

胶州湾围隔实验中溶解有机物三维荧光特征

任保卫^{1,2}, 赵卫红^{1*}, 王江涛³, 邹景忠¹, 韩笑天¹, 王璐^{1,3}, 刘亚林^{1,3}

(1. 中国科学院海洋研究所海洋生态与环境科学重点实验室, 青岛 266071; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049; 3. 中国海洋大学海洋化学理论与工程技术教育部重点实验室, 青岛 266003)

摘要: 利用三维荧光激发发射矩阵光谱法(EEMS), 测定胶州湾围隔实验中不同营养盐条件下产生的溶解有机物的三维荧光特性. 结果显示, 浮游植物可产生类蛋白和类腐殖质荧光, 类蛋白荧光峰由类酪氨酸(tyrosine-like)荧光峰和类色氨酸(tryptophan-like)荧光峰组成, 主要位置为 $E_{x_{\max}}/E_{m_{\max}} = 270 \text{ nm}/290 \sim 310 \text{ nm}$, $E_{x_{\max}}/E_{m_{\max}} = 270 \sim 290 \text{ nm}/320 \sim 350 \text{ nm}$ 的荧光峰强度比较弱; 在 $E_{x_{\max}}/E_{m_{\max}} = 250 \sim 260 \text{ nm}/380 \sim 480 \text{ nm}$ (A 峰)、 $E_{x_{\max}}/E_{m_{\max}} = 310 \sim 320 \text{ nm}/380 \sim 420 \text{ nm}$ (C 峰)和 $E_{x_{\max}}/E_{m_{\max}} = 330 \sim 350 \text{ nm}/420 \sim 480 \text{ nm}$ (M 峰)位置均出现零散的类腐殖质荧光峰, 其中以 A 峰为主. 类酪氨酸荧光强度明显高于类腐殖质荧光强度. 浮游植物量降低时, 类酪氨酸荧光强度与叶绿素 a 浓度呈明显的负相关. 硅藻和甲藻产生的类酪氨酸和类色氨酸荧光强度之间具有较好的相关性, 两者来源相似, 并且甲藻与硅藻相比能够产生更多的类蛋白荧光物质. 不同环境下类腐殖质混合物的组分比例不同, 甲藻生长环境下相对于硅藻具有较低的 A/C 比值.

关键词: 围隔实验; 溶解有机物; 三维荧光激发-发射矩阵光谱

中图分类号: X55 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2007)04-0712-07

Three-Dimensional Fluorescence Characteristic of Dissolved Organic Matter in Marine Mesocosm Experiment in Jiaozhou Bay, China

REN Bao-wei^{1,2}, ZHAO Wei-hong¹, WANG Jiang-tao³, ZOU Jing-zhong¹, HAN Xiao-tian¹, WANG Lu^{1,3}, LIU Ya-lin^{1,3}

(1. Key Laboratory of Marine Ecology & Environmental Sciences, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Key laboratory of Marine Chemistry Theory and Technology, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: The three-dimensional fluorescence of dissolved organic matter in the mesocosm with different nutrients enrichment experiments in Jiaozhou Bay was determined by using excitation-emission matrix spectrum. The result indicates that phytoplankton can produce protein-like and humic-like fluorescent matter. The protein-like fluorescence is composed of tyrosine-like fluorescence and tryptophan-like fluorescence. The main position of protein-like fluorescent peak is $E_{x_{\max}}/E_{m_{\max}} = 270 \text{ nm}/290 \sim 310 \text{ nm}$. The fluorescent intensity of the peak located in $E_{x_{\max}}/E_{m_{\max}} = 270 \sim 290 \text{ nm}/320 \sim 350 \text{ nm}$ is less. The centers of humic-like peaks disperse at $E_{x_{\max}}/E_{m_{\max}} = 250 \sim 260 \text{ nm}/380 \sim 480 \text{ nm}$ (Peak A), $E_{x_{\max}}/E_{m_{\max}} = 310 \sim 320 \text{ nm}/380 \sim 420 \text{ nm}$ (Peak C) and $E_{x_{\max}}/E_{m_{\max}} = 330 \sim 350 \text{ nm}/420 \sim 480 \text{ nm}$ (Peak M) in which peak A is the main peak. The fluorescent intensity of tyrosine-like matter is stronger than the intensity of humic-like matter. When the amount of phytoplankton decreased, the fluorescent intensity of tyrosine-like matter has negative relativity with the chlorophyll-a concentration. Tyrosine-like matter and tryptophan-like matter have similar origin. Dinoflagellate can produce more protein-like fluorescent matter than diatom. The composition ratios of humic-like mixture are different in different environment. And it has a small A/C value in dinoflagellate environment compared to diatom environment.

