

# 大型丝状绿藻生长过程中有色溶解有机质光谱特征的变化

姜德刚, 黄清辉\*, 李建华

同济大学环境科学与工程学院, 长江水环境教育部重点实验室, 上海 200092

**摘要** 通过室外模拟实验研究崇明岛北湖滩涂大型丝状绿藻常见种-刚毛藻在生长过程中有色溶解有机质(CDOM)的光谱特征变化。利用三维荧光光谱(EEMS)检出的类蛋白和类腐殖酸荧光峰在对照实验中变化不大,而在培养实验中明显增加。采用平行因子模型(PARAFAC)结合三维荧光激发-发射矩阵数据分析得到的CDOM的4个组分:  $C_1$ ,  $C_2$ ,  $C_3$ ,  $C_4$ , 分别与类腐殖酸荧光峰A(C), M和类蛋白荧光峰B和T有关。培养实验中,4组分分别增加了211.5%,255.8%,75.3%和129.3%;对照实验中除 $C_1$ 降低34.3%外,其他组分无明显变化。吸收系数 $a(355)$ 在培养实验中增加了92.9%,并且与4组分显著正相关( $P < 0.01$ );对照实验中 $a(355)$ 降低了59.8%,仅与 $C_1$ 显著相关( $P < 0.05$ )。此外对表征分子量和组成的M值和S值进行比较发现,培养实验中M值和S值均低于对照实验。这说明在刚毛藻生长过程中可能有大分子和较强芳香性的CDOM产生。所有结果表明,刚毛藻的生长过程能够引起CDOM含量和组成结构的变化。

**关键词** 有色溶解有机质;大型丝状绿藻;三维荧光光谱;平行因子法

**中图分类号:** O657.3;X132 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2010)07-1880-06

## 引言

溶解有机质(DOM)是天然水体有机物中的一个重要组成部分,在生物地球化学循环中起着不可忽视的作用<sup>[1,2]</sup>。天然水体中的DOM主要来源于陆地和水中植物的分解。生物和太阳光降解作用可以提高DOM的可利用性,从而影响水生生态系统中细菌的活动和浮游植物的生长<sup>[3,4]</sup>。

有色溶解有机质(CDOM),又称黄色物质,是DOM的重要组成部分,在碳循环、水色遥感中具有重要作用。目前CDOM成为了国际上的一个研究热点,它能够吸收紫外光和可见光,可以保护水生生物免于辐射<sup>[5,6]</sup>。一些研究认为沿海河口地区CDOM的来源主要是陆源输入<sup>[7]</sup>。但随着水体富营养化问题的不断加剧,藻类过度繁殖导致水华现象严重影响水环境健康,藻类的内源生产也引起了广泛的关注。在海洋和河口环境中,不同研究学者对于藻类生产CDOM的贡献有着不同的观点<sup>[8,9]</sup>。国内的相关研究主要集中在微藻生长过程中CDOM光学特性和来源<sup>[10]</sup>。近年来,大型丝状藻引发的水华频繁暴发,但国内对于大型丝状藻对水中CDOM的行为影响研究较少。

崇明北湖原来是长江口北部支流的一个部分,经圈围后形成了人工湖泊,位于崇明岛北沿中部,总面积为3 006.7  $\text{hm}^2$ ,其中水面面积为1 760  $\text{hm}^2$ ,是华东地区最大的人造咸水湖。由于年进排水量相对较少,因此处于一种半封闭的静水状态,导致在圈围后水流减缓,水体的初级生产力增强,藻类暴发频繁。针对北湖微藻生长过程中CDOM的变化,本实验室已开展了相关研究<sup>[11]</sup>。而北湖浅滩水域中滋生大型丝状藻-刚毛藻(*Chadophorasle*)引发的水华问题同样突出。基于此,本研究通过刚毛藻的培养实验,利用紫外-可见吸收光谱、三维荧光光谱和平行因子计算模型(PARAFAC)<sup>[12]</sup>,分析实验过程中CDOM的组分和构成,探索在没有外源输入的情况下,刚毛藻生长过程中CDOM的生产和行为。

