC-MS 等),3DEEM 具有灵敏度高,用量少,不破坏样品结构和可以对天然水样进行直接测定等优点.

大量研究表明: DOM 分子量分布和荧光特征研究对于理解 DOM 本身的结构、来源及其生态环境效应有十分重要的价值^[7-10,19-23]。例如,絮凝作用和活性炭过滤过程对于有机物的去除效率和 DOM 分子量大小密切相关^[7-8];小分子量 DOM 的竞争吸附作用可以降低有机污染物的去除率^[9]。同时,大分子量的 DOM 与金属具有较强的络合能力,而小分子量组分与固体颗粒的吸附作用较快^[10]。Senesi 和 Miano 利用荧光光谱识别出同一来源中不同的富里酸和胡敏酸成分^[24,25]。荧光光谱还可以揭示不同类型荧光 DOM 的来源和化学结构特征^[19-23,26]。但是,不同荧光特征和分子量分布之间的内在关系仍不清楚。

本文主要选择云贵高原湖泊(红枫湖和百花湖)及其河流水体为研究对象,联合运用高效液相体积排阻色谱、紫外可见波长吸收和荧光在线检测及三维激发/发射荧光光谱,试图研究水体中 DOM 分子荧光与分子量分布特征,及它们之间的关系,讨论了 DOM 化学组成和结构特征。

1 样品及实验方法

1.1 样品采集

湖水样品主要采集于贵州近郊的红枫湖(HF)和百花湖(BH),两湖为贵州省主要的人工水库,也是贵阳市主要的饮用水和工农业灌溉用水水源。HF-S-0m, HF-N-0m, BH-1-0m 和 BH-2-0m 分别采于两湖湖心表层水的位置。河水样品采集于城市河流南明河,该河流经贵阳市区,由于城市生活污水和工业污水的进入,河水已经受到污染。河水从上游向下依次流经小河平桥(XHPQ)、湘雅村桥(XYQC)和水口寺(SHKS)。三个采样点分别为进城河段、市区河段和出城河段。所有样品的参数列于表 1。腐殖酸标准物质(HA)于 Fluka 公司购买。水样采集后马上用事先烧过(450 °C, 恒温 5 h)的玻璃纤维滤膜(Waterman,

GF/F)进行过滤,滤液主要储存在+4 的冰箱内供分析备用。

1.2 实验方法

DOM 三维荧光光谱图利用分子荧光光度仪(Hitachi, Model F-4500)获得。仪器参数如下,激发光源:150-W 氙弧灯;PMT 电压:700V;信噪比>110;激发和发射光带通都为 5 nm;响应时间:自动;扫描速度:1200 nm·min⁻¹;扫描光谱进行仪器自动校正;激发光波长为 220~400 nm,发射光波长为 250~550 nm。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 °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。

DOM 分子量的测定是在高效液相色谱仪(Hewlett Packard 1100)上进行的,HPSEC 系统主要由高压泵、在线紫外可变波长检测器和荧光检测器(1046A)组成,并配有 20 μL 进样阀的手动进样器(7725i)。该荧光检测器是一维荧光检测仪,可以设定特定的激发/发射波长。用于分离的色谱柱是二醇基柱(YMC 60, 6 mm i.d.×300 mm L),色谱柱内的填料为二醇基凝胶(silical diol, 粒径为 5 μm,孔径为 6.0 nm)。实验时柱温控制在 25 °C,流动相为磷酸盐缓冲液(pH 为 6.8, 0.03 mol/L NaCl, 0.001 mol/L NaH₂PO₄ 和 0.001 mol/L Na₂HPO₄),流速为 0.5 mL·min⁻¹。

用于校正样品分子量的标准物质选择目前比较公认的有机质分子量标准^[14-17]:聚苯乙烯磺酸钠(分子量分别为 210 Da, 1.4, 4.3, 6.8 kD)以及丙酮(58 Da),这些标准物质溶液用流动相配制,浓度为 100 mg·L⁻¹。标准分子量物质的 HPSEC 洗脱体积和分子量对数之间存在显著线性关系。根据线性关系就可以计算出同一实验条件下样品 DOM 在某个洗脱体积

