



中国科学院大学

University of Chinese Academy of Sciences

## 博士学位论文

太湖水体溶解态有机氮来源、组成及生物可利用性

作者姓名: 姚晓龙

指导教师: 张运林 研究员 中国科学院南京地理与湖泊研究所

学位类别: 理学博士

学科专业: 环境科学

培养单位: 中国科学院南京地理与湖泊研究所

2019年6月

**Sources, Compositions, and Bioavailability of Dissolved Organic  
Nitrogen in Lake Taihu, China**

**A dissertation submitted to  
University of Chinese Academy of Sciences  
in partial fulfillment of the requirement  
for the degree of  
Doctor of Philosophy  
in Environmental Science**

**By**

**Xiaolong Yao**

**Supervisor: Professor Yunlin Zhang**

**Nanjing Institute of Geography and Limnology,  
Chinese Academy of Sciences**

**June 2019**

中国科学院大学  
研究生学位论文原创性声明

本人郑重声明：所呈交的学位论文是本人在导师的指导下独立进行研究工作所取得的成果。尽我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的研究成果。对论文所涉及的研究工作做出贡献的其他个人和集体，均已在文中以明确方式标明或致谢。

作者签名：姚晓龙

日期：2019.6.8

中国科学院大学  
学位论文授权使用声明

本人完全了解并同意遵守中国科学院有关保存和使用学位论文的规定，即中国科学院有权保留送交学位论文的副本，允许该论文被查阅，可以按照学术研究公开原则和保护知识产权的原则公布该论文的全部或部分內容，可以采用影印、缩印或其他复制手段保存、汇编本学位论文。

涉密及延迟公开的学位论文在解密或延迟期后适用本声明。

作者签名：姚晓龙

日期：2019.6.8

导师签名：朱运林

日期：2019.6.8

## 摘 要

氮的来源、组成、转化和归趋是影响湖泊富营养化进程的重要因素。长期以来, 由于被熟知的较高生物可利用性, 水体无机氮形态如硝态氮 ( $\text{NO}_3^-$ )、铵态氮 ( $\text{NH}_4^+$ ) 和亚硝态氮 ( $\text{NO}_2^-$ ) 在湖泊富营养化中的角色受到广泛关注, 而浓度通常更高的溶解态有机氮 (Dissolved Organic Nitrogen, DON) 的贡献却被严重忽略。传统观点认为 DON 是一类难以被浮游植物吸收利用、生物可利用性低的有机氮库。然而, 越来越多的研究表明, DON 中的众多组分可以被藻类和细菌直接吸收利用, 在局部水体中甚至成为营养物质的主要成分。由于 DON 来源广泛, 组成复杂, 曾一度被认为是水生生态系统食物网中巨大的“黑箱”。因此, 开展 DON 来源、组成、转化和归趋的研究对全面认识富营养化机理具有非常重要的意义。

在太湖流域, 高度的空间异质性和强烈的人类活动干扰使 DON 的来源和组成十分复杂, 不同来源 DON 的浮游藻类生物可利用性也知之甚少。由于在众多藻类中蓝藻利用 DON 具有一定的竞争优势, 在太湖中开展 DON 相关研究对充分认识太湖富营养化过程显得尤为重要。本文深入揭示了太湖水体 DON 浓度、来源、组成及生物可利用性, 主要研究结果包括:

(1) **太湖水体 DON 浓度存在显著的季节和空间差异:** 对 2008–2016 年间太湖 DON 浓度时空变化的分析显示, 太湖水体 DON 浓度变化范围为  $0\text{--}2.91\text{ mg L}^{-1}$ , 均值为  $0.74 \pm 0.55\text{ mg L}^{-1}$  ( $n=2160$ ), 并呈现显著的季节和空间差异。季节上, 春季水体 DON 浓度最高 ( $1.10 \pm 0.56\text{ mg L}^{-1}$ ), 冬季 ( $0.87 \pm 0.58\text{ mg L}^{-1}$ ) 和夏季 ( $0.54 \pm 0.37\text{ mg L}^{-1}$ ) 次之, 秋季浓度最低 ( $0.44 \pm 0.38\text{ mg L}^{-1}$ )。空间上, 太湖竺山湾 ( $1.30 \pm 0.60\text{ mg L}^{-1}$ )、西南沿岸 ( $0.98 \pm 0.59\text{ mg L}^{-1}$ ) 和梅梁湾 ( $0.75 \pm 0.53\text{ mg L}^{-1}$ ) DON 浓度较高, 开敞湖区 ( $0.68 \pm 0.47\text{ mg L}^{-1}$ )、贡湖湾 ( $0.63 \pm 0.45\text{ mg L}^{-1}$ )、胥口湾 ( $0.45 \pm 0.33\text{ mg L}^{-1}$ ) 及东太湖 ( $0.38 \pm 0.29\text{ mg L}^{-1}$ ) 次之, 五里湖 ( $0.26 \pm 0.20\text{ mg L}^{-1}$ ) 浓度最低。太湖水体 DON 浓度占总溶解态氮浓度的比例变化范围为  $0\%\text{--}85\%$ , 均值为  $38 \pm 17\%$ , 并在季节上相对稳定; 空间上, 这一比例在梅梁湾、贡湖湾、胥口湾、开敞湖区较高, 其次为东太湖、西南沿岸、竺山湾和五里湖。对 2016 年调查数据的相关分析表明, 太湖水体 DON 浓度与

水体溶解氧浓度、碱度、电导率、硫酸盐浓度、溶解性碳和溶解性无机碳浓度均呈现显著正相关 ( $p < 0.01$ ), 而与水体 pH、水温呈显著负相关 ( $p < 0.01$ )。

(2) **综合运用多种技术方法对太湖水体典型来源 DON 组成进行了表征:**

运用目前唯一能够在分子水平上表征 DON 的超高分辨率傅里叶变换-离子回旋共振质谱分析方法, 结合传统紫外-可见吸收、三维荧光光谱, 对太湖水体典型内源和外源 DON 的组成进行了联合表征。其中 DON 的内源包括: 藻降解、水草降解、沉积物间隙水; 外源包括: 地下水、大气湿沉降、稻田农业径流、自然溪流、自然土壤淋溶、生活污水。结果表明, 不同来源水样中鉴定出的 DON 分子式数量呈现显著差异, 但均表现出类木质素组分的分子式数量最多, 约占含氮分子式总数的 49%–80%。在 DON 的内源中, 藻降解水相对丰度权重下的 N/C 最高, 并且具有最高的易降解性。受人类影响下的外部来源(如生活污水和农业径流)易降解 DON 组分(如蛋白质和氨基酸)的比例较高, 而外部自然来源(如自然土壤淋溶)水样含有更高比例的稳定难降解 DON 组分(如不饱和碳氢化合物和稠环芳烃), 从而证实人类活动可能会增加易降解的 DON 向太湖输入。

(3) **解析并获得了太湖水体 DON 各来源贡献权重:** 通过测定太湖各湖区及不同来源水样的稳定碳氮同位素自然丰度 ( $\delta^{13}\text{C}$  和  $\delta^{15}\text{N}$ ), 结合 MixSIAR 稳定同位素混合模型分析, 获得了太湖水体 DON 各不同来源的权重。同时, 结合 DON 浓度与紫外-可见吸收光谱、三维荧光光谱参数的相关分析, 判断了 DON 的来源。基于稳定同位素的结果表明, 太湖 DON 不同来源里土壤淋溶水权重最高(22.4%), 其次为溪流源头水、沉积物间隙水、农业径流水、藻降解水和地下水 (> 10%), 生活污水 (7.9%) 和水草降解 (6.2%) 最低。基于光谱的结果表明, DON 在冬季主要受外源输入影响, 而夏季可能主要受到内源过程的影响, 因而 DON 来源预测需考虑季节因素。

(4) **揭示了太湖水体 DON 的再悬浮沉积物光溶解来源:** 通过对自然光辐射驱动下太湖沉积物颗粒态有机质向溶解态转变(即光溶解)的室外模拟研究发现, 持续的光照(10天)最终导致溶解态有机碳和 DON 浓度显著增加, 然而光照并没有导致溶解态无机氮浓度显著增加, 因而与太湖水体无机氮的来源相比, 太湖再悬浮沉积物的光溶解过程是 DON 相对更重要的来源。在 DON 组成上, 持续光照导致类腐殖酸荧光组分的相对丰度增加, 并且导致木质素、不饱和碳氢化合物、单宁等含氮组分的相对丰度增加, 而被降解的含氮组分主要是脂类、蛋

白质和氨基酸，最终（光照培养第 31 天）DON 化合物的芳香性指数（ $AI_{mod}$ ）、双键当量（DBE）、N/C 及相对丰度权重下的  $AI_{mod-w}$ 、 $DBE_w$ 、 $N/C_w$  均显著增加。

（5）揭示了太湖水体 DON 的浮游藻类光化学来源：自然光辐射下浮游藻类的室外模拟培养显示藻经历先死亡降解又复活生长的过程，降解过程 DON 的释放速率约为生长过程的 12 倍。培养第 18 天，溶解态无机氮磷浓度呈几乎耗尽的状态，而 DON 浓度增加到培养开始时的 271%，但显著低于此时的黑暗控制组。藻降解期间，主要荧光组分（C1-C3）的相对丰度均逐渐增加，而藻复活及生长期间，陆源腐殖酸组分 C1 和类色氨酸组分 C2 先降低后缓慢增加，从而证实藻自身降解产生的 DON 在特定情况下能够维持藻的生长。

（6）明晰了太湖典型自然和人为来源 DON 的生物可利用性：对太湖典型自然和人为来源 DON 的生物可利用性进行了研究，其中自然来源包括藻和水草降解，人为来源包括稻田农业径流和污水处理厂处理后的生活污水、化工污水。结果显示，培养第 5 天时 DON 添加组叶绿素浓度均显著增加，比第 0 天增加  $22.6-92.4 \mu\text{g L}^{-1}$ ，并且均显著高于等量无机氮磷添加的控制组以及空白添加组（ $p < 0.01$ ）。除化工污水添加组芳香性降低外，其他来源添加组芳香性均增加（光谱斜率  $S_{275-295}$  降低）。太湖藻和水草降解以及生活污水中的 DON 比其他来源 DON 具有更高的生物可利用性，可能成为蓝藻水华暴发时营养盐的重要补充，进而加剧湖泊富营养化。

本学位论文对内外源来源复杂的太湖水体 DON 浓度、来源、组成及生物可利用性开展了较为系统的研究，未来仍需要进一步筛选和优化 DON 来源辨别方法，强化分子水平上 DON 迁移转化和生物可利用性研究。

**关键词：**溶解态有机氮，浓度，来源，组成，生物可利用性，太湖

## Abstract

Sources, compositions, transformations, and fates of nitrogen (N) are important factors influencing the eutrophication of lake ecosystems. For a long time, inorganic N forms such as ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ), nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ), and nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ) have received much more attention in lake eutrophication due to their well-known high bioavailability, while the contribution of dissolved organic nitrogen (DON), of which the concentration is usually higher, was overlooked. Traditionally, the DON pool was considered to be primarily composed of recalcitrant components that were difficult to be utilized by phytoplankton, and therefore showed low bioavailability. However, in the past few decades, the DON pool in total dissolved nitrogen has attracted renewed attention because a growing body of evidence shows that phytoplankton can obtain substantial N nutrition from numerous DON components. DON even becomes a major contribution of nutrients to some waters. Due to the wide range of sources and the complex composition, DON was once considered as a huge “black box” in the food web of aquatic systems. Therefore, studies on the source, composition, transformation, and bioavailability of DON are important to comprehensively understand the mechanism of eutrophication.