## 1 实验方法

### 1.1 样品的采集和处理

于2008年7月采集北湖西坝的刚毛藻装入密封袋,用采水器采集北湖表层水样,立即带回实验室,并用GF/F膜(0.7  $\mu\text{m}$ , Whatman, 450  $^\circ\text{C}$  预灼3 h)过滤。刚毛藻用蒸馏水

收稿日期:2009-09-12, 修订日期:2009-12-16

基金项目:国家自然科学基金项目(40601095, 20777021), 国际科技合作项目(2007DFR90050)和上海市科学技术委员会重大专项项目(07DZ1205)资助

作者简介:姜德刚,1982年生,同济大学环境科学与工程学院博士研究生 e-mail:jiangdegang123m@163.com

\* 通讯联系人 e-mail:qhhuang@tongji.edu.cn

充分清洗,用滤纸吸干水分后,称取 100 g 与 5 L 过膜水样一齐放入蒸馏水清洗过的方形玻璃缸中在室外进行培养实验。另取等体积水样倒入相同规格的玻璃缸中进行对照实验。实验历经 156 h,实验开始后 24 h 进行监测,随后每 12 h 进行采样分析。

### 1.2 分析方法

采用岛津 UV-2450 紫外-可见分光光度计进行吸收光谱的分析。 $a(355)$  为 355 nm 处的吸收系数;光谱斜率  $S$  值拟合范围为 300~650 nm,参照波长为 440 nm; $M$  值为 250 和 365 nm 处吸收系数的比值。Hitachi F-4500 荧光分光光度计用于三维荧光光谱的分析。激发波长  $E_x=220\sim400$  nm,发射波长  $E_m=250\sim550$  nm。具体仪器参数的设置和荧光强度的标准化见本实验室以往的工作<sup>[11]</sup>。

### 1.3 平行因子计算模型拟合方法

将扣除空白影响的样品三维荧光光谱数据按照样品编号、发射波长和激发波长的顺序组合成三维数据阵列  $EEM_s$  ( $26\times101\times61$ )。采用“N 维工具箱”在 malab6.5(美国 Mathworks 公司)上对该三维数组进行 PARAFAC 分析<sup>[13]</sup>。在分析时,将由多个三维荧光光谱数据构成的三维阵列分解为 3

个载荷矩阵,通过求解 3 个载荷矩阵,使得拟合残差的平方和最小,然后得出与各组分浓度值相对应的得分值、激发光谱和发射光谱,通过浓度校准后进行测量<sup>[14]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 三维荧光光谱的变化

对照和培养实验在 0 和 156 h 的三维荧光光谱如图 1 所示,实验中检出 4 个荧光团。在激发和发射波长  $E_x/E_m=280$  nm/310~340 nm 和  $E_x/E_m=226$  nm/310~343 nm 处有 2 个类蛋白荧光峰;在  $E_x/E_m=256$  nm/439 nm 和  $E_x/E_m=319\sim331$  nm/420 nm 处有 2 个类腐殖酸荧光峰。藻类不是 CDOM 的直接生产者,但藻类释放的 DOM 被细菌利用后可以进一步转化为 CDOM<sup>[9]</sup>。研究发现,不同种类的微藻生长过程可以引起类腐殖酸和类蛋白荧光物质的增加。对照实验中各荧光峰变化不明显,而培养实验各荧光峰的峰值明显的提高。这证明了刚毛藻和微藻一样,在生长过程会引起类腐殖酸和类蛋白荧光物质的增加。