Key words: mesocosm experiment; dissolved organic matter; three-dimensional fluorescence excitation-emission matrix spectrum (EEMS)

海洋溶解有机物是海洋有机碳的重要组成部分^[1], 在研究全球碳循环中占有不可替代的一席. 其中一部分溶解有机物能够吸收光并发射荧光, 这类物质被称为荧光溶解有机物, 可作为研究有机碳动力学的示踪剂, 用于评价海洋初级生产力、研究生物活性、研究沿岸水域光学特性、评价海洋沉积来源指标、预测赤潮发生、研究海水表层有机物光降解过程等方面. 荧光溶解有机物来源广泛, 主要可以分为 2 种: 海洋外部来源和海洋自身来源, 外部来源具体有江河携带入海^[2,3]和降雨及降雪输入^[4]; 海洋自身来

源有海洋浮游动植物有机体光降解^[5~7]、细菌降解^[8]、海洋沉积间隙水^[9~11]、浮游动物、浮游植物和浮游细菌细胞渗漏等^[4,12,13].

溶解有机物荧光特性与海洋浮游植物关系密

收稿日期: 2006-06-18; 修订日期: 2006-08-21

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863)项目(2006AA09Z180, 2004AA639790); 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2001CB409701); 国家自然科学基金项目(40376040); 青岛市自然科学基金项目(04-2-JZ-88)

作者简介: 任保卫(1981~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为海洋化学, E-mail: renbaowei@ms.qdio.ac.cn

* 通讯联系人, E-mail: whzhao@ms.qdio.ac.cn

切. Matthews 等研究指出蛋白质荧光与表层海水浮游生物活动直接相关^[14]. 浮游植物和细菌应该是海水中溶解态蛋白质的主要来源^[15]. 在一些河口地区发现溶解有机物中类蛋白荧光与叶绿素 a 含量既有正相关也有负相关^[13]. 在发生赤潮的水体中往往发现具有较强的类蛋白荧光^[16,17], 荧光物质在整体上与叶绿素 a 呈正相关关系^[17]. 实验室微藻培养实验发现微藻生产过程中的溶解有机物会产生类蛋白荧光^[18,19]和类腐殖质荧光, 荧光强度在指数生长期与藻细胞密度成正比, 而在衰亡期成反比^[19].

荧光光谱分析具有灵敏度高, 选择性好, 且不破坏样品结构的优点^[20]. 三维荧光激发发射矩阵光谱比起普通的荧光光谱能够获得激发波长和发射波长同时变化时的荧光强度信息, 可对多组分复杂体系中荧光光谱重叠的对象进行光谱识别和表征, 是 1 种很有用的光谱指纹技术^[10,20~22]. 海水荧光溶解有机物主要包括类蛋白和类腐殖质, 类蛋白荧光主要来源于水体中游离或结合态的酪氨酸和色氨酸^[23], 利用三维荧光法常测出的类腐殖质荧光主要包括 A、C 和 M 共 3 个荧光峰^[1, 20~22], A 峰为紫外区类腐殖质, C 峰为可见光区类腐殖质, M 峰为海洋类腐殖质. 荧光物质由于来源、组成等因素不同荧光峰位置也有所不同. 围隔实验是利用围隔装置把海水隔离, 创造 1 个微环境, 可以根据实验要求在围隔袋子中添加其他物质, 而其他性质却没有改变, 并且可以现场操作^[24,25]. 国内已有一些关于海洋荧光溶解有机物^[6, 10, 11, 15, 17, 19, 20, 22, 26~29]和围隔生态实验^[24,25]等方面的研究, 但是利用围隔实验手段研究海洋浮游植物产生的荧光溶解有机物得研究还未见报道.

1 材料与方法

1.1 样品采集

实验地点选取山东省青岛市中苑码头, 时间为 2005-09-17 ~ 2005-09-28. 根据实验要求设计了 4 个围隔袋子, 形状与李瑞香等所报道的围隔袋相似^[24], 编号 I、II、III、IV, 实验周期为 11 d, 袋子用双层聚乙烯塑料薄膜做成, 容积约为 4×10^3 L, 放在码头桥墩旁边, 围隔袋子敞口放置, 开口高出海面约 20 cm, 用绳子固定. I 号袋子为对照样, 添加的是原海水; II 号袋子针对甲藻在海水里添加 N, P 营养盐; III 号袋子针对硅藻在海水里添加 N, P, Si 营养盐; IV 号袋子分 3 期添加 N, P, Si 营养盐, 并在实验中期加入夜光藻, 隔天加入饵料扁藻. 具体添加方案如表 1 所示.

表 1 营养盐添加方案

编号 时间		N / $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	P / $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	Si / $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	夜光藻	扁藻
I	第 1 d	0	0	0	—	—
II	第 1 d	50	3.13	0	—	—
III	第 1 d	50	3.13	50	—	—
	第 1 d	16.67	1.04	16.67	—	—
	第 5 d	16.67	1.04	16.67	—	—
IV	第 8 d	16.67	1.04	16.67	—	—
	第 6 d	—	—	—	2 ~ 4 个/L	—
	第 7 d	—	—	—	—	35 ~ 70 个/L

1.2 取样和分析方法

每天下午 16:00 左右定时用塑料桶现场取样, 立即避光带到实验室^[30]用直径 $\phi = 25$ mm 的 GF/F 玻璃纤维膜(Whatman, U. K., 预先于 450℃ 灼烧 4 h) 低压抽滤 100 mL, 滤液于棕色玻璃瓶(450℃ 灼烧 4 h)中冷冻保存用于荧光测定^[13,21,29], 另取海水 500 mL 过滤, 保存滤膜, 利用分光光度法测定叶绿素 a 浓度. 用 HITACHI F-4500 型荧光分光光度计测溶解有机物三维荧光特性, 激发和发射波长均设为 200 ~ 500 nm, 间隔为 5 nm, PMT 电压为 700 V, 相应时间: 自动, 扫描速度为 12 000 nm/min, 荧光强度是由仪器提供的荧光单位.

