

# 应用固体表面三维荧光技术研究湖泊底泥有机质组成与结构特征

韩秀<sup>1,2</sup>, 宋永会<sup>1,2\*</sup>, 张广彩<sup>2</sup>, 言宗骋<sup>2</sup>, 靳方园<sup>2</sup>, 于会彬<sup>2</sup>

1. 辽宁大学环境学院, 辽宁 沈阳 110036

2. 中国环境科学研究院流域水环境污染综合治理研究中心, 北京 100012

**摘要** 固体表面三维荧光是一种表征固态有机质组分与结构的先进技术, 不需要提取固体样品中的溶解性有机质, 直接对固体样品进行三维荧光光谱检测, 具有可操作性、实用性、信息量大的特点。利用固体表面三维荧光光谱, 结合平行因子(PARAFAC)技术、聚类分析(HCA)与分类回归树(CART)模型等分析手段, 提取乌梁素海表层底泥中的荧光组分, 识别影响有机质特征的关键因子, 揭示有机组分的空间分异规律。根据污染程度的不同, 采集了10个表层底泥样品(1<sup>#</sup>—10<sup>#</sup>), 检测未处理样品和加热处理样品的固体表面三维荧光光谱, 二者之差得到湖泊底泥有机质的固体表面三维荧光光谱。采用 PARAFAC 技术, 提取了4个主要的荧光组分(C1—C4)。C1为类色氨酸物质, 主要来自于内源。C2为类富里酸物质、C3为可见区类胡敏酸物质、C4为紫外区类胡敏酸物质, C2—C4主要来自于陆源。四个荧光组分的总含量在北部最高, 南部次之, 中部最少。C2—C4的总含量高于C1, 表明湖区底泥有机质主要来源为陆源。C1在湖区南部的含量高于北部与中部, 表明C1可能与大量水生植物的生长代谢有关。C2含量的空间分布为北部>南部>中部。C3在北部地区的含量远高于南部和中部, 是北部地区底泥的代表性物质。C4与C2的空间分布规律大致相同。基于荧光组分 HCA, 得出 C2 与 C4 可能具有相同的来源; C3 与 C1 是区别底泥有机质特征的关键因子。基于采样点 HCA, 可将湖区底泥分为3个不同区域, 分别为北部重度污染区、南部中度污染区与中部轻度污染区。利用 CART 模型, 进一步验证了 C3 与 C1 是识别底泥有机质特征的关键因子, 使湖区底泥的分类结果更为精确, 同时为后续乌梁素海底泥污染特征与污染来源的探究提供了技术支撑。

**关键词** 湖泊底泥; 固体表面三维荧光; 平行因子; 聚类分析; 分类回归树

**中图分类号:** X524 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2020)02-0483-06

## 引言

荧光由单个分子或结构中的共轭刚性系统发出, 当物质从固态变为液态或气态时, 荧光仍然存在<sup>[1]</sup>。目前, 三维荧光光谱技术已广泛应用于湖泊底泥溶解性有机质(dissolved organic matter, DOM)及腐殖酸的研究, 但 DOM 与腐殖酸不能代表底泥的全部有机质, 因此该方法存在一定局限性<sup>[2-3]</sup>。近年来, 国际上出现了直接用固体荧光技术研究有机质的方法, Albrecht<sup>[4]</sup>等通过固相荧光光谱识别了堆肥样品的不同成熟阶段; Pan<sup>[5]</sup>等通过河套灌区不同类型土壤的固体表面三维荧光光谱, 揭示了土壤有机质的空间分布。在国内, 直接利用固体表面三维荧光技术对湖泊底泥有机质的研究尚未见报道。

乌梁素海作为我国最大的农田退水湖泊, 是河套灌区排水系的重要组成部分。近年来, 由于工农业的发展, 工业废水、生活污水随农田退水排入乌梁素海, 导致湖区内源污染严重。本研究利用固体表面三维荧光技术, 结合平行因子(parallel factor analysis, PARAFAC)与数理统计方法, 研究乌梁素海底泥有机质组成与结构特征, 提取荧光组分, 识别关键因子, 揭示有机组分空间分布规律。

## 1 实验部分

### 1.1 样品采集

2018年9月, 根据乌梁素海污染源分布及水动力特征, 采集10个表层底泥样品(图1)。湖区北部为人工苇田, 未设置采样点。1<sup>#</sup>位于东北部明水区, 2<sup>#</sup>位于总排与八排入湖口