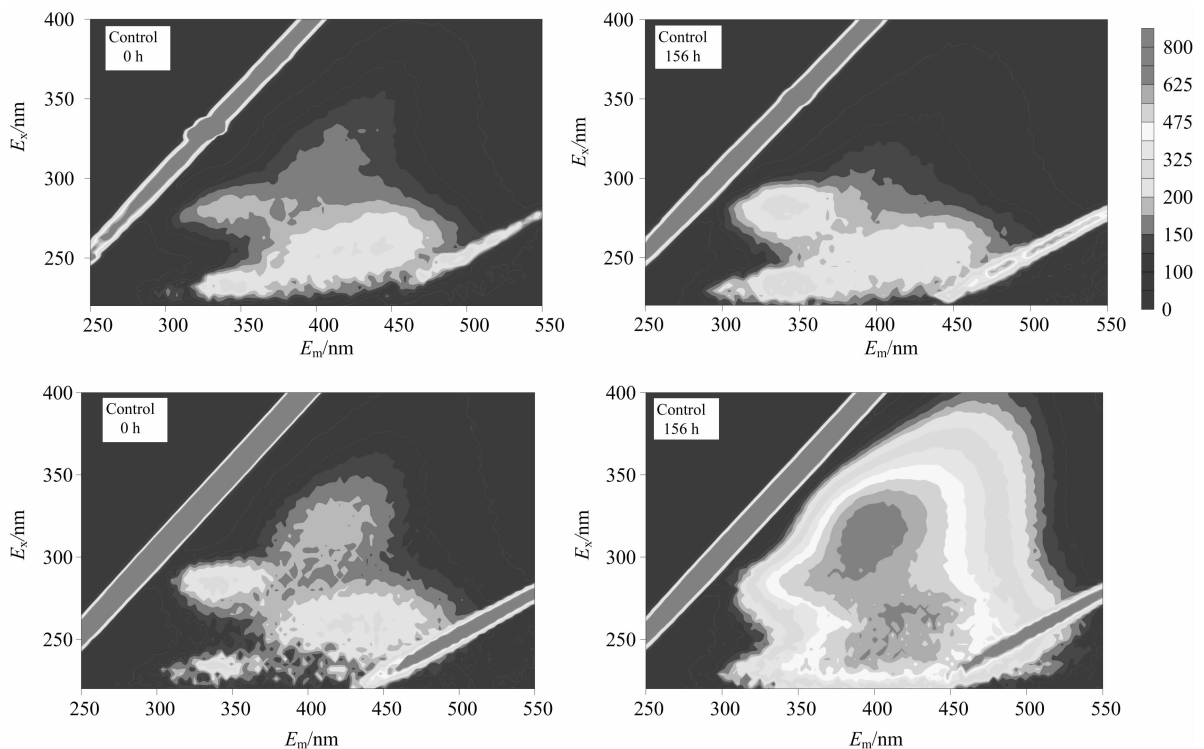


Fig. 1 CDOM EEMs at 0 and 156 h in incubation and control experiments

采用 PARAFAC 得出 4 个 CDOM 组分,激发/发射光谱和轮廓图如图 2 所示。 $C_1$  位于  $E_x/E_m=268\sim271$  (358~361) nm/442~463 nm,  $C_2$  位于  $E_x/E_m=310\sim319$  nm/388~397 nm,  $C_3$  位于  $E_x/E_m=274\sim277$  nm/298~301 nm,  $C_4$  位于  $E_x/E_m=280\sim286$  nm/331~340 nm。与 Coble (1996)划分的荧光峰<sup>[15]</sup>比较发现,它们的位置分别与类腐殖酸荧光峰 A(C), M 和类蛋白荧光峰 B 和 T 较为接近。说明  $C_1$ ,  $C_2$ ,  $C_3$  和  $C_4$  可能分别与荧光峰 A(C), M, B 和 T 有

关。对各组分进行分析,见图 3 和图 4。对照实验中  $C_1$  下降了 34.3%,而  $C_2$ ,  $C_3$  和  $C_4$  变化较小。由于类腐殖酸类物质较难被微生物降解,因此光漂白作用可能是  $C_1$  明显减少的主要原因。在培养实验中,各组分明显增加。 $C_1$  和  $C_2$  分别增加了 211.5%和 255.8%;  $C_3$  和  $C_4$  分别增加了 75.3%和 129.3%。不难看出  $C_1$  和  $C_2$  比  $C_3$  和  $C_4$  增加幅度更明显,证明刚毛藻的生长可以引起 CDOM 尤其是类腐殖酸类物质的显著增加。