实验样品荧光信号减去空白 Milli-Q 水荧光信号消除水体的 Raman 散射影响^[13,21,26,29, 30], 再用 surfer 软件作图.

2 结果与讨论

2.1 荧光峰特性

图 1 为用 Surfer 软件做的荧光激发-发射矩阵光谱等值线图, 在激发和发射最大波长 $E_{x_{\max}}/E_{m_{\max}} = 270 \text{ nm}/290 \sim 310 \text{ nm}$ 出现 1 个较强荧光峰, $E_{x_{\max}}/E_{m_{\max}} = 250 \sim 260 \text{ nm}/380 \sim 480 \text{ nm}$ (A 峰)、 $E_{x_{\max}}/E_{m_{\max}} = 310 \sim 320 \text{ nm}/380 \sim 420 \text{ nm}$ (C 峰) 和 $E_{x_{\max}}/E_{m_{\max}} = 330 \sim 350 \text{ nm}/420 \sim 480 \text{ nm}$ (M 峰) 出现零散的荧光峰, $E_{x_{\max}}/E_{m_{\max}} = 270 \sim 290 \text{ nm}/320 \sim 350 \text{ nm}$ 出现较弱的荧光峰, 实验中主要含有类酪氨酸、类色氨酸和类腐殖质荧光物质, I 号袋子中能明显观察到类酪氨酸荧光峰从无到有并逐渐增强, 类色氨酸荧光由于强度比较弱而没有明显显示, 类腐殖质荧光只有在个别袋子中很明显. II 号袋子中能明显观察到类腐殖质和类酪氨酸荧光, 类酪氨酸荧光强度逐渐增强, 类腐殖质荧光增加缓慢. III 号袋子与 II 号袋子相比类腐殖质荧光比较弱, 有的 3 种峰都没有

显示,类酪氨酸荧光明显,并逐渐增强.Ⅳ号袋子类腐殖质荧光前期变化不明显,在最后2次取样中明显观察到类腐殖质荧光,类酪氨酸荧光能观察到,某些图中能观察出类色氨酸荧光,强度不大,荧光峰被类酪氨酸荧光峰覆盖.谱图中都能观察到类腐殖质A峰,C峰和M峰存在,但不连续,平均荧光强度也没有A峰高.类蛋白荧光峰位置变化见表2,而标准酪氨酸和色氨酸的荧光峰位置如表3所示^[13].由表2和表3可以看出,类蛋白荧光峰的位置有稍微变化,实验所测类酪氨酸的发射波长位置与标准酪氨酸相比范围稍微大些,发射波长达到290 nm,比标准少了10 nm;实验所测类色氨酸的荧光峰位置与标准色氨酸相比相差比较大,发射波长处于315~365 nm,而标准色氨酸的发射波长位于340~350 nm,激发波长也高于标准色氨酸.类腐殖质荧光峰位置与文献所报道的位置相比变化不大^[21,31].