表 1 湖泊和河流水样的水化学参数

样品	pH	DOC /mg·L ⁻¹	DO /mg·L ⁻¹	Cl ⁻ /mg·L ⁻¹	Si /mg·L ⁻¹	Chla /μg·L ⁻¹	NO ₂ ⁻ /mg·L ⁻¹	NO ₃ ⁻ /mg·L ⁻¹	H ₂ PO ₄ ⁻ /mg·L ⁻¹	NO ₄ ²⁻ /mg·L ⁻¹
XHPQ	8.36	3.94	6.10	35.6	6.75	22.6	0.168	0.55	0.26	127.0
XYCQ	8.21	3.25	3.68	23.3	5.23	16.4	0.145	2.75	-	116.0
SHKS	8.14	4.83	5.64	39.3	2.68	36.7	0.112	-	0.72	154.0
HF-S-0m	8.60	2.78	7.60	5.04	0.42	41.6	0.060	1.57	-	66.01
HF-N-0m	8.67	2.89	5.99	5.36	-	31.4	0.054	1.51	-	68.37
BH-1-0m	8.38	2.25	7.15	5.40	0.73	36.8	0.087	1.81	-	95.86
BH-2-0m	8.44	2.35	6.90	5.46	1.23	65.5	0.076	2.01	-	94.88

时的分子量,再根据(1)~(3)式就可以求出样品 DOM 平均分子量(M_w 和 M_n)以及多分散系数 r ^[13,14,17].

$$M_n = \sum_{i=1}^n h_i / \sum_{i=1}^n (h_i / M_i), \quad (1)$$

$$M_w = \sum_{i=1}^n (h_i * M_i) / \sum_{i=1}^n h_i, \quad (2)$$

$$r = \frac{M_w}{M_n}, \quad (3)$$

其中 n 表示检测器的相应次数, h_i 是洗脱体积为 i 时检测曲线的响应值, M_i 为洗脱体积为 i 的分子的分子量, M_w 为重均分子量, M_n 为数均分子量.

2 结果与讨论

2.1 DOM 三维荧光光谱特征

三维荧光光谱是在激发光谱和发射光谱同时扫描的条件下产生的一种三维光谱图. 图 1 为水体 DOM 的三维荧光特征. 由图可见, 湖水和河流 DOM 普遍存在两个明显的荧光峰 A 和 B: A 和 B 峰的发射波长都在可见光区内, 在 412~434 nm 之间; 激发波长都在紫外光范围内, 其中荧光峰 A 波长在 305~335 nm 之间, 而荧光峰 B 在 239~241 nm 之间. 荧光峰 A 和 B 与其他水环境中发现的腐殖物质荧光峰相似^[3,18], 称为类腐殖荧光. 荧光峰 A 在湖泊水中的位置相似, 大约为 310~314/416~417 nm; 而河水中荧光峰 A 的位置大约在 320~335/420~425 nm 之间. 与湖水 DOM 相比, 河水 DOM 还存在第三个特殊荧光峰 C, 其激发/发射光波长位于 E_x 278~281 nm/ E_m 334~353 nm 之间(图 1). 荧光峰 C 与前人报道的蛋白物质的荧光峰相似^[14,19,21,22], 可称为类蛋白荧光.

2.2 选择不同紫外吸收检测波长对 DOM 分子量估算的影响

图 2 为 XHPQ 的 DOM 和 HA 在不同紫外吸收波长(230, 254, 280, 300 和 350 nm)检测时的 HPSEC 色谱图. HA 的洗脱曲线是一个单峰, 在峰的两侧出现

一些小的次峰. XHPQ 的 DOM 的洗脱曲线表现出多个峰, 但是各个峰之间相互重叠. 这些色谱图与其他不同成因 DOM 的 HPSEC 图相似^[11,13]. 在不同的紫外吸收检测波长条件下, 同一样品的 HPSEC 色谱曲线都具有相似的形状. 但是 HPSEC 峰高随检测波长的增大而降低, 最高峰所在的洗脱体积也随着波长的增大而减小. 这些表明, 所测得 DOM 的分子量随选择的检测波长的增大而逐渐增大.