收稿日期: 2019-01-12, 修订日期: 2019-05-05

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2018ZX07111001), 中国博士后科学基金项目(2013T60148)资助

作者简介: 韩秀, 女, 1994年生, 辽宁大学环境学院硕士研究生 e-mail: hanxiu729@163.com

\* 通讯联系人 e-mail: songyh@craes.org.cn

附近, 1<sup>#</sup>和 2<sup>#</sup>位于湖区北部, 污染较严重。3<sup>#</sup>位于东北部明水区末端, 4<sup>#</sup>和 5<sup>#</sup>位于湖心区, 6<sup>#</sup>位于九排干入湖口北部, 3<sup>#</sup>—6<sup>#</sup>位于湖区中部, 污染较轻。7<sup>#</sup>—10<sup>#</sup>为九排干入湖口南部均匀分布, 该区域生长大量芦苇和水草。将每个样品混合均匀, 冻干研磨, 过 200 目筛后避光低温保存。

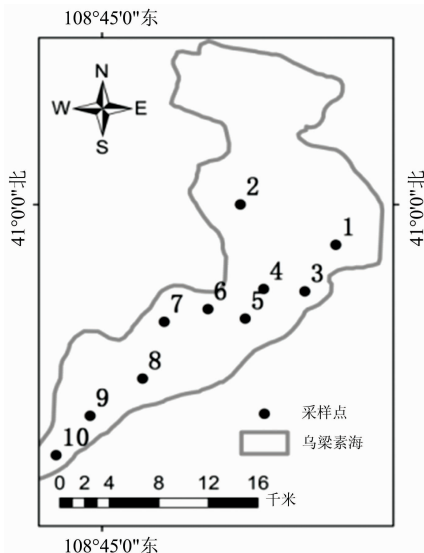


图 1 乌梁素海采样点分布

Fig. 1 Sampling points in Wuliangsu Lake

## 1.2 三维荧光光谱检测与 PARAFAC 分析

分别测定底泥样品去除有机质前后的固体表面三维荧光光谱, 二者之差即为有机质的固体表面三维荧光光谱。有机质的去除方法是将研磨后的样品放入马弗炉中加热 4 h, 温度为 700 °C。

使用日立荧光分光光度计 F-9000 扫描三维荧光光谱,

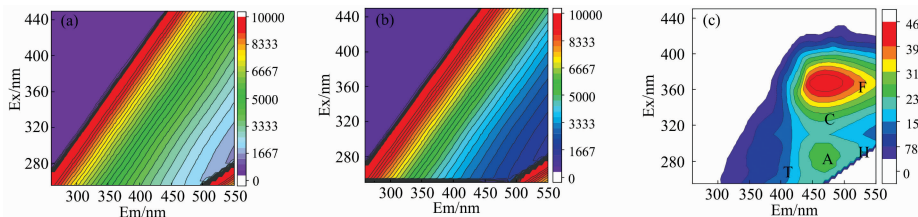


图 2 样品未处理(a)和加热处理后(b)的固体表面三维荧光光谱, 以及二者之差得到的有机物固体表面三维荧光光谱(c)

Fig. 2 Solid surface excitation-emission matrix (EEM) fluorescence spectra of the untreated (a) and thermally treated (b) sample, and the solid surface EEM fluorescence spectrum of organic matter obtained by the difference between the former and latter (c)

所有底泥有机质的固体表面三维荧光光谱通过激发/发射(nm)波长对与特异性荧光强度表征(图 3)。在光谱图中, 明显出现了 5 个荧光峰。参考以往文献, T 峰为类色氨酸荧光峰( $Ex/Em=275\sim 280/355\sim 365\text{ nm}$ )<sup>[6]</sup>, A 峰为紫外区类富里酸荧光峰( $Ex/Em=240\sim 260/370\sim 428\text{ nm}$ )<sup>[7]</sup>, C 峰为可见区类富里酸荧光峰( $Ex/Em=335\sim 365/435\sim 480\text{ nm}$ )<sup>[8]</sup>, F 峰为可见区胡敏酸荧光峰( $Ex/Em=380/480\text{ nm}$ ),