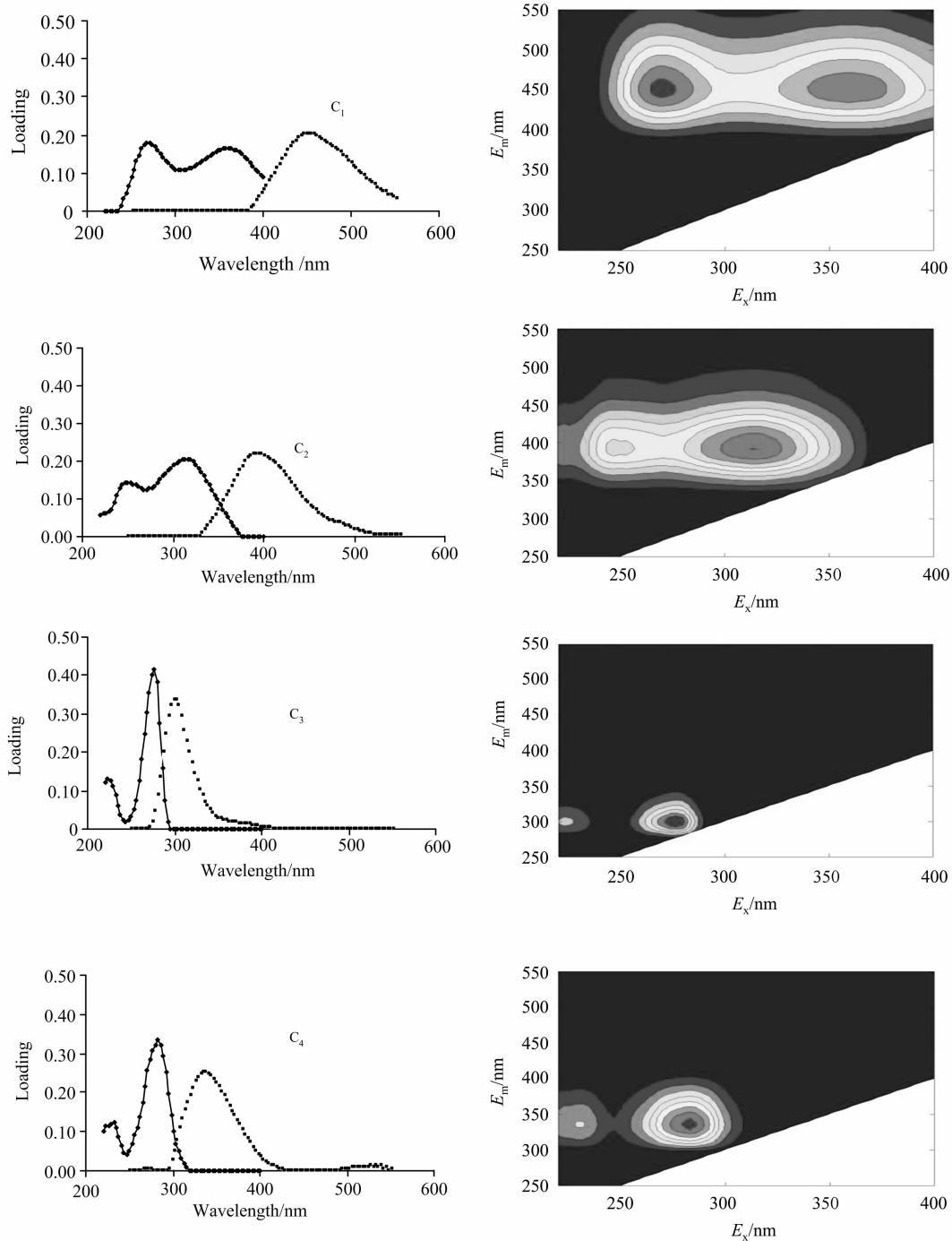


Fig. 2 Excitation (solid lines), emission (dotted lines) loadings and contour plots (right) of  $C_1$ ,  $C_2$ ,  $C_3$ ,  $C_4$

## 2.2 紫外-可见吸收光谱的变化

如图 5 所示, 在对照实验中  $a(355)$  值在前 48 h 明显减少。156 h 后,  $a(355)$  值由  $4.83 \text{ m}^{-1}$  降为  $1.95 \text{ m}^{-1}$ , 比实验初期降低了 59.8%。自然界的 CDOM 容易发生光降解和微生物降解。在天然日光辐照下河口区 CDOM 能够发生明显的光化学降解<sup>[16]</sup>; 不同来源的 CDOM 在被细菌降解之后, 其光学特性也会发生变化<sup>[17]</sup>。因此对照实验  $a(355)$  明显减少很可能是太阳光和微生物的联合降解导致。培养实验中,  $a(355)$  值在前 60 h 变化不明显, 随后出现了明显的增长,