DOM 的紫外吸收主要与有机分子结构中的不饱和和共扼双键有关. 前人研究^[11,13]认为: 大分子量比小分子量的 DOM 有较高含量的芳香族和不饱和共扼双键结构, 因此也可能具有高的单位摩尔紫外吸收强度. 由于 DOM 的摩尔吸收率随波长的增大而减小^[17], 因此在相同的检测波长下, 大分子量 DOM 组分的吸收率比小分子量的要高, 随着波长的增大, 这种差别更加明显. 同时大分子量组分的紫外吸收比较明显, 而小分子量组分的紫外吸收比较弱, 在检测波长增大时, 一部分小分子量的组分表现出没有紫外吸收, 所以表现出, HPSEC 峰高向大分子量方向偏移. 测得的 XHPQ 的 DOM 和 HA 的平均分子量随波长的增大而增大(表 2). 其中 XHPQ 的 M_w 和 M_n 相对增大的幅度分别为 49.1% 和 52.5%, HA 的 M_w 和 M_n 相对增大的幅度分别为 12.5% 和 19.4%. 因此, 用 HPSEC 对比研究不同来源 DOM 分子量分布特征时, 必须选择相同的紫外吸收检测波长.

2.3 不同类型荧光物质的分子量分布特征

为了研究不同类型荧光物质的分子量分布特征, 我们运用 HPSEC、紫外吸收和荧光在线检测联用的方法, 试图研究 DOM 不同分子量组分的荧光特征. 图 3 为不同激发/发射波长时, 不同 DOM 分子量组分的 HPSEC 荧光色谱图, 其中, A, B 和 C 曲线表示分别以荧光峰 A, B 和 C 的激发/发射波长的 HPSEC 荧光洗脱曲线.

由图 3 可以看出, 类腐殖荧光物质(A 和 B)具有

表 2 不同吸收检测波长条件下 HPSEC 测定的 DOM 平均分子量和多分散系数(r)

波长/nm	XHPQ			HA		
	M_w /Da	M_n /Da	p	M_w /Da	M_n /Da	p
230	2318	2206	1.05	2354	1732	1.36
254	2085	1803	1.16	2513	1843	1.36
280	2091	1806	1.16	2501	1897	1.32
300	2179	1875	1.16	2545	1930	1.32
350	2174	1856	1.17	2662	2113	1.26