将样品放入固体进样器中。固体进样器为直径 1.2 cm、厚 2 mm 的片状金属柱体。光源为 150 W 氙灯, 光电倍增电压为 700 V, 激发和发射狭缝宽度为约 5 nm, 响应时间 0.5 s, 激发波长扫描范围为 255~450 nm, 发射波长扫描范围为 260~550 nm, 扫描间隔为 10 nm。

使用 MatlabR2017b 软件对光谱数据消除散射, 用 PARAFAC 模型模拟, 提取荧光组分。所得到的荧光组分通过了半劈开验证和残差验证。各组分的丰度以最大荧光强度  $F_{\max}$  (a. u.) 表示。

## 1.3 数理统计分析

聚类分析(hierarchical cluster analysis, HCA)可以通过样本之间的相似性做出分类决策, 是一种无监督的分类程序。对荧光组分聚类, 探究不同荧光组分间的内在联系; 对不同采样点聚类, 揭示乌梁素海底泥的空间相似性和差异性。

分类回归树(classification and regression tree, CART)是一种基于统计理论的非参数识别技术, 具有强大的统计解析功能。按 HCA 结果将采样点分组, 生成最大的树后修剪掉不具一般代表性的叶结点和分枝, 选出分类错误最小的子树作为最优分类模型。

在 SPSS22.0 软件中采用组间连接算法对荧光组分聚类, 采用最远邻元素算法对采样点聚类, 采用 CRT 算法生成 CART 模型。

## 2 结果与讨论

### 2.1 固体表面三维荧光光谱特征

原样品和加热后样品的固体表面三维荧光光谱相似, 没有出现明显的荧光峰[图 2(a)和(b)], 而有机质的固体表面三维荧光光谱中出现了明显的荧光峰[图 2(c)]。