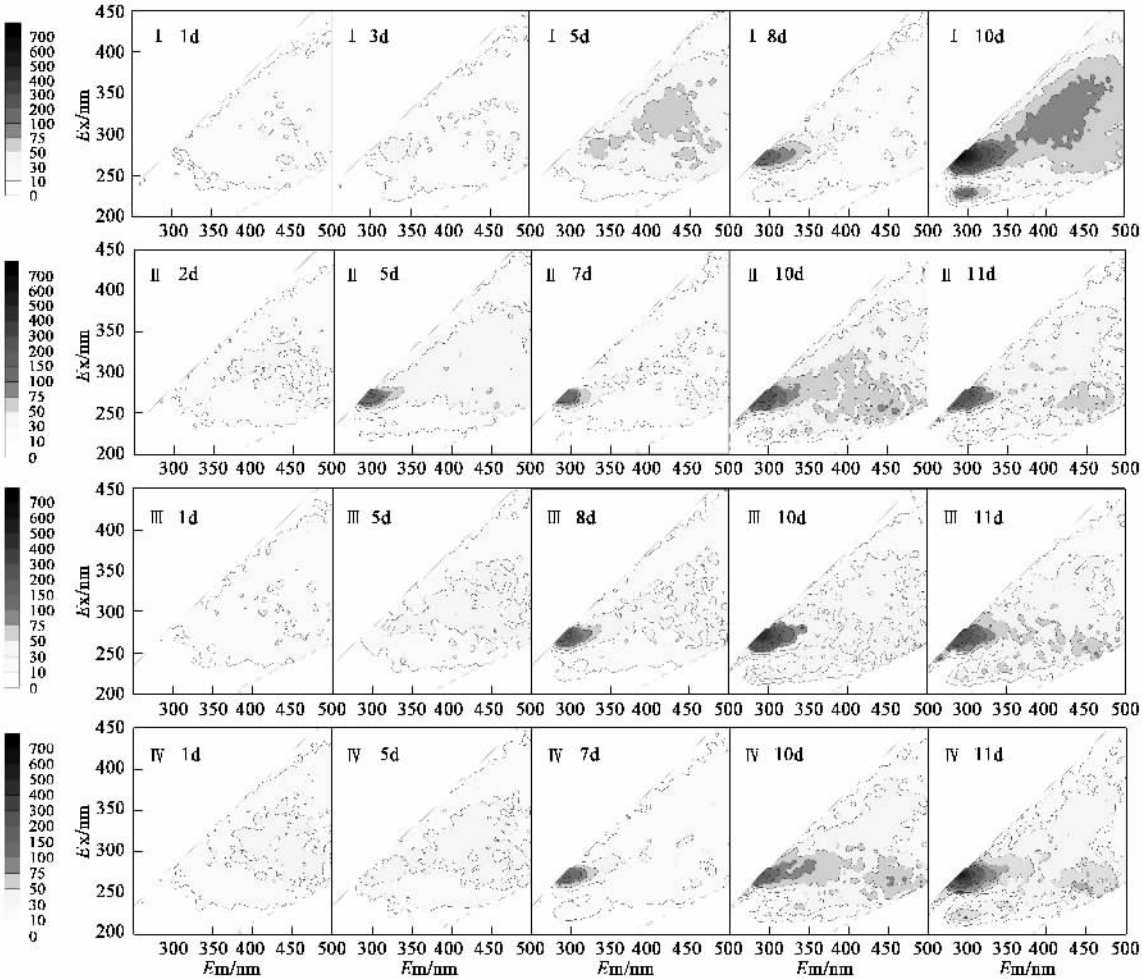
类酪氨酸高激发波长处荧光强度显著,发射波

长处 在 290 nm 左右,比文献报导的略微蓝移, Sierra 等曾报道荧光物质蓝移和红移与每一物质的相对丰度有很大关联^[16],实验中类酪氨酸含量明显最大,丰度最大,吸收了大部分能量,释放的能量增大,波长降低.

在实验前期,类蛋白荧光不明显甚至根本观察不到,浮游植物没有产生类蛋白荧光物质或者对类蛋白荧光物质的吸收大于释放,在后期,浮游植物生长到一定程度,开始释放出大量类蛋白荧光,部分衰老和死亡细胞的破碎降解可能是水体中类蛋白荧光物质的1个重要来源,以至于类蛋白荧光强度逐渐增强.

2.2 浮游植物变化

图2中的叶绿素a浓度变化显示,在开始阶段,叶绿素a浓度缓慢增加,然后迅速增大到最大值后开始降低,浮游植物可能消耗完水体中的营养成分细胞开始破裂,或者是由于生物降解和光降解等因



图中Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ表示的围隔袋编号

图1 不同围隔袋子中溶解有机物的激发发射矩阵光谱图随时间的变化

Fig.1 Change of EEMS of dissolved organic matter in different mesocosm bags with time

表 2 类酪氨酸和类色氨酸荧光峰位置

Table 2 Fluorescent peak position of tryptophan-like matter and tyrosine-like matter			
种类	$E_{x_{max}}/nm$	$E_{x_{max}}/nm$	$E_{m_{max}}/nm$
类酪氨酸	220 ~ 230	265 ~ 285	290 ~ 310
类色氨酸	225 ~ 250	270 ~ 290	315 ~ 365

表 3 标准氨基酸荧光峰的激发和发射波长

Table 3 Fluorescent peak position of standard tyrosine and tryptophan			
氨基酸	$E_{x_{max}}/nm$	$E_{x_{max}}/nm$	$E_{m_{max}}/nm$
酪氨酸	220 ~ 230	270 ~ 280	300 ~ 310
色氨酸	200 ~ 230	270 ~ 280	340 ~ 350

素造成.Ⅲ号袋和Ⅳ号袋叶绿素 a 浓度含量明显高于对照组Ⅰ号袋和Ⅱ号袋,后来又开始增大.通过观察浮游植物,发现硅藻按预定要求生长,但在Ⅱ号袋中并没有发现甲藻,其浮游植物和对照组相似.Ⅲ号袋和Ⅳ号袋表明分期加入营养盐和 1 次加入营养盐,两者的浮游植物生长情况相似,一次性添加全部营养盐,浮游植物在开始阶段含量比较高.

