

三维荧光光谱技术在水环境修复和废水处理中的应用

孔赞¹, 朱亮^{1*}, 吕梅乐¹, 徐向阳^{1,2}, 戚韩英¹

1. 浙江大学环境工程系, 浙江 杭州 310058; 2. 浙江大学-西澳大学水环境综合管理与保护联合研究中心, 浙江 杭州 310058

摘要:近年来我国水环境污染问题情况日益严重,其引发的水华问题频发,藻类生长代谢过程释放的各类衍生物对水生生态系统及原水加工工艺性能造成影响。为此,分析环境水体、废水处理系统中溶解性有机污染物(DOM)的组成、性质和来源,对水环境安全及水污染控制具有重要意义。三维荧光光谱技术通过在不同的激发波长上扫描发射荧光谱以获得激发-发射矩阵(EEM),基于 EEM 数据构建三维立体图或等高线(指纹图)描绘监测对象特性,可分析水体溶解性有机物、藻类及藻毒素等,近年来已在饮用水源水质监测、湖库富营养化成因分析及废水生物处理性能评价等方面得到应用。与传统分析方法相比,该技术具有灵敏度高、操作简便、检测快速、试剂消耗量少等优点。文章从荧光光谱分析技术基本原理出发,对三维荧光峰的分类、影响因素及其在水环境中的应用进行了综述,并对今后该技术在环境领域的研究方向进行了展望,以期水污染控制、污染环境修复提供先进可靠的分析方法。

关键词: 三维荧光光谱技术; 环境水体; 废水处理; 溶解性有机物; 影响因素

中图分类号: X132 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5906 (2012) 09-1647-08

引用格式: 孔赞, 朱亮, 吕梅乐, 徐向阳, 戚韩英. 三维荧光光谱技术在水环境修复和废水处理中的应用[J]. 生态环境学报, 2012, 21(9): 1647-1654.

KONG Yun, ZHU Liang, LV Meile, XU Xiangyang, QI Hanying. Research advances in water environment remediation and wastewater treatment based on three dimensional fluorescence spectroscopy technology [J]. Ecology and Environmental Sciences, 2012, 21(9): 1647-1654.

水环境作为生物地球化学循环的重要组成部分,既是人类赖以生存的物质基础,又是各种污染物的主要归宿。近年来,我国社会经济的快速发展,所带来的水环境污染问题日益严重,尤其在湖库等相对封闭的环境水体。据2011年《中国环境状况公报》,全国26个国控重点湖(库)中,属IV~V类和劣V类水质的湖(库)比例分别占50.0%和7.7%,富营养化问题突出。有研究报道,因水体富营养化带来的藻类过度生长不仅影响常规水质指标,且藻类降解后产生的藻类有机污染物(Algogenic Organic Matter, AOM)严重威胁水环境生态安全^[1]。AOM来源可分为外源和内源两种,由一系列不同分子量和官能团的混合物组成,主要为腐殖酸、蛋白质、碳水化合物等大分子溶解性有机物^[2-3],尤其是AOM及其在加氯消毒过程生成的一系列卤代有机副产物,多属“三致”物质^[4],潜在威胁巨大。

与传统化学分析、电化学分析和色谱分析等相比^[5],荧光光谱技术对激发和发射波长进行同步扫描,具有高选择性、操作简便、试剂耗量少、测量精度高、检测快速等优点^[6-8],近十年来已在环境水

体、废水处理系统DOM监测中广泛应用^[1,9-10]。本文基于荧光光谱分析技术的原理与特点,对三维荧光峰的分类、影响因素及其在水环境中的应用进行了综述,并对今后该技术在环境领域的研究方向进行了展望,以期水污染控制、污染环境修复提供先进可靠的分析技术。

1 荧光光谱原理

荧光光谱技术即分子荧光光谱法,是利用荧光强度和波长进行定量、定性检测的分析方法。分子吸收紫外和可见光谱区的辐射后,其处于基态的电子能级跃迁到激发态,随即发生分子内或分子间的去活化过程;若激发态的分子先以无辐射跃迁降至第一电子激发态的最低振动能级后,再以辐射跃迁的方式回到基态,伴随发出一定波长的光即为荧光。普通荧光分析所测得的光谱为二维谱图,包括固定激发波长扫描发射波长所获得的发射光谱,和固定发射波长扫描激发波长所获得的激发光谱,能够从不同侧面反映荧光强度与激发波长和发射波长的关系。荧光光谱分析技术具有灵敏度高(比紫外-可见分光光度法高 2~3 个数量级),选择性好,而

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2012BAJ25B07); 浙江省教育厅科研项目(Y200909172)

作者简介: 孔赞(1983年生),男,博士研究生,主要从事环境污染生物修复研究。E-mail: ky020241@yahoo.com.cn

*通信作者: 朱亮。E-mail: felix79cn@zju.edu.cn

收稿日期: 2012-07-05

且能够提供激发光谱、发射光谱、发光强度、发光寿命、量子产率、偏振和各向异性等诸多信息,已成为一种重要的痕量分析技术^[11-12]。三维荧光光谱(There Dimension Fluorescence Spectrometry, TDFS)^[11]则是近几十年来发展起来的一种新的荧光分析技术,其通过在不同的激发波长上扫描发射荧光光谱,获得激发-发射矩阵(excitation emission matrix, EEM),基于 EEM 数据以三维立体图或等高线(指纹图)的形式形象地描绘出来,以丰富的信息含量突出了荧光分析法选择性好、灵敏度高的优点。常用的三维荧光光谱法主要有:基于激发-发射矩阵的三维荧光法、三维同步荧光光谱法、相分辨三维荧光光谱、时间分辨三维荧光光谱以及三维荧光偏振光谱、导数三维荧光光谱等^[13]。鉴于水体中有机物在激发波长下产生荧光,通过测定其不同激发波长下的发射波长,可对水体中发荧光有机物进行分析。