In Lake Taihu basin, sources and compositions of DON are complicated due to the high spatial heterogeneity and strong interference of human activities in this area. Furthermore, the bioavailability of DON originating from both autochthonous and allochthonous sources to microbial communities is also unknown. Because cyanobacteria are more competitive on utilizing DON as a substantial N nutrition than many other algae species, studies on DON dynamics in Lake Taihu are particularly important for understanding its eutrophication. This dissertation reveals the concentration, source, composition, and bioavailability of DON in the water column of Lake Taihu. Major findings include:

(1) **Significant seasonal and spatial differences in DON concentrations were found in Lake Taihu:** Analysis of the temporal and spatial variation of DON concentrations between 2008 and 2016 suggests that DON concentrations ranged from 0 to  $2.91 \text{ mg L}^{-1}$ , with a mean of  $0.74 \pm 0.55 \text{ mg L}^{-1}$  ( $n = 2160$ ), and showed significant seasonal and spatial differences. Seasonally, DON concentrations were the highest in spring ( $1.10 \pm 0.56 \text{ mg L}^{-1}$ ), followed by winter ( $0.87 \pm 0.58 \text{ mg L}^{-1}$ ) and summer ( $0.54$

$\pm 0.37 \text{ mg L}^{-1}$ ), and were the lowest in autumn ( $0.44 \pm 0.38 \text{ mg L}^{-1}$ ). Spatially, DON concentrations in Zhushan Bay ( $1.30 \pm 0.60 \text{ mg L}^{-1}$ ), the southwest coastal area ( $0.98 \pm 0.59 \text{ mg L}^{-1}$ ), and Meiliang Bay ( $0.75 \pm 0.53 \text{ mg L}^{-1}$ ) were higher, followed by the open area ( $0.68 \pm 0.47 \text{ mg L}^{-1}$ ), Gonghu Bay ( $0.63 \pm 0.45 \text{ mg L}^{-1}$ ), Xukou Bay ( $0.45 \pm 0.33 \text{ mg L}^{-1}$ ) and East Taihu Bay ( $0.38 \pm 0.29 \text{ mg L}^{-1}$ ), and were the lowest at Lake Wuli ( $0.26 \pm 0.20 \text{ mg L}^{-1}$ ). The ratio of DON to TDN ranged from 0% to 85%, with a mean of  $38 \pm 17\%$ , and was relatively stable from season to season; spatially, this ratio at Meiliang Bay, Gonghu Bay, Xukou Bay, and the open area was higher, followed by East Taihu Bay, the southwest coastal area, Zhushan Bay, and Lake Wuli. Correlation analyses showed that the concentration of DON in 2016 was significantly and positively correlated with alkalinity, conductivity, and the concentration of dissolved oxygen, sulfate, total dissolved carbon, and total inorganic carbon ( $p < 0.01$ ), while significantly and negatively correlated with pH and water temperature ( $p < 0.01$ ).

**(2) The composition of DON from typical sources was characterized using multiple techniques:** DON from both autochthonous and allochthonous sources was investigated at the molecular level using the electrospray ionization coupled with Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. Optical properties of DON were also investigated using the UV-visible (UV-Vis) absorbance spectroscopy and the three-dimensional excitation emission matrixes (3D EEMs) fluorescence spectroscopy techniques. The autochthonous sources of DON include: algae-derived water, macrophyte-derived water, and sediment porewater; the allochthonous sources include: upper stream, groundwater, agricultural runoff, domestic sewage, soil leachates, and rainwater. Results showed that the number of N-containing species varied significantly with the source of DON, while lignin-like components were the most abundant for all sources, accounting for 49%–80% of the total assigned DON formulas. Among the autochthonous sources of DON, algae-derived water showed the highest fraction of N-containing formulas and magnitude-weighted N/C ratio, and was considered to have the highest lability. Allochthonous anthropogenic sources (e.g., domestic sewage and agricultural runoff) contain higher fractions of labile DON components than natural allochthonous sources (e.g., rainwater and soil leaches), which contain considerably higher fractions of refractory DON components with high double bond equivalent (DBE) and aromaticity index ( $AI_{\text{mod}}$ ). Thus, this study confirms that human activities can increase inputs of easily degradable DON to Lake Taihu.

(3) **The contribution of each source to DON in Lake Taihu was analyzed:** By measuring stable carbon and nitrogen isotopic natural abundances ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ) of samples from each lake area in Lake Taihu and in different source waters, combined with the MixSIAR stable isotope mixture model, the relative contributions of different sources to DON in Lake Taihu were quantified. Meanwhile, sources of DON in Lake Taihu were also predicted by measuring and analyzing UV-Vis and 3D EEMs parameters. Results based on the stable carbon and nitrogen isotope data showed that soil leaches water was the largest contributor (22.4%) to the DON in Lake Taihu, followed by upper stream water, sediment porewater, agricultural runoff, algae-derived water, and groundwater (> 10%). Domestic sewage (7.9%) and macrophyte-derived water (6.2%) were two relatively small contributors to the DON in Lake Taihu. Results based on the spectral data showed that DON in winter primarily came from allochthonous sources, while in summer a larger part of DON might come from autochthonous sources. Therefore, seasons should be considered when predicting sources of DON in Lake Taihu.

(4) **The photodissolution source of DON from resuspended sediments was revealed:** An outdoor simulation study on the transformation of sediment particulate organic matter to dissolved forms (ie, photodissolution) driven by natural sunlight radiation was conducted. Results showed that that continuous natural sunlight exposure (10 days) eventually resulted in a significant increase in dissolved organic carbon and DON concentrations ( $p < 0.01$ ). However, natural sunlight did not cause a significant increase in DIN concentrations, indicating that the photodissolution of resuspended sediments in Lake Taihu was a relatively more important source of DON than that of inorganic N. For changes in the DON composition, continuous sunlight exposure resulted in an increase in the abundance of the humic-like fluorescent component, and led to an increase in the relative abundance of DON components such as lignin, unsaturated hydrocarbons, and tannins, and the labile N-containing components were lipids, proteins and amino acids. Upon 31 days' sunlight exposure, the  $\text{AI}_{\text{mod}}$ , DBE, N/C of DON increased significantly.

(5) **The photochemical metabolism source of DON from phytoplankton was revealed:** The production of DON from phytoplankton under natural summer sunlight and outdoor simulation conditions was studied. Results showed that the phytoplankton species experienced the processes of death and revival. The release rate of DON (based on bulk concentrations) during the degradation period was higher than that during the

growth period. Upon 18 days' exposure of sunlight, DIN and  $\text{PO}_4^{3-}$  was almost depleted, while the concentration of DON increased to 271% of the value at the beginning of the incubation and was significantly lower than that of the dark control ( $p < 0.01$ ). During the degradation period of phytoplankton (0–3 days), concentrations of the fluorescent components (C1–C3) increased with the incubation time. During the revival and growth period of phytoplankton, the components of humic-like C1 and protein-like C2 decreased for a short period and then increased slowly, which suggests that DON produced by the self-degradation of phytoplankton can be used as N nutrition again at certain conditions to support the growth of phytoplankton.

**(6) The bioavailability of typical natural and anthropogenic sources of DON in Lake Taihu was clarified:** Typical natural sources of DON include algae- and macrophyte-derived water; typical anthropogenic sources of DON include domestic sewage, industrial wastewater, and paddy agricultural runoff. Domestic sewage and industrial wastewater had been treated by wastewater treatment plants. Results showed that the concentrations of chlorophyll *a* within the DON addition bioassays increased significantly at day 5 during the incubation with increase values of 22.58–92.37  $\mu\text{g Chl } a \text{ L}^{-1}$ , which were significantly higher than those of controls. The aromaticity of DON within the industrial wastewater addition bioassays decreased, while the aromaticity within other DON addition bioassays increased (the spectral slope  $S_{275-295}$  decreased). DON from algae- and macrophyte-derived water and domestic sewage were more bioavailable than from other sources. These results confirm that DON from some natural sources of Lake Taihu and anthropogenic sources (such as domestic sewage) have strong bioavailability and can be an important nutrition for phytoplankton in Lake Taihu.

This dissertation conducts a systematic study on the concentrations, sources, compositions, and bioavailability of DON in Lake Taihu. In the future, it is still necessary to optimize the estimation method of different source contributions to DON in Lake Taihu. In addition, the transformation and bioavailability of DON at the molecular level should be emphasized.