H 峰为紫外区胡敏酸荧光峰( $Ex/Em=270/480\text{ nm}$ )<sup>[9]</sup>。

### 2.2 PARAFAC 分析

利用 Matlab 软件包的 DOMflour 工具箱对 10 个样品的光谱数据集进行 PARAFAC 建模, 提取 4 个荧光组分(图 4)。

荧光组分的激发/发射波长对及荧光类型如表 1 所示。Cl 为类色氨酸物质, 是一种由微生物代谢产生的内源类蛋

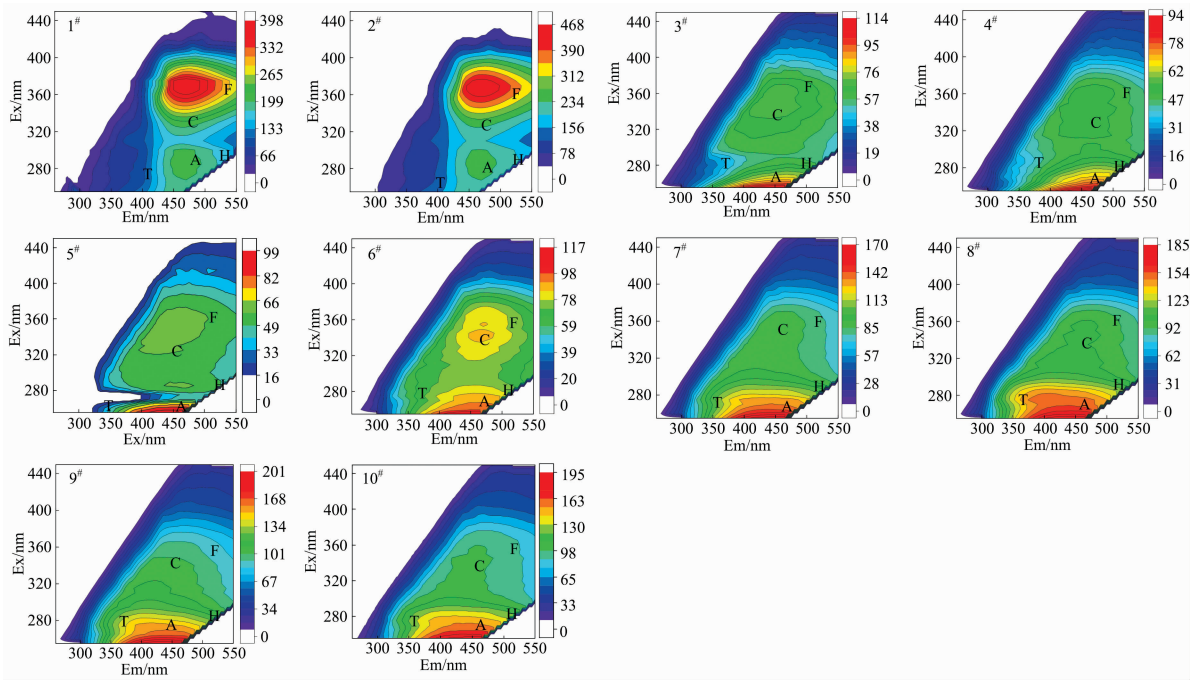


图 3 不同采样点(1<sup>#</sup>—10<sup>#</sup>)底泥有机质的固体表面三维荧光光谱

Fig. 3 Solid surface EEM fluorescence spectra of the sedimentary organic matter at different sampling points from 1<sup>#</sup> to 10<sup>#</sup>

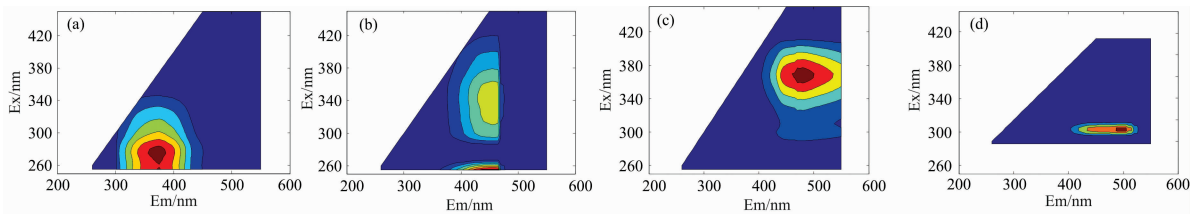


图 4 PARAFAC 提取出的 4 个荧光组分

(a): 类色氨酸; (b): 类富里酸; (c): 可见区类胡敏酸; (d): 紫外区类胡敏酸

Fig. 4 Four fluorescence components extracted by PARAFAC

(a): Tryptophan-like; (b): Fulvic-like; (c): Vis humic-like; (d): UV humic-like

白物质。C1 沿发射波长红移, 与底泥样品的 pH 较高有关<sup>[13]</sup>。C2 为类富里酸物质, C2 沿发射波长红移, 与底泥高芳香化程度有关, 间接表明底泥的高腐殖程度。C3 为可见区类胡敏酸, C4 为紫外区类胡敏酸。C2—C4 为典型的陆源腐殖质, 主要来自生活污水及工农业废水等外源输入<sup>[14-15]</sup>。

表 1 PARAFAC 提取出的荧光组分特征

Table 1 Characteristics of different components extracted by PARAFAC

组分	本研究 Ex/Em/nm	荧光类型	Ex/Em /nm	文献
C1	275/375	类色氨酸	270/355	[10]
C2	255, 345/455	类富里酸	240~260/370~428, 330~350/380~410	[11]
C3	375/480	可见区类胡敏酸	250~400/380~500	[12]
C4	265/475	紫外区类胡敏酸	250~400/380~500	[12]

### 2.3 荧光组分特征分析

荧光物质总含量及各组分含量空间分布差异很大[图 5 (a)]。总  $F_{max}$  最高值位于北部, 为 2<sup>#</sup> (918.4) 和 1<sup>#</sup> (780.64), 表明北部底泥荧光物质含量最高; 其次为南部 7<sup>#</sup>—10<sup>#</sup>, 平均含量为 424.25;  $F_{max}$  最低的为中部, 平均含量为 256.47, 底泥中荧光物质含量最少。湖区底泥中荧光物质含量的空间分布规律为北部>南部>中部。

C1 含量最高的为南部, 平均含量为 135.91, 北部与中部平均含量分别为 92.15 与 61.62, C1 含量的分布为南部>北部>中部。湖区南部分布着大量水草与芦苇, 这表明 C1 的产生可能与水生植物的生长代谢有关。C2 平均含量北部与南部较高, 分别为 192.98 与 149.28, 中部较低为 102.85, 呈现北部>南部>中部的分布特征。C3 在北部平均含量很高, 为 334.33, 其他地区含量极少, 为 19.68, 北部约为其他地区含量的 16.99 倍, 表明 C3 是北部底泥有机质的代表物质。C4 北部与南部平均含量分别为 210.49 与 147.37, 中部