2 三维荧光峰的分类

在环境水体中,微生物在降解有机物的过程中产生具有荧光活性化合物如酶、辅酶、色素、代谢产物等,在紫外光的激发下发出其特征荧光^[16-18],其中蛋白中的苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸残基在 $E_x/E_m=250\sim 280/320\sim 340$ nm处会发射出特有荧光,可作为生物量表征指标^[17]。在淡水水体环境中,溶解性有机物(dissolved organic matter, DOM)主要包含了类蛋白、类富里酸、类腐殖酸和各种亲水性有机酸、羧酸、氨基酸和碳水化合物等,激发-发射矩阵(EEM)荧光涵盖了其组成和官能团结构的大量信息^[15,19]。Coble^[9]亦将DOM的主要荧光峰分为5类(表1):峰A——类腐殖酸($E_x/E_m=237\sim 260/400\sim 500$ nm),峰C类腐殖酸($E_x/E_m=300\sim 370/400\sim 500$ nm),峰B——类酪氨酸($E_x/E_m=225\sim 237/309\sim 321$ nm及 $E_x/E_m=275/310$ nm),峰T₁——类色氨酸($E_x/E_m=275/340$ nm)和峰T₂——类色氨酸($E_x/E_m=$

表1 水环境中主要荧光基团

Table 1 Excitation and emission wavelength pairs for the principal peak fluorescence intensities

峰值	激发波长/nm	发射波长/nm	物质	参考文献
A	285	340	类蛋白	[3]
δ	280	330		[21]
	205	370	芳香族蛋白质类	[3, 9, 15]
B1	225~237	305~310	类酪氨酸	[6, 14, 15, 19]
B2	275	310		[15]
T1	225~237	340~350	类色氨酸	[15, 19]
T2	275	340		[15, 19]
	230~255	400~460	紫外类富里酸	[22]
α	280~310	380~455	可见类富里酸	[22]
	320	415	类富里酸	[10, 21]
C	237~260	400~500	类腐殖酸	[9, 15]
	300~370	400~500		[9, 15]
D	230	465		[3]
E	245	440		[3]
M	290~310	370~410	海洋腐殖酸类	[15, 23]
	310~320	380~420		[24]
B	355	440	可见腐殖酸类	[3]

225~237/340~381 nm)。基于DOM组分分级和¹³C核磁共振分析研究,Chen等^[20]将废水处理出水中可溶性微生物产物分为5类主要荧光基团(图1)。

3 环境因素对 DOM 荧光的影响

环境水体中存在的各种离子和有机物质使得DOM成分复杂,部分离子和有机物质将会在DOM测定过程中发生荧光淬灭从而降低荧光物质的强度。因此,DOM荧光物质的强度不仅与其组分和浓度有关,还受环境因素如温度、pH和金属离子的影响。

3.1 温度

荧光强度很大程度上取决于温度,电子通过非辐射衰减由激发态还原为稳态,升高温度增加了其可能性,导致荧光强度削弱。鉴于类色氨酸、类腐殖酸和类富里酸物质的荧光强度取决于胶体大小和荧光团,在10~45℃范围内,其荧光强度随着温

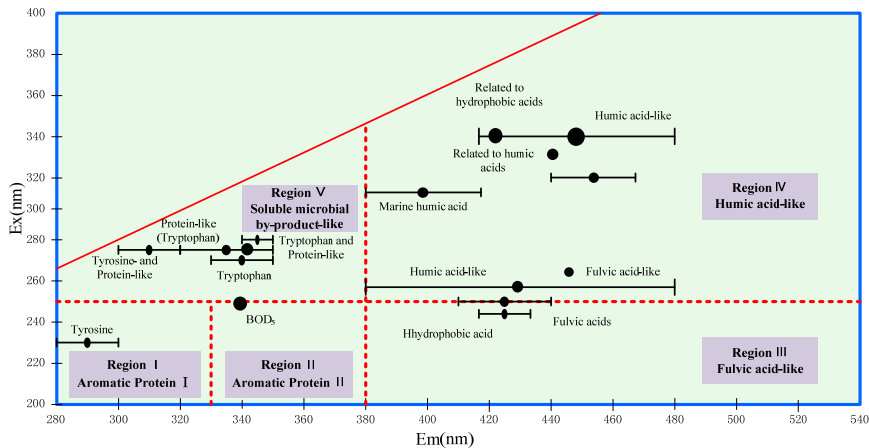


图1 5类荧光区域中不同荧光峰位置^[20]

Fig. 1 Locations of various EEM peaks at five EEM regions

度的下降而增加(温度每降低 1 °C 荧光强度约增加 1%)。李红军等^[25]研究了温度对荧光素钠溶液荧光强度的影响,发现温度低于 30 °C 时荧光强度相对于原始荧光强度为正偏差,而温度高于 30 °C 时为负偏差,其荧光强度与光照强度呈负相关关系。