156 h 后由  $6.45 \text{ m}^{-1}$  上升至  $12.43 \text{ m}^{-1}$ , 增加了 92.9%。Shigeki 等指出大型藻释放的多聚糖胞外分泌物是 CDOM 生产的重要物质基础<sup>[18]</sup>。因此培养实验中尽管存在降解作用, 刚毛藻的生长过程依然会引起 CDOM 的增加。

$M$  值是衡量 CDOM 分子量大小的一个指标, 与分子量大小成反比。如图 6 所示, 两实验中  $M$  值均高于实验初期, 反映出对照和培养实验中 CDOM 的分子量变小, 这可能是由于前面提到的降解作用使大分子 CDOM 向小分子转化。对照实验中  $M$  值平均值为 11.83, 远高于培养实验的 6.55。

尽管存在降解作用,与对照实验相比,培养实验中可能有高分子量的 CDOM 的补充。 $S$  值是表征 CDOM 组成和来源的重要指标,可以反映 CDOM 的芳香程度以及富里酸和腐殖酸的比例。强芳香性会导致  $S$  值降低。有研究认为,大型藻代谢过程中可以产生多酚类芳香性化合物<sup>[19, 20]</sup>,从而导致  $S$  值偏低。实验中  $S$  值变化如图 7。培养实验的  $S$  值始终低于对照实验。对照实验中  $S$  值在  $0.015 \sim 0.025 \text{ nm}^{-1}$  之间,平均值为  $0.021 \text{ nm}^{-1}$ 。培养实验中  $S$  值在  $0.015 \sim 0.020 \text{ nm}^{-1}$  之间,平均值为  $0.018 \text{ nm}^{-1}$ 。这说明刚毛藻在生长过程中可能会产生具有较强芳香性的 CDOM。

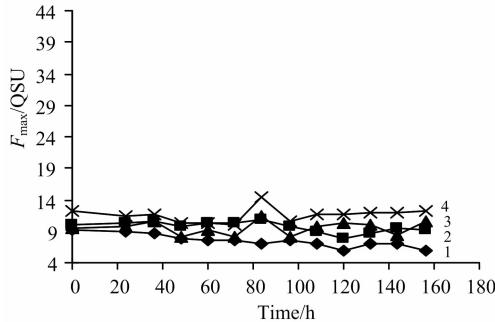


Fig. 3 Changes in fluorescence intensity of components in control experiments  
1: C<sub>1</sub>; 2: C<sub>2</sub>; 3: C<sub>3</sub>; 4: C<sub>4</sub>

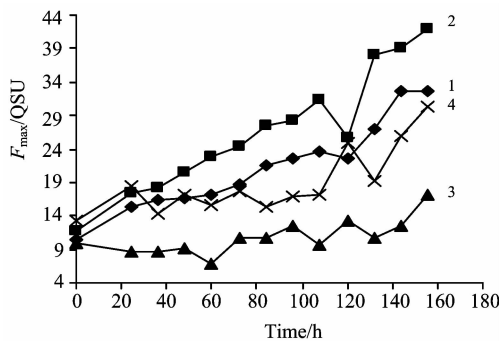


Fig. 4 Changes in fluorescence intensity of components in incubation experiments  
1: C<sub>1</sub>; 2: C<sub>2</sub>; 3: C<sub>3</sub>; 4: C<sub>4</sub>

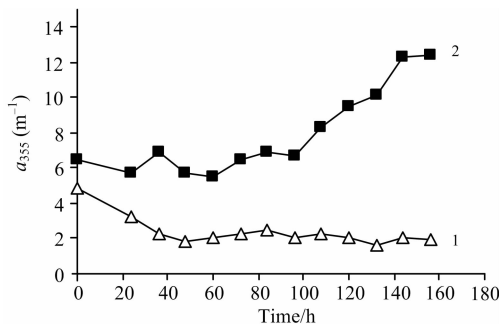


Fig. 5 Changes in  $a(355)$  in incubation and control experiments  
1: Incubation; 2: Control