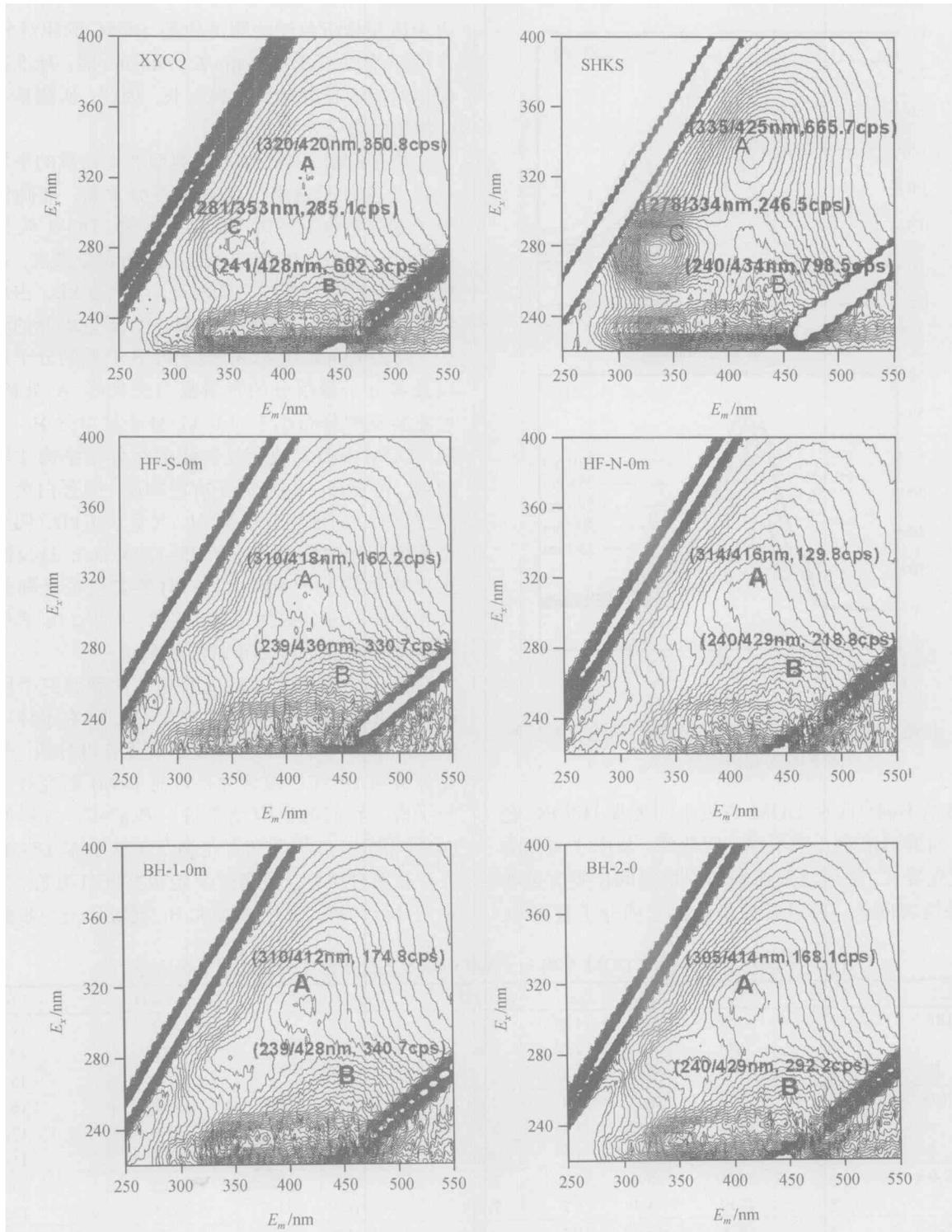


图 1 湖泊和河水中 DOM 的三维荧光光谱特征

相似的分子量分布. 荧光峰 A 物质的洗脱曲线含有 3~4 个主要的吸收峰, 与荧光峰 B 物质具有相似的洗脱性质. 这可能反映荧光峰 A 和 B 的物质分子量分