含量较低, 为 107.81, 分异规律为北部>南部>中部, 与 C2 的空间分布趋势相同。

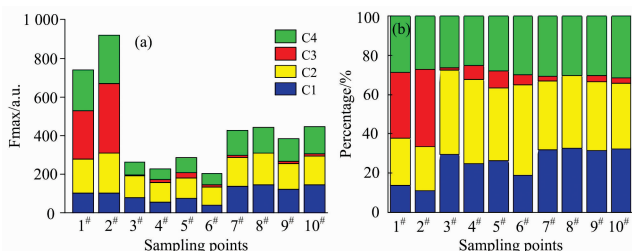


图 5 各荧光组分最大荧光强度 (a) 与相对含量 (b)

Fig. 5  $F_{max}$  (a) and percentages (b) distribution of each fluorescence component

此外, 不同区域各荧光组分相对含量(各组分  $F_{max}$  占该样品总  $F_{max}$  的百分比, %)也具有明显差异[图 5(b)]. C1 相对含量大致上由北向南逐渐增大, 依次为北部 12.23%, 中部 24.77%, 南部 32.01%. C2 相对含量在北部较小, 平均相对含量为 23.31%, 在其他地区相对含量较大且空间变化较小, 为 33.55%~45.83%. 组分 C3 在北部相对含量很高, 为 36.62%, 在其他区域含量极低, 为 0~8.68%. C4 在各点相对含量变化较小, 为 25.1%~31.52%. 内源类蛋白质 C1 在全湖相对含量为 10.84%~32.35%, 陆源腐殖质 C2~C4 在全湖的相对含量为 67.47%~89.15%, 高于内源类蛋白质, 这表明乌梁素海底泥有机质中的荧光物质主要来源为陆源。

2.4 HCA 分析

在相对距离<5 时, 将荧光组分分成 3 个具有统计学意义的组[图 6(a)]. 第一组为 C2 与 C4, 二者均为陆源腐殖质且空间分布大致相同, 可能具有相同的来源。第二组为 C1, 属于内源类蛋白质, 表征了底泥的内源性。第三组为 C3, 其含量主要集中在湖区北部, 体现了北部底泥的有机质特性。C3 与其他组分相对距离最大, C1 在相对距离<5 时与其他组分不同, 因此 C3 和 C1 是区分湖区底泥有机质特征的关键指标。

在相对距离<4 时将采样点分成 3 类[图 6(b)]. A 组为南部 7#—10#, 该组底泥中总荧光物质及 C2 和 C4 含量低

于北部, 高于中部, C1 含量高于其他地区, C3 含量极少, 属于中度污染区域。B 组为中部 3#—6#, 该组底泥中各荧光组分含量均较少, 属于轻度污染区域。C 组为湖区北部 1# 与 2#, 该组底泥中总荧光物质及陆源腐殖质 C2—C4 含量均高于其他地区, C1 含量相对较低, 属于重度污染区域。

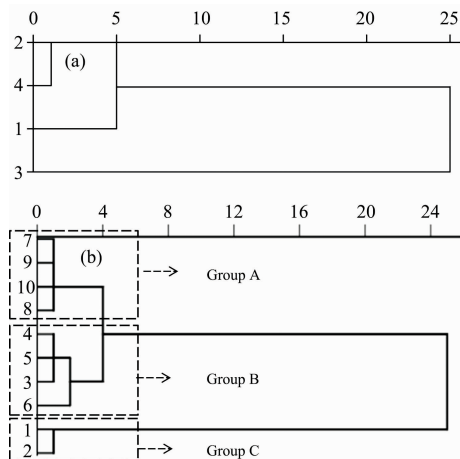


图 6 荧光组分 (a) 与采样点 (b) HCA 树状图

Fig. 6 HCA tree diagrams of the fluorescent components (a) and the samples (b)

总排干、八排干在湖区西北部入湖, 携带的有机质在入湖口附近大量沉积。受芦苇、菖蒲等大型挺水植物阻碍, 部分污水向东分流, 直接汇入东北端明水区, 加之南侧挺水植物的围栏阻碍, 水动力条件弱, 利于有机质沉积, 致使北部底泥污染最为严重。随着水体向南流动, 有机质不断沉降, 加之中部水动力条件较好, 有机质沉积较困难, 因此中部底泥污染程度最轻。九排干在南部入湖, 加大了水体有机质含量, 同时南部生长有较多水生植物, 一方面利于湖水中有机质的沉降, 一方面植物自身代谢产生了较多类氨基酸等内源性有机质。