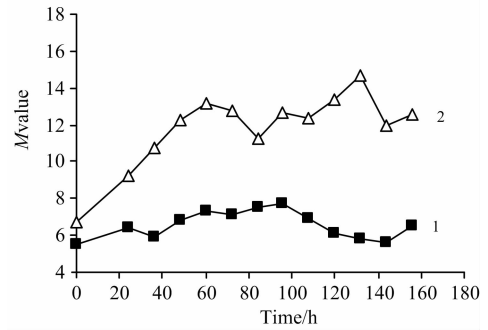


Fig. 6 Changes in  $M$  value between in incubation and control experiments  
1: Incubation; 2: Control

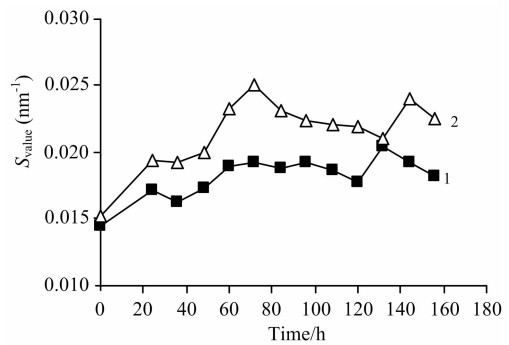


Fig. 7 Changes in  $S$  value between in incubation and control experiments  
1: Incubation; 2: Control

### 2.3 $a(355)$ 与 4 组分之间的相关性分析

对  $a(355)$  和 4 组分进行相关性分析。见表 1。在对照实验中 4 组分中只有  $C_1$  与  $a(355)$  显著正相关 ( $P < 0.05$ )。说明  $C_1$  可以一定程度上表征北湖采集水中  $a(355)$  的变化,而其他组分与  $a(355)$  的关系较弱。在培养实验中,4 组分与  $a(355)$  之间都存在着显著正相关 ( $P < 0.01$ )。说明刚毛藻的存在可以引起  $a(355)$  和荧光组分之间关系的变化,而在这个过程中各组分的来源很可能是同源的,并且与刚毛藻的生长过程密切相关。因此可以预见,刚毛藻暴发过程会改变北湖中 CDOM 的来源和组分,从而对北湖生态系统功能产生影响。

Table 1 Correlation between  $a(355)$  and four components

	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>
$a(355)$ (control)	0.681*	0.361	0.09	0.202
$a(355)$ (incubation)	0.902**	0.848**	0.774**	0.859**

注: \* 在 0.05 水平上呈显著相关(双尾检验),  $n=13$ ; \*\* 在 0.01 水平上呈显著相关(双尾检验),  $n=13$

## 3 结论

(1) 利用 PARAFAC 得到的 4 个组分  $C_1$ ,  $C_2$ ,  $C_3$  和  $C_4$  分别与类腐殖酸荧光峰  $A(C)$ 、 $M$  和类蛋白荧光峰  $B$ 、 $T$  有关。培养实验中各组分、荧光峰和吸收系数  $a(355)$  都明显增