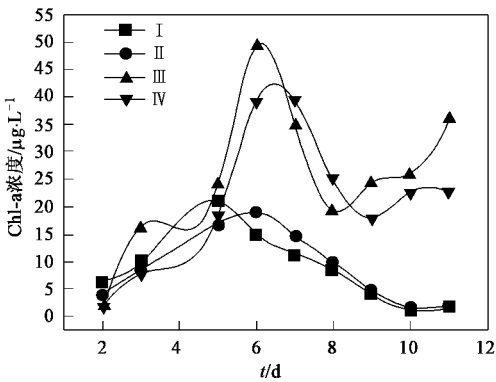


图 2 叶绿素 a 浓度随时间变化趋势

Fig.2 Trend of chlorophyll-a concentration along with the time

2.3 主要荧光物质变化趋势

由图 3 可知,培养体系中主要含有类酪氨酸,类色氨酸和类腐殖质,图 3 显示类酪氨酸的高激发波长最大荧光强度远大于类色氨酸和类腐殖质荧光强度,4 个袋子中类酪氨酸高激发波长最大荧光强度分别是类腐殖质 A 峰荧光强度的 5.68、6.77、5.23 和 7.34 倍.Ⅲ号袋中类酪氨酸荧光强度明显大于Ⅱ号袋,叶绿素 a 含量也表示出Ⅲ号袋高于Ⅱ号袋,原因可能是硅藻能够产生比较多的类酪氨酸荧光物质.表 4 显示的是浮游植物进入消亡期时类蛋白荧光强度与叶绿素 a 的线性相关性,全部为负相关,类蛋白随着叶绿素 a 的降低而增加,与 Petersen 报道的

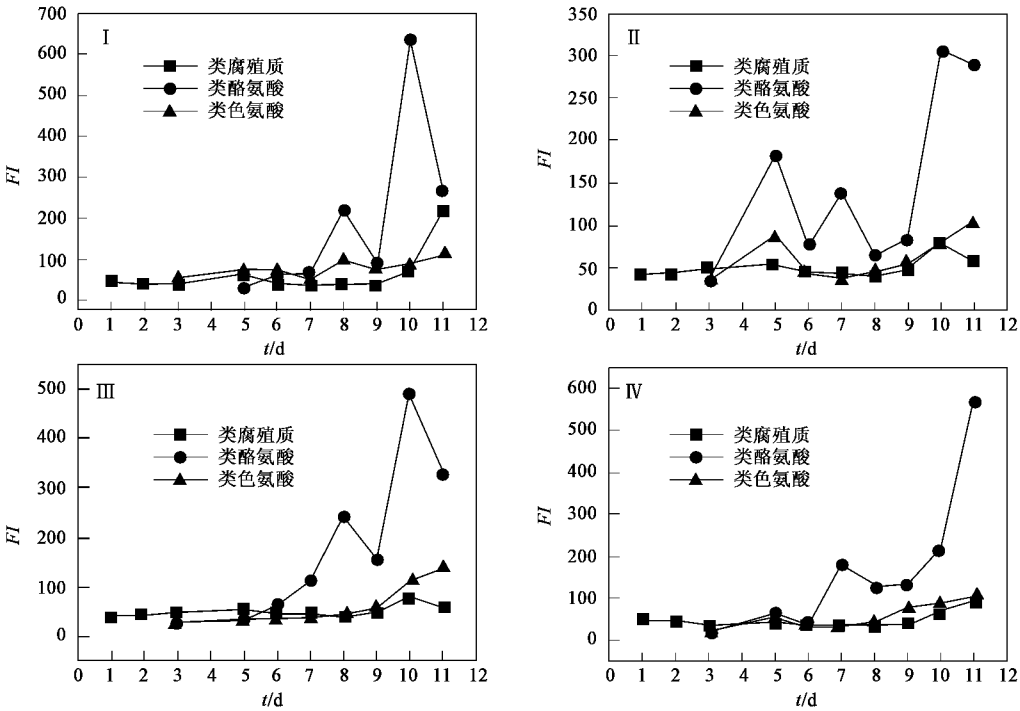
衰老和死亡细胞的破碎降解是溶解有机物类蛋白荧光的一个重要来源相吻合^[18]. Mopper 等曾指出类蛋白荧光和类腐殖质荧光分别代表新生和老化的溶解有机物^[32],类酪氨酸荧光强度大说明在实验期间围隔袋子中的荧光溶解有机物主要为新生物质,由浮游植物析出和降解产生,荧光溶解有机物主要是类酪氨酸.Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ号袋中的类酪氨酸荧光强度均在第 6 d 开始就迅速增大,比对照样提前了 1 d,如图 1 和图 3 所示,这 3 个围隔袋中均加营养盐,浮游植物量高于对照样Ⅰ号袋(见图 2),说明了浮游植物对荧光物质尤其类蛋白荧光物质的产生起着重要作用,类蛋白荧光物质主要是些新生物质.另外 Wu 等曾指出不同粒径的有机质具有不同的荧光特征,粒径小的有机质具有类腐殖质荧光,而粒径大的具有类蛋白荧光,有机质的降解能产生类腐殖质荧光物质^[28,33].而本实验的实验周期比较短,有机质还未进行充分的光降解和生物降解,存在于围隔袋中类腐殖质主要为海水中本有的腐殖质,从图 3 也可以明显看出,3 种培养体系中的类腐殖质荧光强度 and 对照体系Ⅰ号袋子中的类腐殖质荧光强度大小和变化类似.所以类腐殖质荧光强度比较小并且变化不大.实验后期由于浮游植物的降解等因素,类腐殖质荧光强度逐渐增大(见图 3).