**Key Words:** dissolved organic nitrogen (DON), concentrations, sources, compositions, bioavailability, Lake Taihu

摘 要.....	I
Abstract.....	V
目 录.....	IX
第 1 章 绪论.....	1
1.1 研究意义.....	1
1.2 国内外研究现状与趋势.....	2
1.2.1 DON 的浓度、组成及表征.....	2
1.2.2 DON 来源.....	10
1.2.3 DON 归趋.....	12
1.2.4 DON 与 DOC 耦合关系.....	15
1.2.5 存在的问题及未来研究方向.....	15
1.3 研究思路与研究目标.....	16
1.4 研究内容.....	17
1.4.1 太湖 DON 浓度的时空格局及其与环境因子的关系.....	17
1.4.2 太湖及其流域内典型来源 DON 的组成表征.....	17
1.4.3 太湖水体 DON 各来源权重定量.....	17
1.4.4 太湖水体 DON 的再悬浮沉积物光溶解来源.....	17
1.4.5 太湖水体 DON 的浮游藻类光化学来源.....	18
1.4.6 太湖典型自然和人为来源 DON 的生物可利用性.....	18
1.5 技术路线.....	18
1.6 创新点.....	18
第 2 章 太湖水体 DON 浓度时空格局及其与环境因子的关系.....	21
2.1 引言.....	21
2.2 材料与方法.....	22
2.2.1 采样点分布.....	22
2.2.2 水体基本理化性质测定方法.....	23
2.2.3 水体 DON 浓度的计算.....	23
2.3 结果.....	24
2.3.1 DON 浓度时间变化特征.....	24

2.3.2	DON 浓度空间变化特征.....	26
2.3.3	DON 浓度与环境因子间的关系.....	27
2.4	讨论.....	29
2.5	结论.....	30
<b>第 3 章</b>	<b>太湖水体典型来源 DON 的组成表征.....</b>	<b>33</b>
3.1	引言.....	33
3.2	材料与方法.....	34
3.2.1	野外样品采集.....	34
3.2.2	营养盐和 DOC 浓度测定.....	35
3.2.3	紫外-可见吸收光谱测定.....	36
3.2.4	三维荧光光谱测定.....	37
3.2.5	超高分辨率傅里叶变换离子回旋共振质谱测定.....	38
3.3	统计分析.....	40
3.4	结果.....	41
3.4.1	营养盐和 DOC 浓度.....	41
3.4.2	紫外-可见吸收光谱表征.....	42
3.4.3	三维荧光光谱表征.....	44
3.4.4	超高分辨率质谱表征.....	47
3.5	讨论.....	55
3.5.1	DON 浓度及不稳定组分高的来源.....	55
3.5.2	稳定难降解 DON 组分较高的来源.....	57
3.5.3	太湖 DON 的潜在重要来源.....	57
3.5.4	多方法联合表征 DON 组成：一致性.....	58
3.6	结论.....	60
<b>第 4 章</b>	<b>太湖水体 DON 各来源贡献权重定量.....</b>	<b>63</b>
4.1	引言.....	63
4.2	材料与方法.....	64
4.2.1	样品采集.....	64
4.2.2	样品分析.....	64
4.3	统计分析.....	65
4.4	结果.....	66
4.4.1	太湖水体及典型来源水样各荧光组分丰度.....	66

4.4.2	太湖水体及典型来源水样稳定碳氮同位素自然丰度.....	67
4.4.3	基于稳定同位素的太湖水体 DON 各来源权重判别.....	69
4.4.4	基于光谱的太湖水体 DON 来源解析.....	70
4.5	讨论.....	73
4.6	结论.....	74
<b>第 5 章 太湖水体 DON 的再悬浮沉积物光溶解来源.....</b>		<b>75</b>
5.1	引言.....	75
5.2	材料与方法.....	76
5.2.1	样品采集.....	76
5.2.2	室外培养及取样.....	76
5.2.3	样品分析.....	76
5.3	统计分析.....	77
5.4	结果.....	77
5.4.1	无机营养盐、DOC 和 DON 的光化学产生.....	77
5.4.2	光学参数的变化.....	79
5.4.3	超高分辨率质谱参数的变化.....	83
5.5	讨论.....	85
5.6	结论.....	87
<b>第 6 章 太湖水体 DON 的浮游藻类光化学来源.....</b>		<b>89</b>
6.1	引言.....	89
6.2	材料与方法.....	90
6.2.1	样品采集.....	90
6.2.2	室外培养及取样.....	90
6.2.3	样品分析.....	91
6.3	结果.....	91
6.3.1	无机营养盐、DOC 和 DON 的光化学产生.....	91
6.3.2	光学参数的变化.....	93
6.3.3	超高分辨率质谱参数的变化.....	96
6.4	讨论.....	98
6.5	结论.....	99
<b>第 7 章 太湖典型自然和人为来源 DON 的生物可利用性.....</b>		<b>101</b>
7.1	引言.....	101

7.2 材料与方法 .....	102
7.2.1 点位描述与样品采集.....	102
7.2.2 DON 添加下的生物培养试验 .....	103
7.2.3 营养盐和叶绿素浓度测定.....	104
7.2.4 紫外-可见吸收光谱、三维荧光光谱参数测定 .....	104
7.3 结果 .....	105
7.3.1 叶绿素和 DON 浓度变化.....	105
7.3.2 TDN、TDP 和无机氮磷浓度变化.....	106
7.3.3 DOC 浓度和光学参数的变化 .....	110
7.4 讨论 .....	115
7.5 结论 .....	117
第 8 章 总结与展望 .....	119
8.1 总结 .....	119
8.2 研究不足 .....	120
8.3 展望 .....	121
参考文献.....	125
附录 非标准首字母缩写词的术语表 .....	141
致 谢.....	143
作者简历及攻读学位期间发表的学术论文与研究成果 .....	147

## 第1章 绪论

### 1.1 研究意义

溶解态有机氮(Dissolved Organic Nitrogen, DON)是溶解态有机质(Dissolved Organic Matter, DOM)库的一部分,是有机氮的重要组成部分,并且是颗粒态有机氮(Particulate Organic Nitrogen, PON)转化的中间物质(Berman and Bronk, 2003; Aluwihare and Meador, 2008; Johnson et al., 2013b)。水体中的 DON 浓度通常比溶解态无机氮(Dissolved Inorganic Nitrogen, DIN)的浓度要高,并且能够持续,以至于长期以来被认为是难降解的并且只能为细菌所利用(Bronk et al., 2007)。近年来的研究表明,水体中高浓度 DON 的维持是产生和消耗过程紧密耦合的结果, DON 库处于动力学平衡过程中,其不仅能被细菌作为生长的能源,还能被浮游植物利用并从中获得氮素营养(Bronk et al., 2007; Voss et al., 2013)。一方面,浮游生物群落可以利用包括 DON 在内的多种形态氮素来获得实质的氮素营养,例如 DON 中的尿素、核酸、甲胺等众多组分可以被浮游植物和细菌直接或间接地利用(Bronk et al., 2007; Qin et al., 2015);另一方面,不同的浮游生物利用不同形态氮素的能力不同,这同时影响了浮游生物群落的种群组成(Berman and Chava, 1999; Berman and Bronk, 2003; Glibert et al., 2016)。甚至当以腐殖质作为唯一氮源时,蓝藻在众多藻类中的生长速率和产量达到最高(Berman and Chava, 1999)。一些有毒藻种如水华束丝藻(*Aphanizomenon flosaquate*)和铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)在无机氮缺乏而有机氮含量高时生长良好,在几种常见藻类中具有较强的竞争力(Berman and Chava, 1999)。藻类和其他浮游植物在利用氮磷作为生长的营养时,氨氮和正磷酸盐通常首先被利用(吴丰昌等, 2010),但能被浮游植物直接利用的氨氮仅占水体总氮的一小部分, DON 成为水体氨氮的重要补偿途径之一(黄丽娟等, 2005; 吴丰昌等, 2010)。自然水体中 DON 并不是惰性的,可以作为浮游植物潜在的、直接的或间接的氮源,还可能成为重要的氮汇(Berman, 1997; Berman and Chava, 1999; Berman and Bronk, 2003; Sipler and Bronk, 2015)。因此, DON 作为水生生态系统中氮循环动力学重要的参与者,其潜在的角色亟待被充分地认识,尤其是针对淡水水体(Berman and Bronk, 2003)。

当前我国众多湖泊面临严峻的富营养化问题,总氮、总磷、无机氮磷等营养

盐被认为是富营养化的重要驱动因子(秦伯强, 2002)。尽管过去几十年对这些营养物质进行了大量研究和负荷削减, 但目前对水体富营养化机理还不完全清楚, 一些湖泊(如太湖)蓝藻水华每年仍然持续暴发(Qin et al., 2019)。近年来的研究表明, 不稳定易降解 DON 的浓度及生物可利用性在一些高度发达的流域甚至超过了 DIN(Petrone et al., 2009)。因此, DON 的源汇过程研究对充分认识湖泊氮循环过程及富营养化机理具有非常重要的意义, 特别是在湖泊水体及主要微界面(颗粒物-水、沉积物-水和水-气) DON 的生物可利用性的变化及影响因素方面(吴丰昌等, 2010), 然而目前相关研究极为缺乏。另外, 由于在众多藻类中蓝藻利用 DON 具有一定的竞争优势, DON 来源与转化的研究对充分认识我国湖泊富营养化过程显得尤为重要。

## 1.2 国内外研究现状与趋势

### 1.2.1 DON的浓度、组成及表征

对 DON 的研究最重要的是建立可靠的方法对 DON 浓度进行高精度的定量(Bronk and Ward, 2000)。传统的 DON 测定方法采用差减法, 首先要获得溶解态总氮(Total Dissolved Nitrogen, TDN)的精确浓度值, 再减去其中所含的铵态氮( $\text{NH}_4^+$ )、硝态氮( $\text{NO}_3^-$ )和亚硝态氮( $\text{NO}_2^-$ )浓度之和。差减法估算 DON 浓度的同时混杂了 TDN、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ 三方面的分析误差, 具有很大的局限性(罗专溪等, 2010; Sipler and Bronk, 2015)。许多研究涉及了 DON 测定方法的比较与优化(Bronk and Ward, 2000; Sharp et al., 2004; Torres - Valdés et al., 2009; 阎雪姣, 2011; Chen et al., 2019), 然而没有一种方法显示出特别的优越性, DIN/TDN 比值过高是误差的主要来源(Sipler and Bronk, 2015)。

水体 DON 及其组分浓度可能存在显著的时空变化。目前 DON 的相关研究主要聚焦在海洋、近海、河口和河流生态系统, 而湖泊生态系统中 DON 动力学相关研究较为缺乏, 部分湖泊与河流生态系统中 TDN 和 DON 浓度可见表 1.1。Zhang 等(2015)研究了国内 17 个东部浅水湖泊的 DON 浓度的时空变化, 湖泊表层 DON 浓度在冬季较高 ( $0.004\text{--}0.666 \text{ mg L}^{-1}$ ), 可能与沉积物释放有关, 而夏季较低 ( $0.006\text{--}0.335 \text{ mg L}^{-1}$ ), 可能与浮游藻类和细菌对 DON 的吸收有关, 尤其是当浮游植物死亡降解、叶绿素 *a* 消失时, DON 浓度开始增加。罗勇等(2017)研究了厦门海域秋冬季节(2015 年 10 月和 2016 年 1 月) DON 浓度时空变化特