加且均高于对照实验。说明刚毛藻生长过程可以引起 CDOM 的增加。

(2)在刚毛藻生长过程中可能有大分子和较强芳香性的 CDOM 的产生。

(3)刚毛藻可以引起北湖水体中  $a(355)$  和荧光组分之间关系的变化,而各组分的来源很可能是同源的,并且与刚毛藻的生长过程密切相关。

### 参 考 文 献

- [1] Hunt A P, Parry J D, Hamilton J. *Limnology and Oceanography*, 2000, 45: 237.
- [2] Vodacek A, Blough N V, Degrandpre M D. *Limnology and Oceanography*, 1997, 42: 67.
- [3] Corin N, Backlund P, Wiklund T. *Chemosphere*, 1998, 36: 1947.
- [4] Moran M A, Zepp R G. *Limnology and Oceanography*, 1997, 42: 1317.
- [5] Arrigo K R, Brown C W. *Marine Ecology-Progress Series*, 1996, 140: 207.
- [6] Gao H, Zepp R G. *Environmental Science and Technology*, 1998, 32(9): 2940.
- [7] Coble P G. *Chemical Reviews*, 2007, 107: 402.
- [8] ZHAO Wei-hong, WANG Jiang-tao, CUI Xin, et al(赵卫红, 王江涛, 崔 鑫, 等). *High Technology Letters(高技术通讯)*, 2006, 16(4): 425.
- [9] Rochelle-Newall E J, Fisher T R. *Marine Chemistry*, 2002, 77: 7.
- [10] ZHUO Peng-ji, ZHAO Wei-hong(褚鹏基, 赵卫红). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2009, 29(5): 1349.
- [11] ZHU Xiao-min, HUANG Qing-hui, LI Jian-hua(朱晓敏, 黄清辉, 李建华). *Chinese Environmental Science(中国环境科学)*, 2009, 29(4): 68.
- [12] Stedmon C A, Markager S. *Limnology and Oceanography*, 2005, 50(2): 686.
- [13] Murphy K R, Stedmon C A, Waite T. *Marine Chemistry*, 2008, 108: 40.
- [14] LI Hong-bin, LIU Wen-qing, ZHANG Yu-jun, et al(李宏斌, 刘文清, 张玉钧, 等). *Journal of Atmospheric and Environmental Optics(大气与环境光学学报)*, 2006, 1(3): 216.
- [15] Coble P G. *Marine Chemistry*, 1996, 51: 325.
- [16] GUO Wei-dong, CHENG Yuan-yue(郭卫东, 程远月). *Environmental Science(环境科学)*, 2008, 29(6): 4641.
- [17] Boyd T J, Osburn C L. *Marine Chemistry*, 2004, 89: 189.
- [18] Shigeiki W, Masakazu A, Yasutaka T, et al. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2007, 349: 344.
- [19] Shibata T, Hama Y, Miyasaki T, et al. *Journal of Applied Phycology*. 2006, 18: 787.
- [20] Swanson A K, Druehl L D. *Aquatic Botany*, 2002, 73: 241.

## Spectral Characteristics Variations of Chromophoric Dissolved Organic Matter During Growth of Filamentous Green Macroalgae

JIANG De-gang, HUANG Qing-hui\*, LI Jian-hua

Key Laboratory of Yangtze River Water Environment of Ministry of Education, College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200092, China

**Abstract** As an important component of dissolved organic matter (DOM), chromophoric dissolved organic matter (CDOM) plays a central role in the global biogeochemical carbon cycle. Macroalgae are essential producers in aquatic ecosystems. They can release a considerable part of photosynthetic products as CDOM. So changes in optical properties of CDOM are studied on filamentous green macroalgae-*Chadophorasle* found in tidal flats of a brackish Lake Beihu in natural field condition by using spectrometry. Humic-like fluorescence peaks and protein-like fluorescence peaks detected by fluorescence excitation-emission matrix spectrum (EEMS) change little in control experiment but increase dramatically in incubation experiment. Applying parallel factor analysis (PARAFAC) together with fluorescence excitation-emission matrix can get four components of CDOM ( $C_1$ ,  $C_2$ ,  $C_3$  and  $C_4$ ) which are relative to humic-like fluorescence peak  $A(C)$ ,  $M$  and protein-like fluorescence peak  $B$ ,  $T$  respectively. In incubation experiment four components increase by 211.5%, 255.8%, 75.3% and 129.3% respectively while in control experiment components have little changes except  $C_1$  decreasing by 34.3%. Absorption coefficient  $a(355)$  increases by 92.9% and has positive significant correlation ( $P < 0.01$ ) with the four components in incubation experiment while  $a(355)$  decreases by 59.8% and only has correlation ( $P < 0.05$ ) with  $C_1$  in control experiment. As the parameters representing CDOM molecular weight and composition,  $M$  and  $S$  values in incubation experiment are smaller than in control experiment, which illustrate that aromatic and macromolecular CDOM is produced in growth of *Chadophorasle*. All results indicate that growth of *Chadophorasle* can change the content and composition of CDOM.

**Keywords** Chromophoric dissolved organic matter; Filamentous green macroalgae; Fluorescence excitation-emission matrix spectrum; Parallel factor analysis

(Received Sep. 12, 2009; accepted Dec. 16, 2009)

\* Corresponding author