3.2 pH

研究表明,pH 值影响环境样品的荧光强度和类腐殖酸、类富里酸物质与少许类色氨酸物质的光谱形状。Patel-Sorrentino 等^[26]研究了 pH 对地表水体溶解性有机物荧光峰 A 和 C 的影响,发现 pH 值从 2 增加至 12 时荧光强度也随之增加,同时,作者提出了导致 pH 影响荧光强度的 3 种可能机制:(1)激发电子的分子运动轨道发生改变;(2)电荷密度的改变引起分子物理形状发生变化;(3)金属离子和 H⁺ 之间的竞争。Spencer 等^[27]发现荧光峰 C1 在 pH 值为 2 到 6 时明显增加,而 pH 为 8 到 10 时则降低;相反,荧光峰 C2 在较高 pH 值并未降低,且 pH 变化对荧光峰 T1 无显著影响;研究同时发现峰 C2 随着 pH 值的增加发生红移。此外,pH 值对金属离子溶解度的影响亦能导致荧光强度的变化。西英格兰大学学者^[28]研究发现,pH<4.5 时,色氨酸标准溶液的荧光强度降低 15%,5<pH<8 时,pH 对色氨酸荧光强度影响不大,pH>8 时色氨酸荧光强度则增加 30%;酪氨酸荧光强度受 pH 的影响较之其他荧光峰更为显著;Westerhoff 等^[29]则发现 pH 值从 7 降至 3 时,富里酸标准品和经处理过的市政废水荧光强度降低了 30%~40%,并提出水样荧光分析的最佳 pH 值为 3。鉴于天然水体环境的 pH 值在 5~9 之间,而在此 pH 范围内所有荧光峰的荧光强度的最大变化在 10% 左右,所以环境样品的 pH 变化并不影响三维荧光技术用于表征和分辨不同来源的 DOM。

3.3 金属离子

在自然水体中,在某一波长范围内荧光可能加强或者淬灭,金属离子则是通过形成有机金属络合物从而影响 DOM(特别是腐殖酸物质)的荧光强度。韩宇超和郭卫东^[30]研究表明,NaCl 质量浓度在 0~33 g·L⁻¹ 时均可以检测到类腐殖质(C、A)及类蛋白质(T₁、T₂)4 类荧光团,荧光峰组成未发生变化,荧光峰位置未发生红移或蓝移,荧光强度也无明显的增强或减弱,即钠离子对九龙江口河端有色可溶性有机物(Chromophoric dissolved organic matter, CDOM)的三维荧光光谱影响不大。Kelton 等^[31]利用三维荧光技术比较研究了农业用水、城市河流、池塘和污水处理厂出水等不同水样的 DOM 荧光特征,发现 Fe 能够显著降低水样荧光峰强度。

有关天然水体中溶解性有机物金属离子的淬灭,国内外所有报道的文献几乎均为实验室基础研

究或添加自由金属离子而得到的结论。在自然环境和工程实践中,金属主要以颗粒态或有机金属胶体态的形式存在,其存在形式与 pH 值有关。Reynolds 和 Ahmad^[32]研究了金属离子对废水荧光强度的影响,发现废水中铁、铝和镍金属离子并不影响荧光强度。因此,在水环境样品中,金属离子对荧光物质荧光强度的影响并无定论。

4 三维荧光在水环境、废水处理中的应用

近年来,三维荧光光谱技术已广泛应用于饮用水源监测、湖泊富营养化成因分析及废水生物处理性能评估等方面(表 2)。水环境中蛋白质类、腐殖酸类、富里酸类等有机物的荧光强度以等高线的方式表现在同一平面上,能直观地提供任何激发-发射波长所对应的荧光强度信息,反应水质有机物综合指标,且体现与普通激发/发射光谱、同步荧光谱的关系^[33]。鉴于环境水体污染日益严重且成分复杂,相关部门对环境中污染物检测要求越来越高,三维荧光技术与平行因子分析法(Parallel Factor Analysis, PARAFAC)^[34-38]、主成分回归(Principle Component Regression, PCR)^[21,39]以及偏最小二乘回归(Partial Least-Squares Regression, PLSR)^[40-42]等化学计量学方法结合已成为主要的复杂多组分体系三维荧光解析手段。

4.1 饮用水源

Bierozza 等^[44]应用三维荧光光谱技术(EEMs)对美国 16 个地表源水和水厂处理水样的总有机碳(TOC)去除效果、有机物(OM)荧光特征以及藻类对 TOC 去除效率的影响等开展了研究,发现峰 C 荧光强度能精确可靠的表征 OM 含量,OM 荧光特性能预测 TOC 去除效果和识别时空变化特征,且经处理后水体中三卤甲烷(THM)质量浓度可以预测源水 TOC 质量浓度,这意味着该方法可作为分析有机物特征和测定 THM 的新技术,并可以代替其他方法形成新的遥感技术。Gone 等^[56]以溶解性有机碳(DOC)去除率及水质荧光特征和强度为评价指标考察了硫酸铝对饮用水源地源水水质的絮凝沉淀效果,分别以 3 种荧光峰 A(类腐殖酸)、C(类腐殖酸)和 T(类色氨酸)的强度表征 DOC 去除率,发现 DOC 去除率与峰 A、峰 C 和峰 T 的荧光强度具有显著相关性,线性相关系数分别为 0.91、0.89 和 0.92,其中,类色氨酸物质(峰 T)的误差最小,即表明荧光峰强度可作为絮凝-沉降工艺中评价 DOC 残留量的指标。Baghatha 等^[57]利用 EEMs 并结合 PARAFAC 模型研究饮用水处理过程中水样 NOM 的特征,结果显示,NOM 有 7 类荧光特征峰,其中 5 种为类腐殖酸物质,另 2 种则分别为色氨酸类物质和酪氨酸类物质,此类特征峰与不同水环境中的 DOM 三