征, DON 浓度均值冬季高于秋季, 整体呈内湾、河口区高于湾口区, 即近岸高远岸低的格局, 其相关分析表明 DON 浓度与水体盐度呈极显著负相关( $p < 0.01$ ), 与磷酸盐、硅酸盐浓度呈极显著正相关 ( $p < 0.01$ ), 而与叶绿素 *a* 浓度、溶解氧浓度、pH 值仅在特定季节和水深存在相关性。阎雪姣等(2011)对东海赤潮高发区 DON 浓度时空变化特征的研究表明, DON 浓度与盐度呈显著负相关, 暗示受到陆地径流和降水的影响, 同时 DON 浓度还与叶绿素呈负相关关系, 但在 5 月赤潮爆发期相关性不显著, 可能由于赤潮期间 DON 被藻类快速消耗。Chen 等(2015)对台湾基隆市大气湿沉降 DON 浓度的研究显示, DON 占 TDN 的  $37 \pm 5\%$ , 并通过超滤区分了 HMW-DON 和 LMW-DON, HMW-DON 和 LMW-DON 分别占 DON 的  $84 \pm 3\%$  和  $16 \pm 3\%$ , 其浓度均在冬季高夏季低。另外, Collos 等(1996)采用稳定氮同位素添加研究了一个沿海池塘 DON 的日变化, DON 浓度白天最高, 夜间最低, 并与硝酸盐浓度表现出相反趋势 (硝酸盐浓度变化可解释 74% 的 DON 浓度变化), 悬浮物中缺少来自硝酸盐同位素标记的  $^{15}\text{N}$  的积累也证实这一点(Collos et al., 1996), 此外, 二磷酸核酮糖羧化酶 (Rubisco, 所有自养型生物中均有发现) 仅与硝酸盐浓度相关,  $\beta$ -羧化酶仅与氨氮浓度有关, Rubisco 与 DON 间的不相关表明 DON 多被异养生物所利用(Collos et al., 1996)。在 24 小时内 DON 的变化可能如 DIN 一样强烈, 因此在氮代谢的研究中不能被忽略(Collos et al., 1996)。Zehr 等(1988)连续三年对亚高山带的 Castle 湖 DON 动力学研究显示 DON 浓度与颗粒态氮、初级生产速率和叶绿素浓度未表现出一致的相关性, 而 DON 浓度在其中两年水温上升、硅藻衰亡的生长季节出现上升。

表 1.1 部分湖泊与河流生态系统中 DON 浓度及其占 TDN 的比例

Table 1.1 Concentrations of DON and its percentages in TDN in some lake and river ecosystems

采样地点	采样日期	采样深度 (m)	DON 浓度 ( $\mu\text{mol N L}^{-1}$ )	TDN 浓度 ( $\mu\text{mol N L}^{-1}$ )	DON:TDN (%)	参考文献
国内湖泊						
星云湖	2016/07/29	表层	$70.1 \pm 3.4$	$94.6 \pm 3.5$	$53.0 \pm 0.7$	未发表数据*
抚仙湖	2016/07/29	表层	$0.1 \pm 0.3$	$5.3 \pm 0.7$	$1.5 \pm 3.4$	未发表数据*
滇池	2016/07/30	表层	$24.4 \pm 8.0$	$43.0 \pm 2.4$	$40.3 \pm 12.5$	未发表数据*

呼伦湖	2016/08/22	表层		$105.9 \pm 5.7$			未发表数据*
贝尔湖	2016/08/23	表层		$58.5 \pm 9.2$			未发表数据*
千岛湖	2016/07/05	表层	$34.5 \pm 14.0$	$87.5 \pm 16.0$	$27.5 \pm 6.1$		未发表数据*
太平湖	2016/07/06	表层	$20.4 \pm 2.9$	$69.9 \pm 5.3$	$20.8 \pm 1.4$		未发表数据*
鄱阳湖	2016/10/10	表层	$51.5 \pm 22.2$	$129.6 \pm 37.8$	$28.6 \pm 9.5$		未发表数据*
程海	2016/07/19	表层	$34.6 \pm 1.3$	$186.5 \pm 4.4$	$50.4 \pm 2.5$		未发表数据*
泸沽湖	2016/07/20	表层	$19.3 \pm 15.4$	$80.4 \pm 16.1$	$48.8 \pm 18.2$		未发表数据*
茈碧海	2016/07/24	表层	$4.5 \pm 2.9$	$117.5 \pm 2.3$	$23.3 \pm 12.2$		未发表数据*
洱海	2016/07/25	表层	$12.5 \pm 5.9$	$142.9 \pm 1.6$	$30.9 \pm 13.4$		未发表数据*
杞麓湖	2016/07/27	表层	$87.1 \pm 4.7$	$317.9 \pm 2.9$	$49.9 \pm 2.1$		未发表数据*
异龙湖	2016/07/28	表层	$32.3 \pm 39.4$	$272.0 \pm 34.4$	$24.7 \pm 21.0$		未发表数据*
东部 17 个浅水湖	2011/11–2013/05	0.15–4	0.3–47.6	20.0–53.6	22–56		(Zhang et al., 2015)
鄱阳湖	2011/11–2013/05	表层	12.4	41.5	30		(Zhang et al., 2015)
太湖	2011/11–2013/05	表层	15.1	30.8	49		(Zhang et al., 2015)
龙感湖	2011/11–2013/05	表层	5.0	23.0	22		(Zhang et al., 2015)
<b>国外湖泊</b>							
丹麦 Arbutus 湖	2009/05–2010/06	3	11.4				(Kang and Mitchell, 2013)
瑞典北方湖泊	2009/09–2010/06	4	$27.9 \pm 11.4$				(Kothawala et al., 2014b)
日本 Kizaki 湖			4.8–12.5	$15.9–24.0$			(Takahashi and Saijo, 1981)
日本 Biwa 湖			4.0–7.2	$7.0–8.0$			(Mitamura, 1981)
德国 Plussee 湖		0–15	47.1	$51–104$			(Münster and Albrecht, 1994)
美国 Mendota 湖		表层	44.7	42.3			(Wetzel, 2001)
<b>河流</b>							
美国 York 河	2009/08	表层	$20.5 \pm 0.1$	$21.6 \pm 0.1$	94.9		(Baer, 2013)
俄罗斯 Yenisey 河	2003/06–2006/11	表层	$12.5 \pm 0.07$	$18.3 \pm 1.0$	68.3		(Cooper et al., 2008; Letscher et al., 2013)

俄罗斯 Lena 河	2003/06 -2006/11	表层	16.6 ± 0.9	20.1 ± 1.1	82.6	(Cooper et al., 2008; Letscher et al., 2013)
美国 Delaware 河	1998/07	表层	7.8 ± 0.7	66.0 ± 1.2	12.0 ± 1.0	(Wiegner et al., 2006)
美国 Savannah 河	1998/07	表层	8.4 ± 1.8	42.6 ± 1.6	20.0 ± 4.0	(Wiegner et al., 2006)

\*基于调查的未发表数据

DON 在组成上是多种化合物的非均匀混合物，由少量不稳定组分（数秒至数小时，几乎难以累积到可测定的浓度）、半不稳定组分（与季节有关）及大量难降解组分（数年）等至少三个库组成，其中有些组分已被鉴别，如尿素、水溶性复合氨基酸（DCAA）、水溶性游离氨基酸（DFAA）、腐殖酸、富里酸和其他有机化合物如核酸、嘌呤、嘧啶、甲胺、肌酸等(Antia et al., 1991; Sipler and Bronk, 2015)。DON 在组成上具有多样性和复杂性并且目前缺乏对 DON 循环的控制因子的认识，另外还受到分子水平上分析方法的限制，导致 DON 中大部分化合物组成仍未被鉴别，因而 DON 分离、表征和定量对这些问题的解决至关重要。

对 DON 组成的研究首先要对 DON 进行分离。DON 分离仍是一项艰难的任务并且没有统一或普遍适用的方法，当前的方法很少运用各种手段直接研究 DON 的保留，结果往往有些偏颇(Aluwihare and Meador, 2008; Worsfold et al., 2008)。目前 DON 分离应用最多的方法有通过超滤、纳滤或微滤进行尺寸大小分级(Kaiser and Benner, 2009)、固相萃取(Dittmar et al., 2008)、串联反渗透(Vetter et al., 2007; Koprivnjak et al., 2009)和电渗析(Vetter et al., 2007; Chen et al., 2019)等(图 1.1)。运用纳米过滤进行水样预处理能够降低 DIN 的浓度从而提高 DON 测定的准确度(Xu et al., 2010a; Bin et al., 2011; Huo et al., 2014)。另外，超过 24 小时的渗析预处理和硝酸盐催化还原预处理都能降低 DIN 对准确度的影响，后者需要的时间较短(Wontae and Paul, 2005; Ambonguilat et al., 2006)。Huo 等(2014)采用纳米过滤预处理的方法研究了北京奥林匹克森林公园中 DON 的浓度及组成特点，NF270 比 NF90 膜在降低 DIN/TDN 和截留 DOC 上表现更为出色，DON 多以小分子为主(< 3 kDa 占比超过 48%)，浓度范围为 0.01–0.83 mg L<sup>-1</sup>(Huo et al., 2014)。总的来看，海洋生态系统中可辨别的低分子量 (Low Molecular Weight, LMW) 化合物如尿素、DCAA 和 DFAA 各占总 DON 库的约 5%–10%，而 DON 库的大约 30%由高分子量 (High Molecular Weight, HMW, > 1 kDa) 化合物组成，这部分 HMW-DON 约 20%–30%由可水解的氨基酸和酰胺构成，尽管关于腐殖质中氮