2.5 CART 分析

将底泥按 HCA 结果分为 A, B 和 C 三组, 以 4 个荧光组分含量为自变量, 以分类结果为因变量, 对采样点生成 CART 模型(图 7), 分类错误为 0。

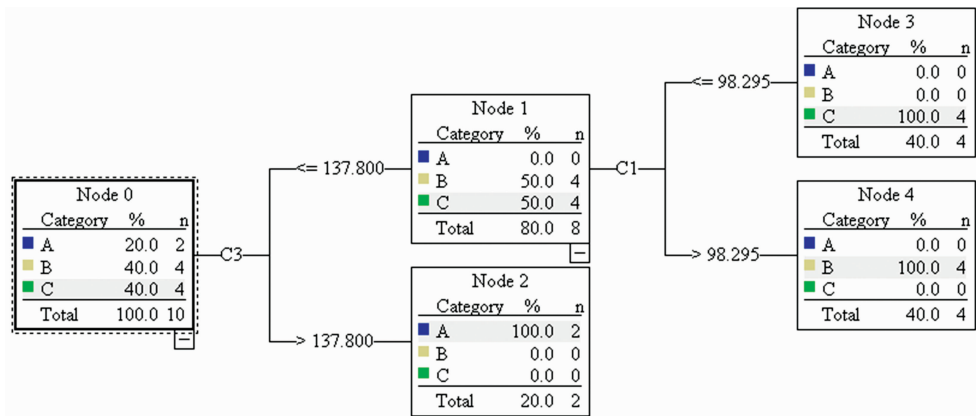


图 7 不同区域底泥有机质 CART 模型

Fig. 7 CART for the sedimentary organic matter in different areas

根据 C3 含量,可先将 C 组北部底泥与其他地区底泥分开,  $C3 > 137.8$  的样本全部位于北部,  $C3 \leq 137.8$  的样本全部位于其他区域, C3 是识别北部底泥的关键指标。利用 C1 含量,可区分 A 组中部与 B 组南部底泥,  $C1 \leq 98.295$  的样本全部位于南部,  $C1 > 98.295$  的样本全部位于中部。

CART 模型进一步验证了 C3 和 C1 是识别乌梁素海底泥有机质特征的关键因子,清晰地阐明了 C3 与 C1 含量对底泥特性的影响作用,并使湖区底泥的分类结果更为精确。同时,利用现已生成的 CART 模型,根据固体表面三维荧光光谱中的 C1 和 C3 含量,即可快速辨别乌梁素海底泥的污染类型与污染程度,为进一步探究乌梁素海污染特征及污染来源提供了技术支撑。

### 3 结 论

固体表面三维荧光技术结合 PARAFAC, HCA 与

CART 模型是提取湖泊底泥有机质荧光组分、探究特征影响因素、揭示有机组分空间分布规律的有效方法。乌梁素海底泥有机质中存在一个类色氨酸组分、一个类富里酸组分与两个类腐殖酸组分。紫外区类腐殖酸物质与类富里酸物质可能同源,可见区类腐殖酸物质与类色氨酸物质是识别有机质特性的关键因子。乌梁素海底泥有机质的主要来源为陆源。

根据有机质组成与结构特征,可将底泥分为北部重度污染区、南部中度污染区与中部轻度污染区 3 个区域。以可见区类腐殖酸物质与类色氨酸物质含量作为判别因子,可以简洁地将底泥分类,这为乌梁素海污染治理提供了参考。