表 4 类蛋白最大荧光强度与叶绿素 a 含量的线性相关性

Table 4 Linear relativity between content of chlorophyll-a and the max fluorescent intensity of protein-like				
编号	类酪氨酸		类色氨酸	
	R	p	R	p
Ⅰ	-0.695 2	0.082 9	-0.471 1	0.285 9
Ⅱ	-0.690 7	0.128 7	-0.782 2	0.066 0
Ⅲ	-0.475 4	0.340 6	-0.117 8	0.824 1
Ⅳ	-0.377 8	0.460 2	-0.783 8	0.065 0

2.4 类蛋白同源分析

单一荧光物质高激发波长处荧光强度和低激发波长处荧光强度具有很好的相关性, Determann 等曾发现浮游植物体的高和低激发波长类蛋白荧光峰存在一定的相关性^[34]. 本实验是在围隔袋子中进行, 外界环境因素影响较小, 生物因素占主要, 类酪氨酸和类色氨酸的相关性都很好, 如表 5 所示, 类酪氨酸相关系数平均值达到 0.972, 类色氨酸的相关系数最大也达到 0.916, 说明类酪氨酸来源于同一类物质, 由相同或者相似荧光团产生, 类色氨酸相关系数变化较大, 可能由 1 种占主要的荧光团产生. 由图 3 可知, 类酪氨酸荧光强度远大于类色氨酸荧光强度, 由荧光共振能量转移和荧光量子产率可知, 围隔中



类腐殖质选取的是 A 峰最大荧光强度,类酪氨酸和类色氨酸选取的是高激发波长最大荧光强度

图 3 围隔袋中荧光物质最大荧光强度随时间变化趋势

Fig.3 Trend of the max fluorescence intensity of fluorescent matter along with the time in all bags

类酪氨酸和类色氨酸来源于不同物质.文献[13,23]曾报道海洋溶解有机物的类酪氨酸荧光只能来源于酪氨酸单体或只含酪氨酸而不含色氨酸的蛋白质,海洋浮游植物和细菌体内蛋白质只能呈现明显的类色氨酸荧光^[28],类酪氨酸和类色氨酸荧光分别来源于水体中不同的蛋白质分子.由表 6 可知,类酪氨酸和类色氨酸高激发波长处的荧光强度相关性不是很明显,尤其是对照组,相关系数小于 0.5 ($p = 0.2878$),硅藻和甲藻袋子中类酪氨酸和类色氨酸相关性良好,说明类酪氨酸荧光和类色氨酸荧光有一定的关系,但关系不大.Mayer 等报道腐殖质荧光可影响蛋白质荧光^[13],由荧光物质谱图位置可知,A 峰和类色氨酸荧光峰最接近,表 7 显示的是类色氨酸高激发波长荧光强度和类腐殖质 A 峰荧光强度的相关性,两者存在正相关,Ⅲ号袋子的相关性很好,其他袋子的相关系数也都大于 0.5,表明不同环境下这 2 种荧光关系不同^[13],有的相对独立,而有的关系密切,并且 Mopper 等也曾指出类蛋白荧光和类腐殖质荧光分别代表新生和老化的溶解有机物^[32],类腐殖质由类蛋白荧光物质降解而成,之间具有一定的联系,因此相关系数均大于 0.5.

2.5 腐殖质不同类型峰型相关性

表 5 类蛋白荧光峰高激发波长最大荧光强度和低激发波长最大荧光强度线性相关性

Table 5 Linear relativity between the fluorescent intensity at high excitation length and the one at low excitation length of protein-like matter

编号	类酪氨酸		类色氨酸	
	R	p	R	p
I	0.985 4	<0.000 1	0.834 9	0.009 9
II	0.958 3	<0.005	0.675 8	0.065 8
III	0.955 3	<0.005	0.916 5	0.001 4
IV	0.990 9	<0.000 1	0.817 9	0.013 1

表 6 类酪氨酸和类色氨酸荧光强度线性相关性

Table 6 Linear relativity of the fluorescent intensity between tyrosine-like matter and tryptophan-like matter

编号	R	p
I	0.469 5	0.287 8
II	0.849 8	0.007 5
III	0.827 6	0.021 5
IV	0.781 5	0.022 0

围隔实验中类腐殖质主要来源于水体中的腐殖质和原有物质的降解,新生物质还没有降解成腐殖质,不同类型的腐殖质之间具有很好的相关性,由表 8 可知各袋子中 A 峰,C 峰和 M 峰之间的相关性都很好,证明各类型腐殖质具有相似的荧光团,来源可

能相似,可能为海水中原有物质组成或者是相同或相似物质降解而成.