布相似. 同时它们的起始分子量和保留时间也不完全相同, 说明二者的分子量分布及平均分子量也不相同. 荧光峰 C 物质的分子量分布与类腐殖荧光物

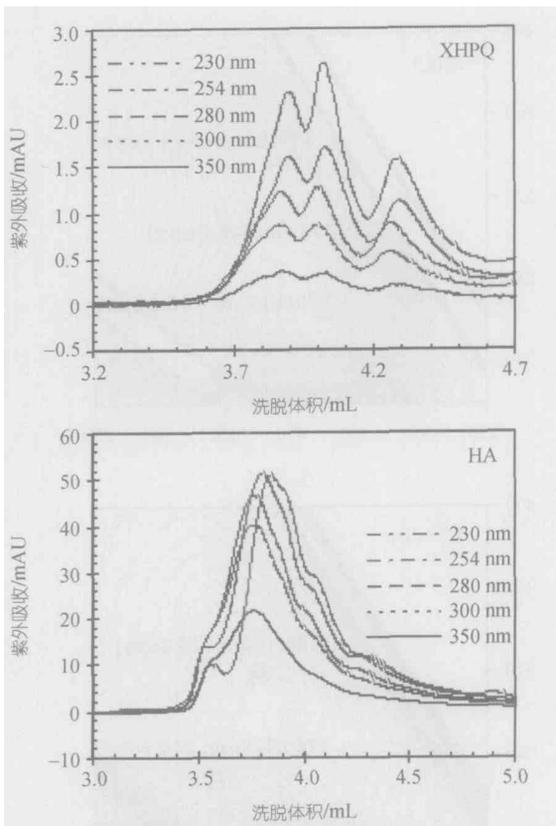


图2 小河平桥(XHPQ)和腐殖酸(HA)在不同检测波长条件下的洗脱曲线特征

质的截然不同: 河水 DOM 有较小的吸收 HPSEC 色谱图, 而湖泊水中几乎不存在吸收峰. 从图 3 可以看出, 荧光峰 C 物质洗脱曲线的保留时间比类腐殖物质的保留时间长, 所以其分子量比它的分子量要小.

由于体积排阻色谱法测得的是 DOM 的相对分子量, 在检测波长为 E_x 280 nm/ E_m 340 nm 时, 标准物质的保留时间也比其他两个峰时长, 因此, 所测量荧光峰 C 物质的分子量也较大.

表 3 给出了 DOM 不同类型荧光物质的平均分子量以及各分子量组分的相对百分含量. 准确估算的分子量分布也上述讨论的结果一致. DOM 荧光峰 A 处的分子量以 3.0~1.0 kD 的组分的含量最大, 占总有机物的 79.8%~87.2%, 其次是小于 1.0 kD, 占总有机物的 17%~24%, 大于 3.0 kD 的分子量组分的含量最少, 只有 1.94%~3.70%. 荧光峰 B 物质的分子量分布以及各分子量组分的含量都与荧光峰 A 处的相似, 也主要集中在小于 3.0 kD 分子量组分中. 这些说明: DOM 中类腐殖荧光物质的组分和结构性质基本相似, 主要是一些小分子有机物质. 类蛋白荧光物质(荧光峰 C)的重均分子量(M_w)大于 2.0 kD, 明显高于类腐殖荧光物质的 M_w (1685~1845 Da), 这反映了类蛋白物质的分子量较大. 同时类腐殖荧光和类蛋白荧光物质的多分散性系数 r 相似, 小于 2.0, 表明这两种类型物质分子量分布范围较窄.

由于结构和化学组成的复杂性和研究手段的局限性, DOM 特征研究难度较大. DOM 在水体中含量较低, 分离和特征手段有别于常规有机分析. 分子荧光分析和 HPSEC 被认为是目前 DOM 研究较为有效的手段. 我们的研究结果进一步证实: 与其他来源 DOM 相似, 红枫湖和百花湖及河流水体 DOM 也主要存在两种类型, 类腐殖荧光和类蛋白荧光; 类腐殖荧光又分两种, 荧光峰 A 和 B. 同时还进一步验证了

表 3 不同类型荧光物质 DOM 平均分子量(Da)以及各分子量组分的相对百分含量(%)

样品	荧光峰	M_w	M_n	r	>3.0 kD	3.0~2.0 kD	2.0~1.0 kD	<1.0 kD
SHKS	A	1763	1499	1.2	2.2	35.1	46.2	16.5
	B	1685	1351	1.2	2.8	33.0	40.5	23.7
	C	2916	1835	1.6	12.4	54.7	16.8	16.1
XYCQ	A	1820	1527	1.2	2.3	39.4	42.3	16.0
	B	1845	1515	1.2	3.7	41.0	37.5	17.8
	C	2975	1893	1.6	18.6	44.3	21.5	15.6
HF-S-0m	A	1848	1591	1.2	2.3	46.9	40.3	10.5
	B	1709	1460	1.2	7.7	46.6	33.3	12.5
HF-N-0m	A	1846	1558	1.2	1.7	42.2	40.8	15.3
	B	1788	1467	1.2	2.4	39.8	39.1	18.8
BH-1-0m	A	1824	1571	1.2	1.9	41.1	38.7	18.3
	B	1793	1473	1.2	1.5	39.5	44.5	14.6
BH-2-0m	A	1850	1572	1.2	1.3	43.0	41.1	14.6
	B	1834	1531	1.2	3.0	40.5	39.5	17.1