浓度的相关数据较少, HMW-DON 中还包括了腐殖质组分(Sipler and Bronk, 2015)。

随着现代仪器分析技术的提高, DON 的表征出现很多新的方法, 而 DON 的最大回收率和能够表征的程度取决于特定的样品和使用的分离方法, 与上述分离方法境况相同, 没有哪一种表征方法显示出特别的优越性(Sipler and Bronk, 2015)。许多仪器和技术手段已被用来表征 DON, 包括核磁共振光谱法(NMR)(Aluwihare et al., 2005; Maie et al., 2006)、傅里叶变换离子回旋共振超高分辨率质谱 (FT-ICR MS) (Kujawinski et al., 2004)、自然丰度质谱分析(Knapp et al., 2005)、元素分析、红外分析 (IR)、高效液相色谱法 (HPLC)、凝胶电泳法、X-射线法、高分辨率质谱法等(Maie et al., 2006; 吴丰昌 等, 2010; Sipler and Bronk, 2015) (图 1.1)。表征范围包括元素和分子表征、官能团表征、分子质量表征及电荷分析等。Maie 等 (2006)研究了佛罗里达州沿海沼泽 (FCE) 河流和河口环境超滤溶解态有机质 (Ultrafiltered Dissolved Organic Matter, UDOM,  $< 0.7 \mu\text{m}$ ,  $> 1 \text{kDa}$ ) 的来源、生物可利用性和成岩状态。其研究应用交叉极化魔角旋转核磁共振 (CPMAS-NMR) 和 X 射线光电子能谱 (XPS) 分析了 UDOM 的含氮组分, 应用水溶性氨基酸 (HAAs) 的浓度和组成来评价 UDOM 的生物可利用性和成岩状态, 并应用紫外-可见和荧光光学特征以及碳氮稳定同位素比值来评价 UDOM 的来源和动力学。连续光谱分析显示 FCE 区域氮主要以酰胺形态存在, 芳香性的氮组分也起到重要贡献, XPS 分析显示吡啶型氮浓度与其他环境相比在 FCE-UDOM 中浓度很高 ( $21.7 \pm 2.7\%$ ), 其研究表明多种技术和方法的联用对增进 DON 生物地球化学的认识很有帮助(Maie et al., 2006)。Goldberg 等(2015)研究显示难降解的 DON 在高海拔湖泊中出现累积。Kang 和 Mitchell 等(2013)研究了纽约州 Arbutus 湖流域 DOC 和 DON 的浓度、芳香性、生物可利用性、分子大小及同位素值等特征, 生物可利用的 DOC (Bioavailable DOC, BDOC) 和生物可利用的 DON (Bioavailable DON, BDON) 浓度均值范围分别为 6%–18%和 12%–43%, 流域内溪流 DOC 和 DON 浓度在经过湿地区域时浓度增加, 并且多为高分子量 (HMW) 的难降解组分 (HMWDOC: 55%, HMWDON: 60%), DOM 的芳香性也增加, 而 Arbutus 湖则以生物可利用的 DOM (Bioavailable DOM, BDOM) 和 LMWDOM 为主导 (Kang and Mitchell, 2013)。表 1.2 总结了更多文献中不同来源 DON 的组成及转化特征, 可以看到, 人类活动如农业、养殖、城市生活等对 DON 的组成及其生物可利用性有着重要的影响, 可能会增加水体中生物可以用性高的 DON 组分的

浓度。

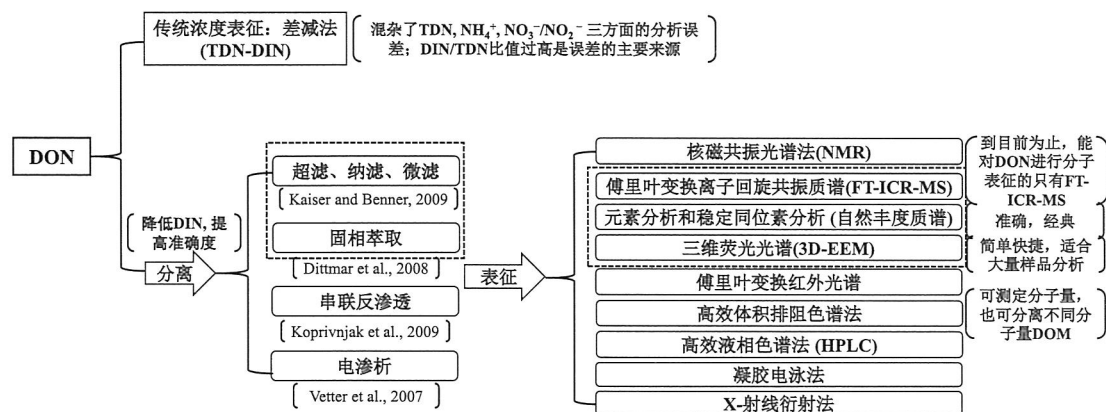


图 1.1 DON 的分离与表征方法

Figure 1.1 Methods for the isolation and characterization of DON

表 1.2 文献中涉及的不同来源 DON 的组成特征

Table 1.2 Compositional characteristics of DON from multiple sources according to some references

DON 来源	主要发现	生物可利用性	参考文献
新建并施肥的草坪草渗滤液	向草坪施肥添加 $^{15}\text{N}$ ( $^{15}\text{N}$ 标记的硫酸铵和尿素) 92 天后, 渗滤液中 DON 占 TDN 的 94%, $^{15}\text{N}$ 回收率在土壤中最高 (44%–48%), 草皮和茅草 (18%–33%) 及草屑 (10%–13%) 次之, 渗滤液最低 (< 3%)。FT-ICR MS 鉴定出结合 $^{15}\text{N}$ 之后的脂类、蛋白质、碳水化合物和木质素等生物分子。	—	(Lusk et al., 2018)
农业径流水	尽管化学多样性指数呈现时空变化, 整个 DON 的分子组成变化很小, 木质素衍生物占了 TDN 的 61%。DON 中的脂肪族化合物、特有的链状和稠环状的芳香族化合物的相对丰度与 DON 浓度显著相关。DON 的芳香性自柑橘树丛至连接的沟渠逐渐降低, 暗示转移过程中光降解可能是改变水体 DON 分子组成的主要过程。研究证实施肥和土地利用能够影响 DON 组成。	生物可利用的	(Li et al., 2018)

洱海流域湿沉降	DON 化合物中约 57.2% 高度不饱和并含有硫元素, 可能主要以活性硝氧基有机硫酸盐为代表, 占总 DON 的约 19.3%。较低的 SUVA <sub>254</sub> (0.02) 和 A <sub>253</sub> /A <sub>203</sub> (0.06) 表明 DON 芳香性非常低, E <sub>2</sub> /E <sub>3</sub> (6.84) 和 E <sub>4</sub> /E <sub>6</sub> (1.84) 的值表明腐殖化程度较低, 与 ESI FT-ICR MS 的结果一致。	—	(Feng et al., 2016)
受湖泊水流入、农业及城市影响的 Caloosahatche 河 (佛罗里达州, 美国)	DON 占 TDN 的 61%–99%, 其中生物可利用的 DON (BDON) 均值为 15%, 范围为–12%~61%, 最高值发生在 Okeechobee 湖水的输入为最主要的淡水来源时。ESI FT-ICR MS 揭示脂肪和类肽结构的产生可能因微生物对 DON 化合物中碳骨架的改变导致。生物培养前的光照暴露对 %BDON 没有显著影响但对细菌生物量和 DON 组成产生显著影响。	生物难利用的	(Pisani et al., 2017)
污水处理厂出水	经过 48 小时的生物测试法培养, 污水厂出水 DON 中的类木质素组分保留下来, 很大比例 (79%–100%) 的脂肪、芳香结构的含氮化合物被去除, 另外还有一些其他含氮化合物产生。	—	(Mesfioui et al., 2012)
城市溪流	两条城市溪流 (分别占城市土地利用的 28% 和 83%) 均含有广泛的含氮生物分子的分子式并且 80% 以上为类木质素化合物, 仅有 5%–7% 为易降解 DON。易降解 DON 主要由高 H/C 低 O/C 的类脂肪、类蛋白质结构的化合物组成, 而微生物降解倾向于产生氧化程度更高、饱和度更低的 DON 分子。虽然 5 天的生物培养仅有 5%–7% 的有机结合态 N 被净去除, 但 DON 化合物的碳骨架发生一些改变。	—	(Lusk and Toor, 2016b)
城市雨水径流和雨水滞留池塘流出水	DON 的生物降解性从雨水径流中的 10% 增加到池塘流出水中的 40%, 并且池塘流出水中 DON 的芳香性、总分子量比雨水径流更低。ESI FT-ICR MS 鉴定出 1227 种以上的含氮分子式, 雨水径流和池塘流出水仅有 13% 的分子式不同。这些	—	(Lusk and Toor, 2016a)

	分子式代表了来自雨水径流和池塘流出水 DON 中的各种生物分子，如脂类、蛋白质、氨基糖、木质素和单宁。城市基础设施（如雨水滞留池塘）有可能产生影响下游水体中的生物地球化学过程，因为滞留池塘通常是自然环境和建筑环境之间的交汇点。	
丰水季 Caloosahatche River 北部 C-43 号点	大多数生物难利用的稳定 DON 化合物（如在 5 天生物培养期间不反应）具有以类木质素分子为代表的分子组成，而类脂肪和类蛋白质分子构成 DON 库的大部分具有反应活性的组分。	(Osborne et al., 2013)
雨水和郊区的溪流	郊区溪流 DOM 的核质比（均值 557）几乎是雨水（均值 241）的两倍。雨水 DOM 具有较窄的分子量分布并且没有检测到核质比大于 500 的化合物，而郊区溪流样品中检测到的核质比大于 500 的化合物占 24%。微生物群落优先降解富氧分子，而缺氧分子通常是稳定难降解的。	(Sipler and Seitzinger, 2008)
农业和自然土地覆盖下纽约 Conesus 湖流域的溪流	与流域内农业较少的溪流相比，流域土地覆盖以农业为主的溪流无机营养盐浓度更高，DOM 腐殖化程度更低、分子复杂性更低、类蛋白荧光组分更多，表明营养盐可能促进了溪流内 DOM 产生。二级溪流中 DOM 的相似性更高，与溪流外部和自生来源的 DOM 经历更多的转化过程一致。	(Bida et al., 2015)
农业影响的 vs 森林影响的上游源头	农业促进了 DOC 和 DON 浓度增加，对 DON 产生更明显的影响。农业和森林对照溪流中 DOC 和 DON 输出均以高分子量的类腐殖酸物质为主，表明其陆生、外部来源。农业溪流中明显不同的是，高分子量的非腐殖组分（可能是类蛋白组分）明显提高，总的来说，农业上游的 DOM 主要是复杂的土壤衍生的低 C/N 比芳香性物质，并且比森林对照溪流的 DOM 经历了更多的微生物处理。	(Heinz et al., 2015)

York River 自然（沼泽）和人为来源（农业、污水厂出水）的 DON	<p>尽管自然来源水样 DON 光产生更为突出，但人为来源（如污水厂出水）的 DOM 发生光漂白效应向光腐殖化效应的转变，表现出双键当量（DBE）和平均分子质量增加。此外，人为来源 N/C 摩尔比的急剧增加证实光致 DIN 结合的假设。人为来源的输入将驱动河流 DOM 发生实质性变化，从而改变河口 DOM 的光学、光化学及生物可利用性。其研究最终证实不管最初来源如何，光化学是水域系统 DON 性质的主要控制因素之一。</p>	— (Mesfioui et al., 2015)
后期反硝化生物滤池	<p>污水厂出水 DON 的生物可利用性随 C/N 比的升高显著降低。组成上，高 C/N 比的污水厂出水 DON 倾向于含有更少的分子量 &lt; 1 kDa 的含氮有机化合物和类蛋白质/氨基多糖含氮有机分子式，这可能是其生物可利用性低原因。研究表明，污水厂的反硝化过程设置高 C/N 对控制易于促进藻类生长的 DON 组分有帮助。</p>	— (Hu et al., 2018)
受农业-城市影响的沿海流域的一个河口	<p>平行因子分析的各荧光组分与 DON 浓度呈正相关。虽然 70% 以上的 DON 为自然来源，非点源（如土壤、家禽垃圾渗滤液、街道径流）占剩余的 30%。非点源 DON 输入的增加可能影响了其河口的水质。</p>	— (Osburn et al., 2016)
后期反硝化生物营养盐去除系统（BNR）	<p>目前污水厂最常见的生物营养盐去除过程，即后期反硝化系统，比传统的活性污泥系统更容易产生低分子量的 DON，这部分 DON 具有很高的生物可利用性并能促进浮游植物生长。</p>	生物可利用的 (Eom et al., 2017)