表 7 类色氨酸荧光强度和类腐殖质 A 峰荧光强度线性相关性

Table 7 Linear relativity of fluorescent intensity between tryptophan-like matter and humic-like matter		
编号	<i>R</i>	<i>P</i>
I	0.680 8	0.063 1
II	0.614 9	0.104 7
III	0.970 0	< 0.000 1
IV	0.881 7	0.003 8

表 8 不同类型腐殖质之间荧光强度线性相关性
(A/C 表示为 A 峰与 C 峰荧光强度的相关性)

Table 8 Linear relativity of fluorescent intensity of all different kinds of humic-like matter in one same bag			
编号	类型	<i>R</i>	<i>p</i>
I	A/C	0.971 9	0.001 2
	A/M	0.934 7	0.065 3
	C/M	0.994 9	0.064 3
II	A/C	0.981 3	0.003 1
	A/M	0.960 7	0.002 3
	C/M	0.970 5	0.029 6
III	A/C	0.838 7	0.161 3
	A/C	0.991 5	0.008 5
IV	A/M	0.951 7	9.59E-04
	C/M	0.978 6	0.132 1

A 峰为紫外区荧光峰,C 峰为可见区荧光峰.A 峰和 C 峰的比值的不同表明为不同的荧光团发射出类腐殖质荧光,单一的荧光团被认为是个恒定的比值^[21].不同环境下 A 峰和 C 峰的相对强度不同,I 号袋子对照组中 A 峰与 C 峰的比值平均为 0.53,II 号袋子硅藻生长环境中的比值平均为 1.29,III 号袋子为 0.78,IV 号袋子为 1.23.甲藻生长环境下 A:C 比值就明显比硅藻生长环境下 A:C 比值低.IV 号袋子分期加入 3 种营养盐,在后期又加入夜光藻和扁藻,比值也明显比 II 号袋子低.说明环境不同,类腐殖质混合物的组分比例不同,甲藻生长环境下相对于硅藻具有较低的 A:C 比值.

3 结论

在不同营养盐条件下,浮游植物可产生不同的类蛋白和类腐殖质荧光物质,各种荧光物质中类酪氨酸的荧光强度最大,类酪氨酸和类色氨酸荧光质来源相似;实验后期由于生物降解和光降解等因素,浮游植物细胞数目减少或者破裂,浮游植物量降低,类蛋白荧光强度迅速增大,与叶绿素 a 浓度呈明显

的负相关;硅藻和甲藻产生的类酪氨酸和类色氨酸之间具有较好的相关性,两者来源相似,并且甲藻与硅藻相比能够产生更多的类蛋白荧光物质;类腐殖质荧光峰以紫外区的 A 峰为主,不同类型类腐殖质荧光强度具有很好的相关性,来源相似,可能来源于海水中原有物质或者是由相同或相似物质降解而成.不同环境下类腐殖质混合物的组分比例不同,甲藻生长环境下相对于硅藻具有较低的 A:C 比值.

致谢: 非常感谢中国海洋大学化学与化工学院关哈斯高娃在样品测量过程给予的大力帮忙.

参考文献:

[1] Kowalczyk P, Stoń-Egiert J, Cooper W J, *et al.* Characterization of chromophoric dissolved organic matter (CDOM) in the Baltic Sea by excitation emission matrix fluorescence spectroscopy[J]. Mar. Chem., 2005, **96**:273 ~ 292.

[2] Del Castillo C E, Coble P G, Morell J M, *et al.* Analysis of the optical properties of the Orinoco River plume by absorption and fluorescence spectroscopy[J]. Mar. Chem., 1999, **66**:35 ~ 51.

[3] Chen R F, Bada J L. The fluorescence of dissolved organic matter in seawater[J]. Mar. Chem., 1992, **37**:191 ~ 221.

[4] Rochelle-Newall E J, Fisher T R. Production of chromophoric dissolved organic matter fluorescence in marine and estuarine environments: an investigation into the role of phytoplankton[J]. Mar. Chem., 2002, **77**:7 ~ 21.

[5] Vodacek A, Hoge F E, Swift R N, *et al.* The *in situ* and airborne fluorescence measurements to determine UV absorption coefficients and DOC concentrations in surface waters[J]. Limnol. Oceanogr., 1995, **40**:411 ~ 415.

[6] 傅平青,吴丰昌,刘从强,等. 太阳辐射对溶解有机质荧光光谱特征的影响[J]. 光谱学与光谱分析, 2005, **26**(3):471 ~ 474.

[7] Skoog A, Wedborg M, Fogelqvist E. Photobleaching of fluorescence and the organic carbon concentration in a coastal environment[J]. Mar. Chem., 1996, **55**:333 ~ 345.

[8] Nelson N B, Carlson C A, Steinberg D K. Production of chromophoric dissolved organic matter by Sargasso Sea microbes[J]. Mar. Chem., 2004, **89**:273 ~ 287.

[9] Burdige D J, Berelson W M, Coale K H, *et al.* Fluxes of dissolved organic carbon from California continental margin sediments[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 1999, **63**(10):1507 ~ 1515.

[10] 傅平青,刘从强,吴丰昌,等. 洱海沉积物孔隙水中溶解有机物质的三维荧光光谱特征[J]. 第四纪研究, 2004, **24**(6):695 ~ 700.