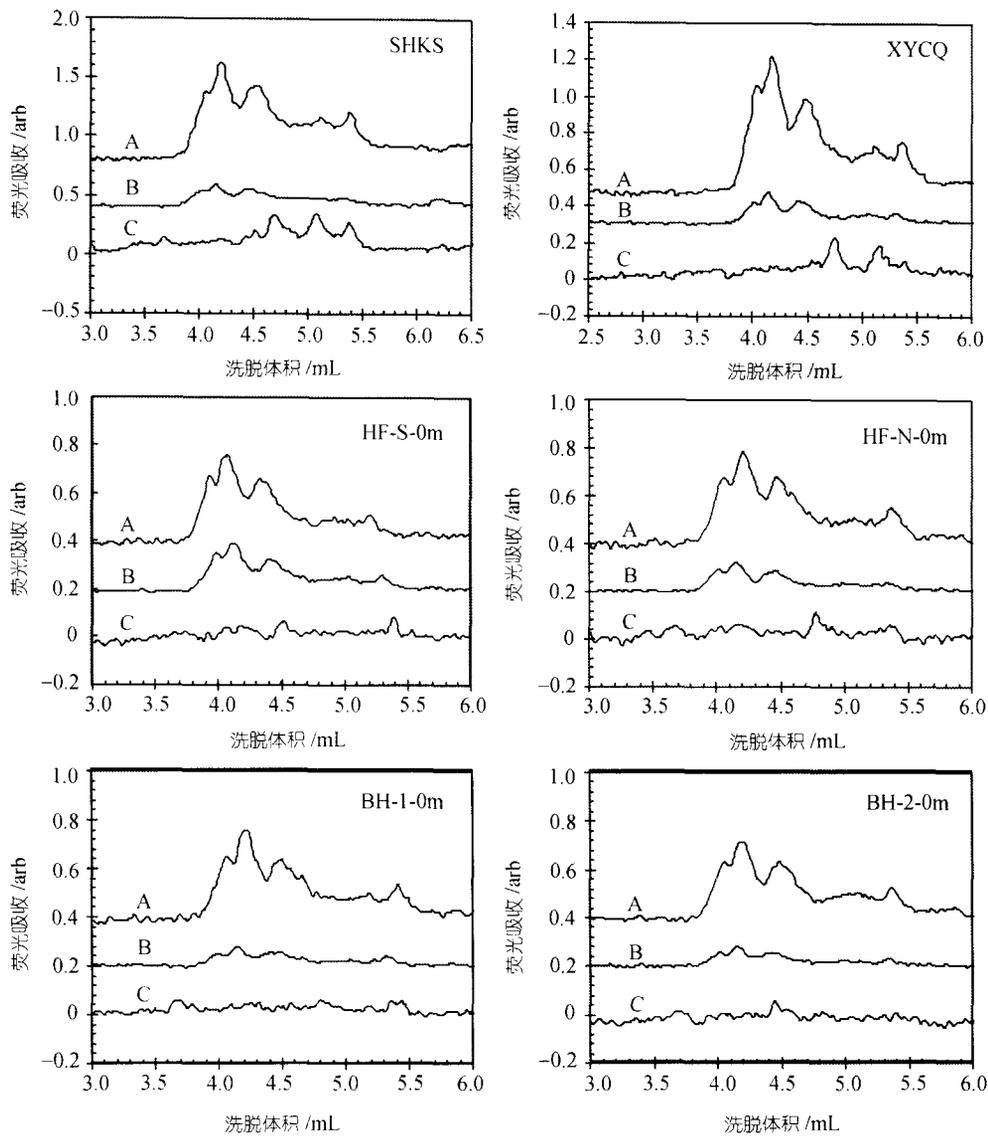


图 3 不同类型荧光物质的 HPSEC 曲线特征

HPSEC 在研究贵州湖泊 DOM 分子量的有效性; 分子量的测定与所选择的检测波长有关. 但是, 长期以来, 不同类型荧光物质与其结构和化学组成之间的关系了解很少. 本项研究通过 HPSEC 与紫外吸收和分子荧光在线检测联用的方法为以上科学问题解决提供了新思路. 研究结果表明, 不同类型荧光物质的分子量分布存在明显的差别. 前人有关荧光物质来源的研究可以基本证实我们的结论^[3,11,19,22,27]. 类腐殖荧光物质主要来源于土壤和水环境中动植物分解残体, 其经过较长时间的降解过程可以说明它具有相对较小的分子量分布特征; 而类蛋白荧光物质一般认为是新近生物活动来源, 未经过长期的复杂分解作用, 这

反映了它相对较大的分子量分布特征.

荧光峰 A 类腐殖物质广泛存在于不同来源 DOM 中. 而荧光峰 B 不常见, 一般认为也可能主要与腐殖物质有关^[27]. 但荧光峰 A 和 B 物质的化学组成和结构一直是个谜. 我们的研究表明, 类腐殖荧光中荧光峰 A 和 B 的分子量分布基本相似, 这可能暗示着它们来源和结构的相似性.

不同分子量分布特征与化学组成、结构和其他物理特性密切相关^[3,6,10,27,28], 大分子量 DOM 含有较高的苯环结构和饱和双键, 而小分子量组分 DOM 则含有较高的化学官能团. 因此本项研究结果对进一步认识 DOM 特征和生态环境效应应有十分重要的价值.

3 结论

本研究结果显示了三维分子荧光及高效液相色谱、紫外吸收和荧光在线检测联用技术在天然水体DOM特征研究的优越性。不同类型荧光物质的分子量分布存在明显的差别；类腐殖荧光物质主要集中在小于3 kD的小分子有机组分中，而类蛋白荧光物质主要分布在较大分子量的有机组分中。本研究方法和结果对进一步揭示DOM来源、化学组成和结构及其地球化学行为有十分重要的意义。

致谢 本工作为国家杰出青年基金(批准号: 40525011)、“973”课题(批准号: 2002CB412300)、国家自然科学基金(批准号: 40403011)和中国科学院知识创新工程重要方向(批准号: KZCX2-105)资助项目。