维荧光特征相同;进一步利用液相色谱-有机碳探测(LC-OCD)检测结果对7个平行因子的最大荧光强度(F_{\max})与 NOM 组分(腐殖酸、电中性物质、生物聚合物和小分子酸性物质等)进行相关性分析,发现样品中 DOC, UVA_{254} 和 F_{\max} 显著相关($P<0.01$),其中3类腐殖酸较之 UVA_{254} 更能表征样品中 DOC 和腐殖酸组分的含量,而色氨酸类物质和酪氨酸类物质则可表征生物聚合物组分。Pifer 等^[58]利用非对称场-流分离技术和三维荧光-平行因子分析对海狸湖饮用水源水库不同深度(-3, -10 和-18 m)水样中的 DOM 进行测定,并利用 PARAFAC 模型分解得到5个主成分,发现最高平均荧光强度和最低平均荧光强度分别为-10 m 深度和-18 m 深度的样品,不同深

度水样均有类腐殖酸物质组成的荧光团, -10 m 深类蛋白类物质荧光团最弱,表明在饮用水消毒副产物的形成和评估饮用水源质量受气候影响变化等领域, EEMs-PARAFAC 可作为研究 CDOM 性质及其反应活性的有效方法。此外,也有研究人员利用 EEMs 并结合 PARAFAC 模型,对饮用水源如湖泊等溶解性有机物进行监测。

4.2 富营养化湖泊及藻类有机物

Beutler 等^[59]根据5种主要藻类(蓝藻, 绿藻, 褐藻, 赤藻和混藻)的天线色素在不同波长处的荧光强度来区别水样中藻类组成。基于不同藻细胞的生理状况在荧光激发波长下独立这一假设, Beutler^[60]将上述方法进行改进,确定波长为370~525 nm之

表2 三维荧光光谱技术在水环境、废水处理中的研究

Table 2 Researches of excitation-emission matrix in the water environment and wastewater treatment system

水样来源	样品数(n)	参数测定	荧光峰	物质	E_x/E_m	相关系数(r^2)	参考文献	
饮 用 水 源	75					0.946		
	5					0.976		
	29	TOC	A		230~250 /405~445	0.364	[43]	
	59					0.903		
	14					0.890		
	216	TOC 去除率	T		280/350	0.42,	[44]	
	216		C		300~360 /400~480	0.41;		
	饮 用 水 源		藻细胞数 藻毒素浓度	A	芳香族氨基酸	275/340	0.91	
				X	腐殖酸类	355 /473	0.79	[45]
				C		315 /396	0.85	
富 营 养 化 水 体	32	COD DOC	C2	陆生和海洋腐殖酸	235 (300)/404	0.545 0.763	[46]	
	88	COD DOC	C2	陆生和海洋腐殖酸	235 (300)/404	0.563 0.684		
	28	DOC PO_4^{3-} NO_3^-	A C1		350/450 280/350 280/350	0.86 0.799 0.874		
	62	BOD DO NH_3	T1 T2 B		220/350 220/350 220/350	0.675 0.646 0.784	[47]	
						0.756		
			DOC		腐殖酸类		0.657 0.631 0.409	[48]
	富营养化 浅水湖泊	203	叶绿素 a 质量浓度			355/450	0.84	[49]
	废 水 处 理 系 统	103	NVOC	C3 C5		240(330)/420 310/360	0.930 0.715	[50]
			蛋白质含量	A		280/350	0.877	[51]
		T1			300/350	0.999	[52]	
96		DCOD COD	P1 P2 P3		366/316 430/380 520/470	0.37 0.51	[5]	
126				色氨酸	220/350	0.87	[53]	
91						0.86		
			BOD	T1 I		248/340 280/300	0.97 0.892	[54]
			BOD		蛋白质和氨基酸 色氨酸类 蛋白质类	340~350/370 275/350	0.901 0.910	[55]
				A T				

间；Gregor和Marsalek^[61-62]基于Beutler的研究，根据蓝藻和绿藻分别在激发波长为485和570 nm，发射波长为670 nm处的叶绿素荧光强度可以将蓝藻和绿藻区分开来。Ziegmann等^[45]应用荧光指纹技术对水华形成及铜绿微囊藻毒素进行评估，发现不同荧光信号(如类蛋白质、类腐殖酸和色素)可作为评估藻细胞浓度、胞内藻毒素和胞外藻毒素浓度的参数。