### References

- [ 1 ] Chan K C, Muschik G M, Issaq H J. *Electrophoresis*, 2000, 21(10): 2062.
- [ 2 ] Lai B, Zhou Y, Wang J, et al. *Chemosphere*, 2013, 93(11): 2805.
- [ 3 ] Yu H, Song Y, Xi B, et al. *Journal of Soils & Sediments*, 2012, 12(3): 341.
- [ 4 ] Albrecht R, Verrecchia E, Pfeifer H R. *Talanta*, 2015, 134: 453.
- [ 5 ] Pan H W, Yu H B, Song Y H, et al. *Ecological Indicators*, 2017, 73: 88.
- [ 6 ] Lu X, Chen S, Luo J, et al. *RSC Advances*, 2016, 6(11): 9286.
- [ 7 ] Helms J R, Stubbins A, Perdue E M, et al. *Marine Chemistry*, 2013, 155(4): 81.
- [ 8 ] Tareq S M, Maruo M, Ohta K. *Physics & Chemistry of the Earth*, 2013, 58-60(4): 77.
- [ 9 ] Xian Q, Li P, Liu C, et al. *Science of the Total Environment*, 2018, 622: 385.
- [10] Szabo H M, Lepistö R, Tuhkanen T. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 2016, 96(3): 257.
- [11] YU Hui-bin, SONG Yong-hui, YANG Nan, et al (于会彬, 宋永会, 杨楠, 等). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2015, 35(4): 934.
- [12] LI Xiao-jie, GAO Hong-jie, GUO Ji-feng, et al(李晓洁, 高红杰, 郭冀峰, 等). *China Environmental Science(中国环境科学)*, 2018, 38(1): 311.
- [13] He X S, Xi B D, Wei Z M, et al. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 190(1-3): 293.
- [14] D'Andrilli J, Foreman C M, Marshall A G, et al. *Organic Geochemistry*, 2013, 65(6): 19.
- [15] Stedmon C A, Markager S. *Limnology and Oceanography*, 2005, 50(2): 686.

# Application of Solid Surface EEM Fluorescence Spectroscopy for Analyzing Organic Matter Structural Composition of Lake Sediment

HAN Xiu<sup>1, 2</sup>, SONG Yong-hui<sup>1, 2\*</sup>, ZHANG Guang-cai<sup>2</sup>, YAN Zong-cheng<sup>2</sup>, JIN Fang-yuan<sup>2</sup>, YU Hui-bin<sup>2</sup>

1. School of Environmental Science, Liaoning University, Shenyang 110036, China

2. Watershed Research Center for Comprehensive Treatment of Water Environmental Pollution, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China

**Abstract** Solid surface excitation-emission matrix (EEM) fluorescence spectroscopy, a leading technique, is used to characterize structural composition of solid organic matter. The EEM spectra were directly measured using solid samples, instead of extraction of dissolved organic matter. Hence the technique has feasibility, practicality and large amount of information. In this study, the solid surface EEM spectroscopy coupled with parallel factor analysis (PARAFAC), hierarchical cluster analysis (HCA), and classification and regression tree (CART) was applied to extract fluorescent components of the surface sediments in Wuliangsu-hai Lake, to track potential factors of the organic matter, and to reveal spatial variations of the components. The ten samples were collected along a pollution gradient. The solid surface EEM fluorescence spectroscopy were measured using the untreated sample and the thermally treated samples, and the spectroscopy of the organic matter were obtained by the difference between the former and the latter. Four fluorescence components (C1 to C4) were extracted by the PARAFAC. The C1 was associated with the tryptophan-like material, which could be derived from in-situ source. The C2 was relative to the fulvic-like material, and the C3 and C4 were concerned with the Vis humic-like and UV humic-like materials respectively, which could be derived from ex-situ source. The total abundances of the four components were the highest in the northern region, followed by the southern and the central regions. The abundances of the C2 to C4 were higher than those of the C1, suggesting that the organic matter was mainly derived from the ex-situ source. The C1 in the southern region was relatively higher than that in northern and central, indicating that the C1 could be relative to the metabolism of many more aquatic plants. The decreasing order of the C2 was northern>southern>central. The C3 was higher in the northern region than those in the southern and central regions, so the C3 was the representative of the sediment in the north. The trend of the C4 was similar to the C2. Based on the fluorescence component HCA, the C2 and C4 might have the terrestrial source, while the C1 and C3 were the potential factors of the organic matter in the sediments. Based on the sample HCA, the sampling sites were grouped into three clusters, i. e. the high-pollution (the northern region), the medium-pollution (the southern region) and the low-pollution (the central region). With the CART model, the C3 and C1 were verified as the potential indicators, which provided clearer classification of the sediments, and offered technical support for subsequent exploration of pollution characteristics and sources.

**Keywords** Lake sediment; Solid surface EEM; PARAFAC; HCA; CART

(Received Jan. 12, 2019; accepted May 5, 2019)

\* Corresponding author