参 考 文 献

- Candler R, Zech W, Alt H G. Characterization of water-soluble organic substances from a type dystrochrept under spruce GPC, IR, ¹H NMR, and ¹³C NMR spectroscopy. *Soil Science*, 1988, 146: 445~452
- Campbell J H, Evans R D. Inorganic and organic ligand binding of lead and cadmium and resultant implications for bioavailability. *The Science of Total Environment*, 1987, 62, 219~227
- Wu F, Tanoue E. Molecular mass distribution and fluorescence characteristics of dissolved organic ligands for copper (II) in lake Biwa, Japan. *Organic Geochemistry*, 2001, 32: 11~20
- Chiou CT, Malcolm R L, Brinton T I, et al. Water solubility enhancement of some organic pollutants and pesticides by dissolved humic and fulvic acids. *Environmental Science Technology*, 1986, 20(5): 502~508
- El-Rehaili A M, Weber Jr W J. Correlation of humic substance trihalomethane formation potential and adsorption behavior to molecular weight distribution in raw and chemically treated waters. *Water Research*, 1987, 21(5): 573~582
- Owen D M, Amy G L, Chowdhury Z K. NOM characterization and treatability. *Journal of American Water Works Association*, 1995, 87(1): 46~63
- Kilduff J E, Karanfil T, Chin Y-P, et al. Adsorption of natural organic polyelectrolytes by activated carbon: A size-exclusion chromatography study. *Environmental Science & Technology*, 1996, 30(4): 1336~1343
- Amy G L, Sierka R A, Bedessem J, et al. Molecular size distribution of dissolved organic matter. *Journal of American Water Works Association*, 1992, 84(6): 67~75
- Newcombe G, Drikas M, Hayes R. Influence of characterized natural organic material on activated carbon adsorption: II. Effect of pore volume distribution and adsorption of 2-methylisoborneol. *Water Research*, 1997, 31(5): 1065~1073
- Cabaniss S E, Zhou Q, Maurice P A, et al. A log-normal distribution model for the molecular weight of aquatic fulvic acid. *Environmental Science & Technology*, 2000, 34: 1103~1109
- Chin Y P, Aiken G, O' Loughlin E. Molecular weight, polydispersity, and spectroscopic properties of aquatic humic substances. *Environmental Science & Technology*, 1994, 28: 1853~1858
- Rausa R, Mazzolari E, Calemma V. Determination of molecular size distributions of humic acids by high-performance size-exclusion chromatography. *Journal of Chromatography*, 1991, 541: 419~429
- Peuravuori J, Pihlaja K. Molecular size distribution and spectroscopic properties of aquatic humic substances. *Analytica Chimica Acta*, 1997, 337: 133~149
- Her N, Amy G, McKnight D. Characterization of DOM as a function of MW by fluorescence EEM and HPLC-SEC using UVA, DOC, and fluorescence detection. *Water Research*, 2003, 37: 4295~4303
- Artinger R, Buckau G, Kim J I. Characterization of groundwater humic and fulvic acids of different origin by GPC with UV/Vis and fluorescence detection. *Fresenius J Anal Chem*, 1999, 364: 737~745
- Zhou Q, Cabaniss S E, Patricia A M. Considerations in the use of high-pressure size exclusion chromatography (HPSEC) for determining molecular weights of aquatic humic substances. *Water Research*, 2000, 34(14): 3505~3514
- O' loughlin E, Chin Y-P. Effect of detector wavelength on the determination of the molecular weight of humic substances by high-pressure size exclusion chromatography. *Water Research*, 2001, 35(1): 333~338
- Mopper K, Schultz C A. Fluorescence as a possible tool for studying the nature and water column distribution of DOC components. *Marine Chemistry*, 1993, 41: 229~238
- 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: 432~435
- Yamashita Y, Tanoue E. Chemical characterization of protein-like fluorescences in DOM in relation to aromatic amino acids. *Marine Chemistry*, 2003, 82: 255~271
- Determann S, Reuter R, Wagner P, et al. Fluorescent matter in the eastern Atlantic Ocean. Part 1: method of measurement and near-surface distribution. *Deep Sea Research*, 1994, 41(4): 659~675
- Coble P G. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. *Marine Chemistry*, 1996, 51: 325~346
- Del Castillo C E, Coble P G, Morell J M, et al. Analysis of the optical properties of the Orinoco river plume by adsorption and fluorescence spectroscopy. *Marine Chemistry*, 1999, 66: 35~51
- Senesi N. Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic and its interactions with metal ions and organic chemicals: Part II. The fluorescence spectroscopy approach. *Analytica Chimica Acta*, 1990, 232: 77~106
- Miano T M, Senesi N. Synchronous excitation fluorescence spectroscopy applied to soil humic substances chemistry. *The Science of Total Environment*, 1992, 117/118: 41~51
- Parlanti E, Morin B, Vacher L. Combined 3D-spectrofluorometry, high performance liquid chromatography and capillary electrophoresis for the characterization of dissolved organic matter in natural waters. *Organic Geochemistry*, 2002, 33: 221~236
- Wu F C, Liu C Q. Humic substances. In: *Chromatographic Analysis of the Environment: 3 ed, revised and expanded*, ed. L. Nollet. New York: Marcel Dekker Inc, 2005. 1~50
- Thorn K A, Folan D W, MacCarthy P. Characterization of the IHSS standard and reference fulvic and humic acids by solution state carbon-13 (¹³C) and hydrogen-1 (¹H) nuclear magnetic resonance spectrometry. United States Geological Survey, Water-Resources Investigations, 1989, Report Number, 89~ 4196

(2005-06-22 收稿, 2005-08-02 收修改稿)