藻类在生长过程中利用水体中的营养物质进行光合作用并时代谢分泌藻类有机物，即藻类通过细胞外的新陈代谢作用形成胞外有机物(extracellular organic matter, EOM)，而通过细胞内的自身分解作用形成胞内有机物(intracellular organic matter, IOM)。HENDERSON 等^[63]研究了4种藻(*Chlorella vulgaris*, *Microcystis aeruginosa*, *Asterionella formosa* 和 *Melosira* sp.)产生的AOM电流密度、分子量分布及荧光特征等并阐明了AOM与NOM的不同特征，发现电流密度主要取决于AOM中亲水性和酸性碳水化合物而非疏水性、黄腐酸和腐殖酸等物质，在无腐殖酸类或黄腐酸物质时，相对分子量大于500 kDa的蛋白质为主要疏水性物质，并且4种藻类处于生长期时AOM中亲水性多糖物质和疏水性蛋白质含量均较低，无UV₂₅₄及芳香族色氨酸类蛋白化合物的存在；Singh等^[64]利用EEMs并结合PARAFAC模型，研究了美国路易斯安那州巴拉塔里亚盆地在2008年3月至5月间CDOM的荧光组分及其分布变化特征，结果表明从海洋沿岸至上游盆地36处站点中，其CDOM的吸收光谱和355 nm处荧光性能呈增长趋势，平均CDOM吸收系数和荧光强度分别为(11.06±5.01)、(10.05±4.23)、(11.67±6.03) m⁻¹和(0.80±0.37)、(0.78±0.39)、(0.75±0.51) RU，利用PARAFAC分析鉴定CDOM主要有4种组分，包括陆生类腐殖酸(组分1和2)、非类腐殖酸(组分3)和土壤衍生类腐殖酸(组分4)，从海洋沿岸至上游盆地组分空间变异性亦呈增长的趋势。鉴于组分3能够有效表征CDOM的产量，对叶绿素a浓度较高的河口支流处进行观测以分析该增长趋势的偏差，其研究结果建议慎重考虑排入海湾的营养物，因营养盐的排入可能导致沿岸各断面形成赤潮。韩宇超等^[30]利用EEMs-PARAFAC模型研究了2008年6月“水库型”河流闽江中DOM的荧光组分特征及其分布变化，并利用荧光组分对上游3条支流之间的混合进行灵敏的指纹示踪，结果表明EEMs-PARAFAC可作为1种光谱指纹技术，灵敏地示踪闽江的3条支流DOM的时空分布与变化特征。吕桂才等^[65]将赤潮藻滤液的溶解有机物荧光与主成分分析相结合，建立了一种赤潮藻实时、快速

的荧光识别测定技术，发现甲藻在种水平上的正确识别率≥92%，硅藻在属水平上的正确识别率≥75%，认为利用赤潮藻滤液的溶解有机物荧光结合主成分分析的方法可实现赤潮藻在属水平上的识别。

4.3 废水处理

城市污水中DOM组分主要为腐殖酸(humic acid)、富里酸(fulvic acid)、亲水性有机酸、核酸、氨基酸和表面活性剂等有机污染物，其中氨基酸等有机物是其标志性物质^[16,20,24]。鉴于DOM分子结构大多具有共轭双键芳香烃或碳基、羧基等共轭体系，在紫外光区特定波长激发时发射不同荧光，故样品在浓度较低时荧光强度与发光物质浓度成正比^[16]。基于上述理论，荧光分析法可以定性区分和定量测定废水中的有机污染物。

Wang等^[3]研究一体式膜生物反应器(Membrane Bio-Reactor, MBR)发现，EPS有机物组分主要为类蛋白、可见类腐殖酸和类富里酸物质等，应用三维荧光技术发现DOM组分中主要有3类荧光特征峰，2种为类蛋白质，另1种为类腐殖酸物质；其中，膜垢中以类蛋白荧光物质为主，推测DOM和EPS中的蛋白类物质截留在膜组件上导致膜污染^[18]；Tang等^[66]研究了不同运行条件下的两组MBR反应器膜污垢中有机物荧光特征及其与膜污染形成的关系，发现MBR反应区DOM中类蛋白质荧光峰强度与膜污染呈正相关，膜垢的光谱特征显示其存在两种不同类蛋白荧光峰，表明蛋白类物质在膜污染的形成过程中起重要作用。Liu等^[67]比较研究了臭氧-膜生物反应器联用技术与膜处理技术对有机物的去除性能及膜污染物特征，发现两组实验DOM中均有4类荧光物质，其中两类峰属于类蛋白质，另两类为类腐殖酸；经臭氧处理后DOM荧光强度明显降低，且荧光峰出现了不同程度的红移，可见臭氧氧化作用能够减少类蛋白质含量、改变类腐殖酸结构。Nam和Amy^[68]比较了污水处理厂出水NOM荧光特性，发现在较低激发和发射波长处的类蛋白和类腐殖酸荧光峰含量增加，该荧光峰被认为是区分废水和淡水有机物的主要特征。然而，一些蛋白质类物质如茶等在同一区域亦发荧光。因此，尽管荧光特性可作为废水中类蛋白等有机物的评价指标，但某些特定荧光化合物的荧光峰的区别必须关注。

5 结论与展望

环境水体、污水处理厂尾水中DOM普遍存在，且对水源保护、饮用水净化构成威胁。三维荧光光谱技术具有灵敏度高、操作简便、检测快速、试剂消耗量少和不破坏样品等优点，已在水环境修复和废水处理中得到应用。然而，目前该技术仍存在一些不足，有待进一步优化：

环境水体、废水处理系统受诸多因素影响,其DOM组分复杂,某些含量较低的毒性物质难以检出。因此,有必要提高待测物质的检测限和荧光物质区分度,以实现三维荧光光谱技术对有机污染物的快速准确定性定量。

目前,三维荧光光谱技术对污染物定性定量分析仅集中在常见污染指标上,而在农药、抗生素、藻毒素等指标测定方面研究较少,为此污染物荧光特征图谱库亟待完善。

由于荧光光谱技术模型建立尚处于初期探索阶段,需结合PARAFAC和PCR等化学计量学方法,提高复杂水质的分析能力。

参考文献:

- [1] HER N, AMY G, MCKNIGHT D, et al. Characterization of DOM as a function of MW by fluorescence EEM and HPLC-SEC using UVA, DOC, and fluorescence detection[J]. *Water Research*, 2003, 37(17): 4295-4303.
- [2] WU F C, EVANS R D, DILLON P J. Separation and characterization of NOM by high-performance liquid chromatography and on-line three-dimensional excitation emission matrix fluorescence detection[J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37(16):3687-3693.
- [3] WANG Z W, WU Z C, TANG S J. Extracellular polymeric substances (EPS) properties and their effects on membrane fouling in a submerged membrane bioreactor[J]. *Water Research*, 2009, 43(9): 2504-2512.
- [4] FANG J Y, MA J, YANG X, SHANG C. Formation of carbonaceous and nitrogenous disinfection by-products from the chlorination of *Microcystis aeruginosa*[J]. *Water Research*, 2010, 44(6):1934-1940.
- [5] WU J, PONS M N, POTIER O. Wastewater fingerprinting by UV-visible and synchronous fluorescence spectroscopy[J]. *Water Science and Technology*, 2006, 53(4-5):449-456.
- [6] HENDERSON R K, BAKER A, MURPHY K R, et al. Fluorescence as a potential monitoring tool for recycled water systems: A review[J]. *Water Research*, 2009, 43(4):863-881.
- [7] ZHANG Y L, YIN Y, FENG L Q, et al. Characterizing chromophoric dissolved organic matter in Lake Tianmuhu and its catchment basin using excitation-emission matrix fluorescence and parallel factor analysis[J]. *Water Research*, 2011, 45(16):5110-5122.
- [8] ZHANG Y L, YIN Y, LIU X H, et al. Spatial-seasonal dynamics of chromophoric dissolved organic matter in Lake Taihu, a large eutrophic, shallow lake in China[J]. *Organic Geochemistry*, 2011, 42(5): 510-519.
- [9] COBLE P G. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation emission matrix spectroscopy[J]. *Marine Chemistry*, 1996, 51(4):325-346.
- [10] COBLE P G, GREEN S A, BLOUGH N V, et al. Characterisation of dissolved organic matter in the black-sea by fluorescence spectroscopy[J]. *Nature*, 1990, 348(6300):432-435.
- [11] 许金钧 王尊本. 荧光分析法[M]. (第三版), 北京: 科学出版社, 2006.
- [12] LAKOWICZ J R. Principles of Fluorescence Spectroscopy[M]. 3rd ed. Kluwer Academic: Springer, 2006.
- [13] GAI Y, BAO C M, YE S M, et al. Application of Chemometric Methods in Three-Dimensional Fluorescence Spectral Analysis[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2011, 31(7):1828-1833.
- [14] HUDSON N, BAKER A, REYNOLDS D. Fluorescence analysis of dissolved organic matter in natural, waste and polluted waters - A review[J]. *River Research and Applications*, 2007, 23(6):631-649.
- [15] BRIDGEMAN J, BIEROZA M, BAKER A. The application of fluorescence spectroscopy to organic matter characterisation in drinking water treatment[J]. *Reviews in Environmental Science and Bio-Technology*, 2011, 10(3): 277-290.
- [16] SHENG G P, YU H Q. Characterization of extracellular polymeric substances of aerobic and anaerobic sludge using three-dimensional excitation and emission matrix fluorescence spectroscopy[J]. *Water Research*, 2006, 40(6):1233-1239.
- [17] NI B J, FANG F, XIE W M, et al. Characterization of extracellular polymeric substances produced by mixed microorganisms in activated sludge with gel-permeating chromatography, excitation-emission matrix fluorescence spectroscopy measurement and kinetic modeling[J]. *Water Research*, 2009, 43(5):1350-1358.
- [18] WANG Z W, WU Z C, TANG S J. Characterization of dissolved organic matter in a submerged membrane bioreactor by using three-dimensional excitation and emission matrix fluorescence spectroscopy[J]. *Water Research*, 2009, 43(6):1533-1540.
- [19] 黄昌春, 李云梅, 王桥, 等. 基于三维荧光和平行因子分析法的太湖水体CDOM组分光学特征[J]. *湖泊科学*, 2010, 22(3):375-382.
- [20] CHEN W, WESTERHOFF P, LEENHEER J A, et al. Fluorescence excitation - Emission matrix regional integration to quantify spectra for dissolved organic matter[J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37(24): 5701-5710.
- [21] PEIRIS R H, HALLE C, BUDMAN H, et al. Identifying fouling events in a membrane-based drinking water treatment process using principal component analysis of fluorescence excitation-emission matrices[J]. *Water Research*, 2010, 44(1):185-194.
- [22] 宋晓娜, 于涛, 张远, 等. 利用三维荧光技术分析太湖水体溶解性有机质的分布特征及来源[J]. *环境科学学报*, 2010, 30(11): 2321-2331.
- [23] STEDMON C A, MARKAGER S. Tracing the production and degradation of autochthonous fractions of dissolved organic matter by fluorescence analysis[J]. *Limnology and Oceanography*, 2005, 50(5):1415-1426.
- [24] LEENHEER J A, CROUE J P. Characterizing aquatic dissolved organic matter[J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37(1): 18A-26A.
- [25] 李红军, 何雄奎, 曾爱军, 等. 环境因素对荧光素钠溶液荧光强度的影响[J]. *吉林农业大学学报*, 2008, 30(1):49-51, 63.
- [26] PATEL-SORRENTINO N, MOUNIER S, BENAÏM J Y. Excitation-emission fluorescence matrix to study pH influence on organic matter fluorescence in the Amazon basin rivers[J]. *Water Research*, 2002, 36(10): 2571-2581.
- [27] SPENCER R G M, BOLTON L, BAKER A. Freeze/thaw and pH effects on freshwater dissolved organic matter fluorescence and absorbance properties from a number of UK locations[J]. *Water Research*, 2007, 41(13): 2941-2950.
- [28] REYNOLDS D M. Rapid and direct determination of tryptophan in water using synchronous fluorescence spectroscopy[J]. *Water Research*, 2003, 37(13): 3055-3060.
- [29] WESTERHOFF P, CHEN W, ESPARZA M. Fluorescence analysis of a standard fulvic acid and tertiary treated wastewater[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2001, 30(6):2037-2046.
- [30] 韩宇超, 郭卫东. 河口区有色溶解有机物(CDOM)三维荧光光谱的