### 1.2.2 DON来源

DON 来源可分为内源自生和外部来源两种。内源包括浮游植物与固氮生物（其代谢产物通过细胞膜主动释放或被动扩散、病毒引起的细胞裂解）、细菌（被动扩散、胞外酶释放、细菌代谢消耗和病毒裂解）、微生物和大型浮游动物（浮游动物草率摄食、排泄物溶解、分泌物）和病毒（引起细胞裂解和控制微生物种

群组成), 还包括大型生物的排泄物、大型水生植物或藻类的直接释放、碎屑颗粒的分解释放(微生物降解、光降解等)、沉积物释放输入等, DON 的外部来源包括陆地径流、地下水、大气沉降等(Mccarthy et al., 1998; Hall et al., 2001; Bronk and Steinberg, 2008; Sipler and Bronk, 2015)。此外, DON 的来源还可以按有无人来活动影响分为人为来源和自然来源两种(图 1.2)。

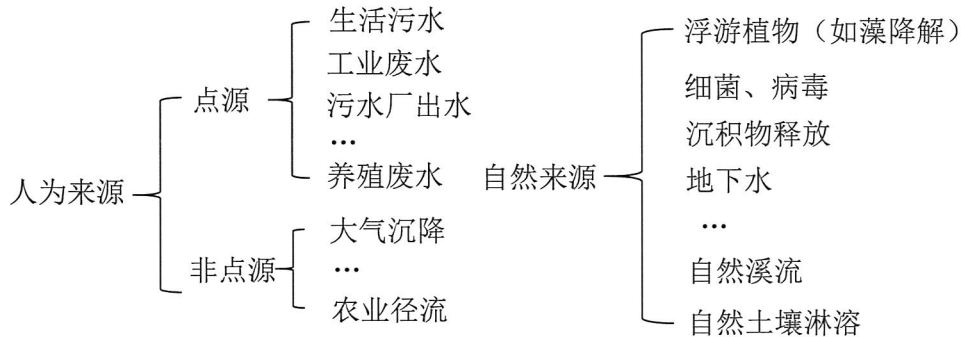


图 1.2 典型 DON 来源

Figure 1.2 Typical DON sources

Riggsbee 等(2008)模拟了北卡罗莱纳州河流生态系统悬浮物水体中溶解态有机碳氮的光化学来源, 在模拟的日光照射下的沉积物再悬浮水体是 DON 的显著来源, 而对 DIN 并没有显著的贡献。Araujo 等(2015)研究了巴西 Cachoeira 河下游 DON 的大气沉降来源, 结果表明 DON 大气沉降来源呈现空间差异, 在城市地区沉降量最高, 研究区域沉降通量为  $50\text{--}90 \text{ mol ha}^{-1} \text{ month}^{-1}$ 。Maie 等(2006)提出佛罗里达州沿海沼泽河流和河口环境 UDOM 中相对较高的 HAAs 浓度 ( $4 \pm 2\%$  UDOC 和  $27 \pm 4\%$  UDOM) 暗示其生物可利用性的组分, 并且 HAAs 组成能够表明 UDOM 没有经历大量的成岩过程, 而芳香性氮来源不明确, 但能够确定有野火烟尘和烧焦材料的来源, 这些现象可归因于 FCE 藻型生态系统新鲜 UDOM 的连续供应并且微生物活性较低。沼泽植物是 FCE 淡水区域 UDOM 的主要来源, 而佛罗里达湾的 UDOM 主要来源是海草和藻类(Maie et al., 2006)。Chen 等(2015)研究了 DON 在沿海城市基隆的湿沉降来源、组成和通量, LMW-DON 比例受海洋气团和台风影响在夏季有所增加, HMW-DON 百分数在春季增加, 可能由于农业活动过程中潜在的生物燃烧所致。Goma 等(1996)的研究显示浮游动物的摄食活动是富营养化浅水湖泊 DON、尿素和溶解性游离氨基酸 (DFAA) 的重要来源。Hasegawa 等(2000a)运用  $^{15}\text{N}$  标记的溶解态有机氮 ( $\text{DO}^{15}\text{N}$ ) 和  $^{15}\text{NH}_4^+$  标记方法研究了沿海水体浮游生物和桡足类浮游动物对 DON 动力学的

影响, 结果表明叶绿素 *a* 浓度高时桡足类浮游动物促进了  $\text{DO}^{15}\text{N}$  的释放, 并且有时  $^{15}\text{N}$  标记的 DON 释放量多于  $^{15}\text{N}$  同化吸收量。微小浮游动物以及与浮游植物的组合 ( $< 94 \mu\text{m}$ ) 对  $\text{DO}^{15}\text{N}$  的释放均具有重要的影响(Hasegawa et al., 2000a, b)。湖泊和海洋生态系统中的大多数氮素被同化吸收后通常随即产生内源 DON 释放, Johnson 等(2013a)通过在溪流源头添加  $^{15}\text{NO}_3^-$  并利用模型研究了 DON 的定量释放, 结果表明, DON 的释放与生态系统呼吸呈正相关, 其释放速率的数量级与硝化和反硝化作用相当。此外, 大型藻类和沉积物释放也是 DON 的重要来源(Tyler et al., 2001)。来源于细菌细胞壁的肽聚糖残余是海洋 DON 的重要来源, 细菌的生物聚合物及累积机制的结构特性是 DON 长期循环的主要控制者(Mccarthy et al., 1998)。树叶有机碳氮化合物的降解是森林溪流中 DON 的重要来源(Wetzel and Manny, 1972)。Zehr 等(1988)比较了加利福尼亚州 Castle 湖 DON 的浮游植物、浮游动物及沉积物释放来源, 结果显示该湖沉积物是 DON 最主要的来源, DFAA 在 DON 中占比小于 7.5%, 在生长季节特定氨基酸组成中并没有变化。

总的来看, DON 最大的内部来源是浮游植物, 而浮游动物草率摄食可能是最重要的 DON 释放机制(图 1.3), 基于文献报道大约 30%的无机氮吸收以 DON 形态释放到水体中; 在外源方面, DON 占河流 TDN 约 60%并且是地下水的重要组分, DON 还占大气沉降后所固定的氮素的约 30%, 并且这些比例随人类活动的改变可能会有所增加(Sipler and Bronk, 2015)。通过监测 DON 浓度变化(净速率)或  $^{15}\text{N}$  示踪(更接近总的释放速率)可以测定 DON 释放速率。

### 1.2.3 DON归趋

DON 的主要归宿是异养生物和自养生物的吸收, 或为微生物生长提供能量, 或被用来合成自身的结构组成, 并受到 DON 化合物稳定性的影响。Kang 等(2013)等的研究显示 DOM 生物可利用性与分子大小的关系, 提出芳香性(特征紫外吸光度, SUVA)可以作为阐明 DOM 特点的指标, 并且结合稳定碳同位素的分析表明其与生物可利用性和腐殖化作用有关。Berman 等(1997)研究了 Kinneret 湖束丝藻爆发对 DON 利用的影响, 结果显示 DON 库中的某些组分是小型浮游生物主要的氮源而固氮并不是束丝藻生长的重要影响因素。Daggett 等(2015)研究了硝酸盐和 DOM 的梯度增加对不同营养限制的北方湖泊浮游生物的影响, 表明无机

营养盐的浮游植物生物可利用性与湖泊营养限制状态有关，而 DOM 与湖泊的营养状态无关，所有湖泊的生物量随 DOM 浓度增加而增加（不避光），主要促进的物种为绿藻、金藻和硅藻，进而表明不断增加的 DOM 对水生生态系统可能有广泛的影响。Kim 等(2006)研究了琵琶湖 DOC 和 DON 在均温层的矿化，DOM 通过冬季的对流混合传输到深层，温暖季节 DOC 和 DON 在温跃层中浓度增加并在冬季重新分布；均温层的 DOC 和 DON 在分层期间浓度下降表明有矿化发生，碳氮总的矿化分别占 8%和 30%，研究表明了水文混合使 DOM 向均温层传输，并在随后的分层期间发生了矿化。

除了 DON 的生物吸收和降解，DON 的归趋还包括非生物降解和转化、物理迁移，如光化学降解、转移到沉积物、径流输出等。Bushaw 等(1996)证实光照使难降解 DOC（腐殖质）释放出生物有效态的氮化合物，并且氮的释放效率在紫外光区最高。氮的光化学释放暗示陆源腐殖质输入较高的地区（如氮限制的高纬度环境和沿海水体）DON 的生物可利用性不能被忽视(Bushaw et al., 1996)。Jeff 等(2012)研究了草原湖泊中 DON 光化学矿化为氨的过程，16 个湖泊中 7 个湖泊的 DON 有显著的光氨化速率，氨浓度增加了 4%–92%，0.18%–0.3%的 DON 转换为  $\text{NH}_3$ ，并提出了经验模型预测光氨化速率。Dillon 等(2005)研究了安大略湖流域 DOC 和 DON 等的长期输出和滞留趋势，DOC 滞留（转移到沉积物或大气）在延长的干旱时期增加，这一时期 DON 输出的下降量比 DOC 更多。DON 的输出受径流（控制有机质输出、影响地下水位和泥炭地表面的氧化还原水平）影响(Dillon and Molot, 2005)。持续干旱径流减少，导致湖泊变干净，生产力变低；相反，径流增加导致湖泊多色，生产力增加(Dillon and Molot, 2005)。Johnson 等(2009)研究了土地利用对 DOC 和 DON 的吸收的影响，结果表明城市区溪流  $\text{NH}_4^+$ 吸收显著高于森林区的溪流，DOC（醋酸盐）吸收速率高于 DON（甘氨酸）和  $\text{NH}_4^+$ ，但 DOC 和 DON 的吸收不受土地利用的影响，并且，不稳定 DOC 的吸收速率不受  $\text{NH}_4^+$ 吸收的限制，而  $\text{NH}_4^+$ 吸收速率受不稳定 DOC 可利用性的限制。