[11] 傅平青,吴丰昌,刘从强. 洱海沉积物间隙水中溶解有机质的地球化学特性[J]. 水科学进展, 2005, **16**(3):338 ~ 344.

[12] Hayase K, Shinozuka N. Vertical distribution of fluorescent organic matter along with AOU and nutrients in the equatorial Central Pacific [J]. Mar. Chem., 1995, **48**:283 ~ 290.

[13] Mayer L M, Schick L L, Loder T C. Dissolved protein fluorescence

- in two Maine estuaries[J]. *Mar. Chem.*, 1999, **64**: 171 ~ 179.
- [14] Matthews B J H, Jones A C, Theodorou N K, *et al.* Excitation-emission-matrix fluorescence spectroscopy applied to humic acid bands in coal reefs[J]. *Mar. Chem.*, 1996, **55**: 317 ~ 332.
- [15] 夏恩琴, 郭卫东, 胡明辉. 海洋蛋白质荧光分析法的研究进展[J]. 台湾海峡, 2004, **23**(2): 238 ~ 244.
- [16] Sierra M M D, Donard O F X, Lamotte M, *et al.* Fluorescence spectroscopy of coastal and marine waters[J]. *Mar. Chem.*, 1994, **47**: 127 ~ 144.
- [17] 季乃云, 赵卫红, 王江涛. 胶州湾赤潮暴发水体中溶解有机物质荧光特性[J]. 环境科学, 2006, **27**(2): 257 ~ 262.
- [18] Petersen H T. Determination of an *Isochrysis galbana* algal bloom by L-tryptophan fluorescence[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 1989, **20**(9): 447 ~ 451.
- [19] 赵卫红, 王江涛, 崔鑫, 等. 海洋浮游植物生长过程中溶解有机物质的三维荧光光谱研究[J]. 高技术通讯, 2006, **16**(4): 425 ~ 430.
- [20] 傅平青, 刘丛强, 尹祚莹, 等. 腐殖酸三维荧光光谱特征研究[J]. 地球化学, 2004, **33**(3): 301 ~ 308.
- [21] Coble P G. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy[J]. *Mar. Chem.*, 1996, **51**: 325 ~ 346.
- [22] 傅平青, 刘丛强, 吴丰昌. 溶解有机质的三维荧光光谱特性研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2005, **25**(12): 2024 ~ 2028.
- [23] Yamatashi Y, Tanoue E. Chemical characterization of protein-like fluorophores in DOM in relation to aromatic amino acids[J]. *Mar. Chem.*, 2003, **82**: 255 ~ 271.
- [24] 李瑞香, 朱明远, 王宗灵, 等. 东海两种赤潮生物种间竞争的围隔实验[J]. 应用生态学报, 2003, **14**(7): 1049 ~ 1054.
- [25] 李瑞香, 王保栋, 王宗灵, 等. 青岛奥运帆船赛区理化、生物要素现状及富营养化诱发赤潮的围隔实验[J]. 生态学报, 2004, **24**(4): 837 ~ 842.
- [26] Wu F, Tanoue E. Geochemical characterization of organic ligands for copper(II) in different molecular size fractions in Lake Biwa, Japan[J]. *Organic Geochemistry*, 2001, **32**: 1311 ~ 1318.
- [27] Wu F, Tanoue E. Isolation and partial characterization of dissolved copper-complexing ligands in streamwaters[J]. *Environ. Sci. Technol.*, 2001, **35**: 3646 ~ 3652.
- [28] Wu F C, Tanoue E, Liu C Q. Fluorescence and amino acid characteristics of molecular size fractions of DOM in the water of Lake Biwa[J]. *Biogeochemistry*, 2003, **65**: 245 ~ 257.
- [29] 张绪琴, 吴永森, 张士魁, 等. 胶州湾海水黄色物质荧光分布初步研究[J]. 遥感学报, 2002, **6**: 229 ~ 232.
- [30] Sierra M M D, Giovanela M, Parlanti E Z, *et al.* Fluorescence fingerprint of fulvic and humic acids from varied origins as viewed by single-scan and excitation/emission matrix techniques[J]. *Chemosphere*, 2005, **58**: 715 ~ 733.
- [31] Parlanti P, Worz K, Geoffroy L, *et al.* Dissolved organic matter fluorescence spectroscopy as a tool to estimate biological activity in a coastal zone submitted to anthropogenic inputs[J]. *Org. Geochemistry*, 2000, **31**: 1765 ~ 1781.
- [32] Mopper K, Schultz C A. Fluorescence as a possible tool for studying the nature and water column distribution of DOC components[J]. *Mar. Chem.*, 1993, **41**: 229 ~ 238.
- [33] Wu F, Tanoue E. Molecular mass distribution and fluorescence characteristics of dissolved organic ligands for copper(II) in lake Biwa, Japan[J]. *Organic Geochemistry*, 2001, **32**: 11 ~ 20.
- [34] Determann S, Lobbes J M, Reuter R, *et al.* Ultraviolet fluorescence excitation and emission spectroscopy of marine algae and bacterial[J]. *Mar. Chem.*, 1998, **62**: 137 ~ 156.