- 影响因素[J]. 环境科学学报, 2008, 28(8):1646-1653.
- [31] KELTON N, MOLOT L A, DILLON P J. Spectrofluorometric properties of dissolved organic matter from Central and Southern Ontario streams and the influence of iron and irradiation[J]. Water Research, 2007, 41(3): 638-646.
- [32] REYNOLDS D M, AHMAD S R. The effect of metal-ions on the fluorescence of sewage waste-water[J]. Water Research, 1995, 29(9): 2214-2216.
- [33] 刘志宏, 蔡汝秀. 三维荧光光谱技术分析应用进展[J]. 分析科学学报, 2000, 16(6): 516-523.
- [34] MUROSKI A R, BOOKSH K S, MYRICK M L. Single-measurement excitation/emission matrix spectrofluorometer for determination of hydrocarbons in ocean water .1. Instrumentation and background correction[J]. Analytical Chemistry, 1996, 68(20):3534-3538.
- [35] BOOKSH K S, MUROSKI A R, MYRICK M L. Single measurement excitation/emission matrix spectrofluorometer for determination of hydrocarbons in ocean water. 2. Calibration and quantitation of naphthalene and styrene[J]. Analytical Chemistry, 1996, 68(20): 3539-3544.
- [36] BRO R. PARAFAC. Tutorial and applications[J]. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 1997, 38(2):149-171.
- [37] Stedmon C A, Bro R. Characterizing dissolved organic matter fluorescence with parallel factor analysis: a tutorial[J]. Limnology and Oceanography-Methods, 2008, 6:572-579.
- [38] ENGELEN S, FROSCHE S, JORGENSEN B M. A fully robust PARAFAC method for analyzing fluorescence data[J]. Journal of Chemometrics, 2009, 23(3-4):124-131.
- [39] SAURINA J, LEAL C, COMPANO R, et al. Determination of triphenyltin in sea-water by excitation-emission matrix fluorescence and multivariate curve resolution[J]. Analytica Chimica Acta, 2000, 409(1-2):237-245.
- [40] BELTRAN J L, FERRER R, GUITERAS J. Multivariate calibration of polycyclic aromatic hydrocarbon mixtures from excitation-emission fluorescence spectra[J]. Analytica Chimica Acta, 1998, 373(2-3):311-319.
- [41] PERSSON T, WEDBERG M. Multivariate evaluation of the fluorescence of aquatic organic matter[J]. Analytica Chimica Acta, 2001, 434(2): 179-192.
- [42] HALL G J, CLOW K E, KENNY J E. Estuarial fingerprinting through multidimensional fluorescence and multivariate analysis[J]. Environmental Science & Technology, 2005, 39(19):7560-7567.
- [43] MUDARRA M, ANDREO B, BAKER A. Characterisation of dissolved organic matter in karst spring waters using intrinsic fluorescence: Relationship with infiltration processes[J]. Science of the Total Environment, 2011, 409(18): 3448-3462.
- [44] BIEROZA M, BAKER A, BRIDGEMAN J. Relating freshwater organic matter fluorescence to organic carbon removal efficiency in drinking water treatment[J]. Science of the Total Environment, 2009, 407(5): 1765-1774.
- [45] ZIEGMANN M, ABERT M, MULLER M, et al. Use of fluorescence fingerprints for the estimation of bloom formation and toxin production of *Microcystis aeruginosa*[J]. Water Research, 2010, 44(1): 195-204.
- [46] YAO X, ZHANG Y L, ZHU G W, et al. Resolving the variability of CDOM fluorescence to differentiate the sources and fate of DOM in Lake Taihu and its tributaries[J]. Chemosphere, 2011, 82(2):145-155.
- [47] BAKER A, INVERARITY R. Protein-like fluorescence intensity as a possible tool for determining river water quality[J]. Hydrological Processes, 2004, 18(15):2927-2945.
- [48] CUMBERLAND S A, BAKER A. The freshwater dissolved organic matter fluorescence-total organic carbon relationship[J]. Hydrological Processes, 2007, 21(16):2093-2099.
- [49] ZHANG Y L, VAN DIJK M A, LIU M L, et al. The contribution of phytoplankton degradation to chromophoric dissolved organic matter (CDOM) in eutrophic shallow lakes: Field and experimental evidence[J]. Water Research, 2009, 43(18):4685-4697.
- [50] SEREDYNSKA-SOBECKA B, STEDMON C A, BOE-HANSEN R, et al. Monitoring organic loading to swimming pools by fluorescence excitation-emission matrix with parallel factor analysis (PARAFAC)[J]. Water Research, 2011, 45(6):2306-2314.
- [51] LI W H, SHENG G P, LIU X W, et al. Characterizing the extracellular and intracellular fluorescent products of activated sludge in a sequencing batch reactor[J]. Water Research, 2008, 42(12):3173-3181.
- [52] HAMBLY A C, HENDERSON R K, STOREY M V, et al. Fluorescence monitoring at a recycled water treatment plant and associated dual distribution system - Implications for cross-connection detection[J]. Water Research, 2010, 44(18):5323-5333.
- [53] BAKER A, WARD D, LIETEN S H, et al. Measurement of protein-like fluorescence in river and waste water using a handheld spectrophotometer[J]. Water Research, 2004, 38(12):2934-2938.
- [54] AHMAD S R, REYNOLDS D M. Monitoring of water quality using fluorescence technique: Prospect of on-line process control[J]. Water Research, 1999, 33(9):2069-2074.
- [55] HUR J, HWANG S J, SHIN J K. Using synchronous fluorescence technique as a water quality monitoring tool for an urban river[J]. Water Air and Soil Pollution, 2008, 191(1-4):231-243.
- [56] GONE D L, SEIDEL J L, BATIOU C, et al. Using fluorescence spectroscopy EEM to evaluate the efficiency of organic matter removal during coagulation-flocculation of a tropical surface water (Agbo reservoir)[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 172(2-3):693-699.
- [57] BAGHOTI S A, SHARMA S K, AMY G L. Tracking natural organic matter (NOM) in a drinking water treatment plant using fluorescence excitation-emission matrices and PARAFAC[J]. Water Research, 2011, 45(2):797-809.
- [58] PIFER A D, MISKIN D R, COUSINS S L, et al. Coupling asymmetric flow-field flow fractionation and fluorescence parallel factor analysis reveals stratification of dissolved organic matter in a drinking water reservoir[J]. Journal of Chromatography A, 2011, 1218(27): 4167-4178.
- [59] BEUTLER M, WILTSHIRE K H, MEYER B, et al. Rapid depth-profiling of the distribution of 'spectral groups' of microalgae in lakes, rivers and in the sea. The method and a newly-developed submersible instrument which utilizes excitation of chlorophyll fluorescence in five distinct wavelength ranges[J]. In: Photosynthesis: Mechanisms and Effects, Vols I-V. 1998: 4301-4304.
- [60] BEUTLER M, WILTSHIRE K H, MEYER B, et al. A fluorometric method for the differentiation of algal populations in vivo and in situ[J]. Photosynthesis Research, 2002, 72(1):39-53.
- [61] GREGOR J, MARSALEK B. A simple in vivo fluorescence method for the selective detection and quantification of freshwater cyanobacteria and eukaryotic algae[J]. Acta Hydrochimica Et Hydrobiologica, 2005, 33(2): 142-148.
- [62] GREGOR J, MARSALEK B, SIPKOVA H. Detection and estimation of potentially toxic cyanobacteria in raw water at the drinking water treatment plant by in vivo fluorescence method[J]. Water Research,