湖泊沉积物既能够向上覆水体中产生无机营养盐释放通量，还能够产生 DOM 的释放通量，例如 DOC 和 DON，而 DON 对湖泊富营养化的影响研究尚少。冯伟莹等(2013)采用树脂分离技术和三维荧光光谱技术研究了湖泊沉积物 DON 组分的藻类可利用性。通过三维荧光光谱分析，DON 亲水组分以类蛋白为主，疏水组分以类腐殖质为主，湖泊 DON 的亲水组分是藻类可利用的有机氮形

态(冯伟莹 等, 2013)。赵亚丽等(2013)采用三维荧光技术研究了 DON 在生物矿化过程中的结构变化, 洱海沉积物 DON 主要由类蛋白和类腐殖质构成, DON 生物可利用性均值为 33.23%, 生物自身产生的 DON 以酪氨酸为主, 并且 DON/TDN 越高, 类腐殖质及类酪氨酸含量越低, 沉积物中 DON 生物可利用性越高。

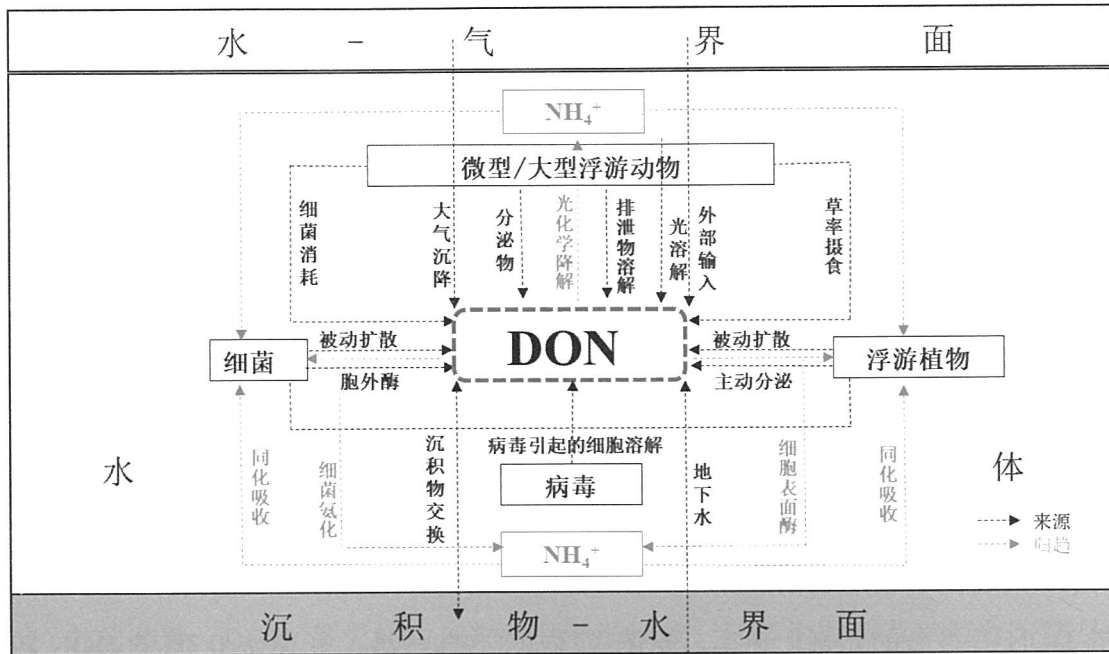


图 1.3 DON 生物来源与归趋转化示意图 (参考自 Sipler and Bronk, 2015)

Figure 1.3 Conceptual diagram of processes involved *in situ* sources and fate of DON (revised according to Sipler and Bronk, 2015)

生物测试法和  $^{15}\text{N}$  示踪技术是测定 DON 吸收速率的常用方法。近些年随着流式细胞仪、基因技术等方法手段的改进, 研究人员逐渐能够区分 DON 的异养吸收及自养吸收甚至某些 DON 组分在单细胞水平上的吸收, 对 DON 的归趋机制如酶催化降解、胞饮作用、光化学降解、盐度效应等也有了更深入的认识。多数 DON 和个别有机氮化合物的吸收速率在不同系统甚至同一系统内变化很大, 并且超过三分之一的 DON 在几天到几周的尺度上是生物可利用的(Sipler and Bronk, 2015)。利用分子数据支持生物地球化学的研究将是未来的研究趋势和挑战, 组学工具提供了打开浮游植物和细菌多样性与功能黑箱的潜力, 并且尽管分子或细胞等小尺度上的研究对认识 DON 吸收与利用显得越来越重要, 大尺度的分析以及传统手段会帮助人们认识碳、氮、磷等物质循环的宏观变化(吴丰昌 等, 2010; Sipler and Bronk, 2015)。

#### 1.2.4 DON与DOC耦合关系

Bernhardt 和 Likens 等(2002) 通过向森林溪流中添加不稳定 DOC 研究了碳循环与氮循环的相互关系, 结果表明, 不稳定 DOC 的添加导致硝态氮和铵态氮浓度比添加前显著降低, DOC 的添加导致细菌生长, 促进微生物的呼吸代谢过程, 这些过程增加了对氮素的需求。研究证明了 DOC 与氮素可利用性之间联系紧密。Petroni 等(2009)研究了澳大利亚沿海河口 10 个子流域的 DOC 和 DON 的生物可利用性, DON 降解的比例 (4%–44%) 高于 DOC (1%–17%)。树脂分离技术的研究表明, DOC 多为疏水 (腐殖质) 组分, 而 DON 疏水与亲水组分二者均有, 并且, DOC 降解与疏水组分含量正相关, 而 DON 降解与亲水的 DON 组分含量呈正相关, 与亲水 DOC/DON 呈负相关, 暗示出不稳定 DON 组分的非腐殖质来源(Petroni et al., 2009)。相比于 DIN, DON 可能对溪流和河口生产力起到更重要的作用(Petroni et al., 2009)。Brookshire 等(2005)也通过向整个生态系统中添加不稳定 DIN 和 DOM 研究了一个森林系统中溪流源头 (氮限制) 的 DON 循环及与 DOC 的耦合, 结果表明, 添加的 DON 被吸收的速率超过了 DOC 和 DIN, 一大部分被矿化进而被硝化掉(Brookshire et al., 2005)。Johnson 等(2012)通过丰富一个农业溪流的 DOM 库并结合硝酸盐稳定同位素添加和短期硝酸盐释放等方法研究了碳氮循环的耦合作用, 包括微生物类群结构、反硝化和氮的同化吸收等。在不稳定碳增加两倍的情况下, 氮同化增加, 微生物种群呼吸作用变为原来两倍, 并带来细菌种群结构的改变; 相反, 反硝化作用或反硝化细菌的种群结构没有响应, 可能由于不稳定碳在到达反硝化层之前被溪流更靠近表层的沉积物中的异养种群同化吸收(Johnson et al., 2012)。溪流中的碳氮耦合牵涉了沉积物质地、有机质、微生物种群结构和可能的非直接生物地球化学途径之间复杂的交互作用(Johnson et al., 2012)。

#### 1.2.5 存在的问题及未来研究方向

目前已有很多证据表明 DON 中的众多组分是水体浮游植物和细菌可利用的营养物质, 对湖泊等水生生态系统结构和功能有着重要影响, 并对湖泊富营养化可能起到潜在的促进作用, 甚至超过了无机营养盐的贡献。过去几十年主要致力于 DON 分布及化学组成的研究, 然而有些领域急需进一步研究。首先, 选择更便捷的途径测定和表征 DON 浓度及组成是未来的研究重点, 只要 DON 浓度由

测定 TDN 和 DIN 浓度的差异决定,分析误差将是个问题(Sipler and Bronk, 2015)。其次,辨别 DON 的生物可利用性组分,阐明湖泊等水体中各种生物有效态 DON 的时空分布、变化规律及区域差异,探讨生物可利用性变化的主要过程和关键控制因素,尤其是对有毒有害藻类的有效性组分,是当前水环境研究中最紧迫的任务(吴丰昌 等, 2010; 罗专溪 等, 2010)。这需要收集大量高质量的 DON 浓度数据,由于超滤 DON (UDON) 只是总 DON 库的一小部分,破解数量上占优势的 < 1 kDa 组分应该是优先研究领域之一,需要发展 DON 分离和浓度测量技术。第三,揭示 DON 与其他水体生命过程的耦合关系,如 DON 与水体无机氮的耦合关系 (DON 与无机氮间的快速补给与转化)、DON 与有机碳库的耦合关系、DON 与其他元素生物地球化学以及 DON 与蓝藻水华爆发间的耦合关系等,将有助于全面理解 DON 的来源、转化和归宿,为水体富营养化的治理提供科学依据,并对新的水质标准的制定起到指导作用。

### 1.3 研究思路与研究目标

太湖位于经济发达、人口最密集的长江下游地区,是我国第三大淡水湖,水面面积 2338 km<sup>2</sup>,平均水深 1.9 m,是典型的亚热带大型浅水湖泊(Qin et al., 2007; Qin et al., 2010; Xu et al., 2014)。上世纪六十年代以来,随着流域内工农业生产和人类活动增强,太湖水体富营养化程度不断加剧。尽管近年来通过不断治理太湖入湖氮、磷负荷得到有效削减,湖泊富营养化程度有所降低,但蓝藻水华暴发的面积仍然较大(杨柳燕 等, 2019)。在太湖的营养盐削减策略(如控源截污)中,关注的主要对象为总氮、总磷和无机氮磷等营养盐,忽略了 DON 对太湖蓝藻水华暴发的潜在贡献。由于太湖流域内的高度空间异质性和强烈的人类活动干扰, DON 来源和组成十分复杂,各种内外源交织混合,不同来源的 DON 对浮游藻类的生物可利用性也未知。此外,对 DON 来源和生物可利用性的认识还要建立在 DON 浓度和组成表征的基础上。故围绕着太湖水体 DON 动力学本文研究思路框架为:时空格局—组分特征—来源解析—内源关键过程—生物可利用性。具体的研究目标为:揭示太湖水体 DON 浓度的时空格局及其与环境因子间的关系;表征典型外部和自生来源 DON 的光谱特征及分子组成特征;估算太湖水体 DON 各不同来源的贡献权重;揭示水体 DON 自生来源关键过程,包括再悬浮沉积物光溶解过程和浮游藻类光化学过程;测定并比较太湖典型外部和自生来源 DON

对浮游植物生长的促进作用，即生物可利用性，讨论各不同来源 DON 在太湖水体富营养化及蓝藻水华维持机制中的相对重要性。

## 1.4 研究内容

### 1.4.1 太湖DON浓度的时空格局及其与环境因子的关系

对 DON 浓度的测定及组分的表征是研究水体 DON 动力学的基础，本章节将采用差减法获得太湖 2008–2016 年间 DON 浓度数据，分析太湖水体 DON 浓度的时空格局，并结合 DON 浓度与环境因子间的相关关系讨论 DON 浓度的影响机制。