- 2007, 41(1):228-234.
- [63] HENDERSON R K, BAKER A, PARSONS S A J, et al. Characterisation of algal organic matter extracted from cyanobacteria, green algae and diatoms[J]. *Water Research*, 2008, 42(13):3435-3445.
- [64] SINGH S, D'SA E J, SWENSON E M. Chromophoric dissolved organic matter (CDOM) variability in Barataria Basin using excitation-emission matrix (EEM) fluorescence and parallel factor analysis (PARAFAC)[J]. *Science of the Total Environment*, 2010, 408(16): 3211-3222.
- [65] 吕桂才, 赵卫红, 王江涛. 溶解有机物三维荧光光谱技术在赤潮藻识别中的应用[J]. *光谱学与光谱分析*, 2011, 31(1):141-144.
- [66] TANG S J, WANG Z W, WU Z C, et al. Role of dissolved organic matters (DOM) in membrane fouling of membrane bioreactors for municipal wastewater treatment[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 178(1-3): 377-384.
- [67] LIU T, CHEN Z L, YU W Z, et al. Characterization of organic membrane foulants in a submerged membrane bioreactor with pre-ozonation using three-dimensional excitation-emission matrix fluorescence spectroscopy[J]. *Water Research*, 2011, 45(5):2111-2121.
- [68] NAM S N, AMY G. Differentiation of wastewater effluent organic matter (EfOM) from natural organic matter (NOM) using multiple analytical techniques[J]. *Water Science and Technology*, 2008, 57(7): 1009-1015.

Research advances in water environment remediation and wastewater treatment based on three dimensional fluorescence spectroscopy technology

KONG Yun¹, ZHU Liang^{1*}, LV Meile¹, XU Xiangyang^{1,2}, QI Hanying¹

1. Department of Environmental Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China;

2. ZJU-UWA Joint Centre in Integrated Water Management and Protection, Hangzhou 310058, China

Abstract: With the rapid development of the society and economy, the water pollution issue is becoming more and more serious in China. The bloom algae that caused by the water pollution releases lots of derivatives into the natural environment during its metabolism, and these derivatives affect the aquatic ecological security and performance of water purification system. Analysis of the composition, property and source of the dissolved organic matter (DOM) in natural water and wastewater treatment system is important. Three dimensional fluorescence spectroscopy technology (TDFS) is a method that obtains the excitation-emission matrix (EEM) data by scanning emission fluorescence spectrum at different excitation wavelength, and then the three dimensional graphic model or contour (finger-print) is portrayed out based on the EEM data. In recent years, TDFS analysis technique is widely applied in the fields such as the monitoring of drinking water, and analysis of eutrophication and wastewater biological treatment, and the soluble organic matter, algae and algal toxins in aquatic environments are characterized. Compared to the traditional methods, TDFS has the advantages of high precision, convenient operation, rapid detection and low consumption. Based on the basic principle of TDFS, the classification of fluorescence peaks, influencing factors and applications of TDFS are reviewed in the paper, and the direction for further researches are suggested. It's hopeful to provide an advanced and reliable analysis technique for the water pollution control and polluted environment remediation.

Key words: three dimensional fluorescence spectroscopy (TDFS); water environment; wastewater treatment; dissolved organic matter (DOM); effect factors