### 1.4.2 太湖及其流域内典型来源DON的组成表征

运用目前唯一能够在分子水平表征 DON 的超高分辨率 FT-ICR MS，结合传统的紫外-可见吸收光谱、三维荧光光谱手段，对太湖水体典型外部和内部来源 DON 的光谱特性和分子组成进行联合表征，为 DON 源汇过程及其转化研究奠定基础。典型外部来源包括：自然森林土壤淋溶、自然溪流源头、生活污水、稻田农业径流、地下水、大气湿沉降；典型内部来源包括：藻降解、水草降解、沉积物间隙水。

### 1.4.3 太湖水体DON各来源权重定量

以太湖水体及流域内典型来源 DON 组成表征为基础，结合碳、氮稳定同位素自然丰度测定，多方法联合揭示 DON 来源特征。测定太湖水体及流域内典型源水样溶解态有机质的三维荧光光谱和稳定碳氮同位素  $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$  特征，利用稳定同位素混合模型的 MixSIAR 等方法多手段联合识别 DON 的来源，尝试对不同来源进行权重定量。

### 1.4.4 太湖水体DON的再悬浮沉积物光溶解来源

水体 DON 原地自生来源的关键过程主要包括生物过程和非生物过程。生物过程主要是浮游藻类释放以及细菌介导的生物降解过程，在过去几十年受到广泛关注。而非生物过程主要为光化学过程，以往的研究涉及较少，但可能是水体 DON 的重要来源。利用超高分辨率 FT-ICR MS 技术结合传统的紫外-可见吸收光谱及三维荧光光谱方法可在分子水平揭示 DON 光化学来源。本章节通过开展再

悬浮沉积物的自然光照培养试验，同时设置黑暗对比，分析培养前后及培养过程中 DON 浓度及组成的变化，在分子水平上揭示太湖水体 DON 的再悬浮沉积物光溶解来源。

#### 1.4.5 太湖水体DON的浮游藻类光化学来源

通过开展太湖浮游藻类的自然光照及黑暗培养试验，并运用超高分辨率 FT-ICR MS 技术结合传统的紫外-可见吸收光谱及三维荧光光谱方法分析培养前后及培养过程中 DON 浓度及组成的变化，在分子水平上揭示太湖水体 DON 的浮游藻类光化学来源。

#### 1.4.6 太湖典型自然和人为来源DON的生物可利用性

采用生物测试法测定太湖典型自然和人为来源 DON 对太湖浮游藻类生长的促进作用，即生物可利用性。测定培养过程中 DON 浓度、紫外-可见吸收光谱、三维荧光光谱等参数的变化，综合评价 DON 在浮游藻类生长中的重要性。

### 1.5 技术路线

本文技术路线见图 1.4。

### 1.6 创新点

本研究系统地分析了太湖 DON 浓度的时空格局及其影响因素，结合最新的超高分辨率傅里叶变换离子回旋共振质谱技术及传统的紫外-可见吸收光谱、三维荧光光谱等手段从分子水平上表征了太湖水体典型来源 DON 的组成特征，定量了太湖水体 DON 各不同来源的权重，揭示了太湖 DON 的再悬浮沉积物的光溶解来源和藻的光，并通过生物测试法证实一些典型自然和人为来源 DON 具有较强的生物可利用性。

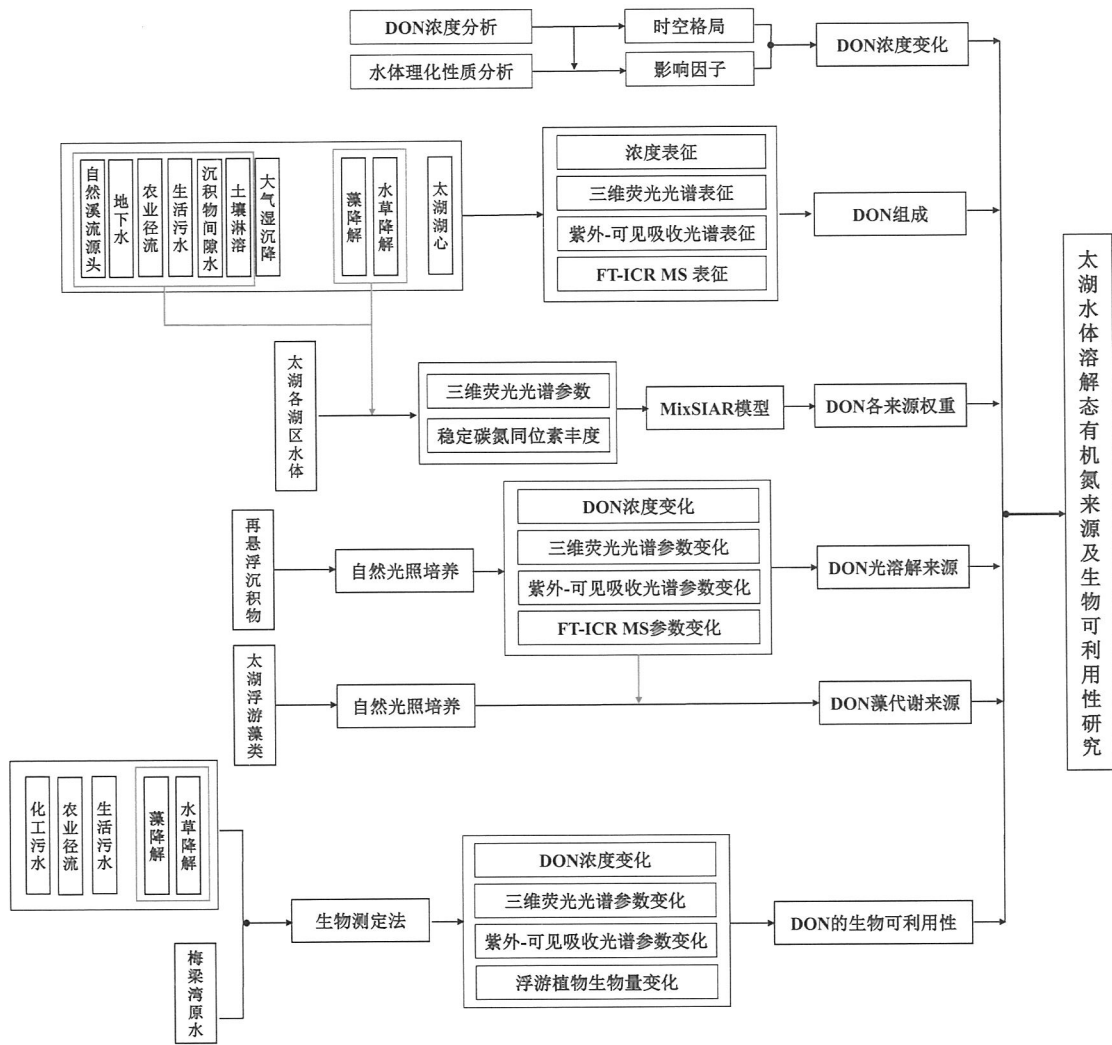


图 1.4 本文技术路线

Figure 1.4 Technical route of this study



## 第2章 太湖水体DON浓度时空格局及其与环境因子的关系

### 2.1 引言

水体 DON 浓度时空变化的影响因素众多,包括温度、盐度等理化因子以及地理分布(纬度)、流域土地利用类型、陆地径流、水文过程、大气沉降、沉积物释放、富营养化程度等影响 DON 源汇过程的因素。整体上,热带和亚热带开阔海洋水体的 DON 浓度较海岸、河口及河流低,即呈近岸高远岸低的趋势,并且其季节变化不如河口海岸及高纬度地区的海洋剧烈(阎雪姣, 2011; Sipler and Bronk, 2015; 罗勇 等, 2017)。DON 浓度的季节变化不仅与生态系统类型及其地理分布有关,还与水体富营养化程度有关。例如,热带和亚热带贫营养水体 DON 浓度季节差异通常不显著(Karl et al., 2001; Knapp et al., 2005),而富营养化内陆水体和高纬度沿海水体 DON 浓度季节变化较为显著,如北极海洋和英吉利海峡,均表现出春夏季升高而秋冬季节降低的趋势(Butler et al., 1979; Holmes et al., 2012)。Zhang 等(2015)对国内 17 个东部浅水湖泊的 DON 浓度的时空变化的研究还表明,流域内土地利用以农业为主的湖泊 DON 浓度较高,暗示人类活动对 DON 负荷的影响,此外,浮游生物吸收及死亡降解、沉积物释放等过程可能影响着 DON 浓度的季节变化。目前为止,涉及湖泊生态系统中 DON 浓度时空变化的相关研究较为缺乏,相关结果对进一步阐明湖泊 DON 的生物地球化学循环过程及其环境影响具有重要意义。

在太湖这样的大型浅水富营养化湖泊,水体总氮、无机氮浓度均存在显著的季节变化和空间差异,并受到外源输入及湖泊内部蓝藻水华发生和消亡等过程的综合影响。此外,研究表明流域土地利用类型、入湖径流等因素显著影响着太湖 DOM 浓度和组成的空间差异,使 DOM 表现出西北高东南低的趋势,特别是 DOM 中腐殖酸组分的浓度(Yao et al., 2011; Zhou et al., 2018)。然而,目前涉及太湖水体总氮、无机氮浓度时空变化的研究较多,缺乏对太湖水体 DON 浓度时空变化的系统分析,忽略了 DON 在太湖富营养化过程中的潜在贡献。本章旨在通过分析太湖 DON 浓度时空格局及其与环境因子的关系,揭示太湖 DON 时间动态以及负荷较高的区域,为深入理解太湖 DON 动力学奠定基础。

## 2.2 材料与方法

### 2.2.1 采样点分布

本章中 2008–2016 年间各采样点水体总氮 (TN)、TDN、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{NO}_2^-$  浓度数据以及 2016 年各采样点水体其他基本理化性质数据 (包括 pH、水温、溶解氧、电导率、碱度和盐度等) 由中国科学院太湖湖泊生态系统研究站提供。

样品涵盖太湖北部 14 个样点 (0、1、3–8、10、13、14、16、17、32 号点) 逐月样品及其他区域 18 个样点各季度 (2 月、5 月、8 月、11 月) 样品 ( $n=2160$ ), 采样点分布如图 2.1 所示。空间上, 这些采样点被划分于 8 个不同的湖区, 包括梅梁湾 (MB)、贡湖湾 (GB)、竺山湾 (ZB)、胥口湾 (XB)、开敞湖区 (OA)、西南沿岸 (SCA)、东太湖湾 (EB)、五里湖 (WL), 以便分析 DON 的浓度与组成的空间变化。

样品采集时, 使用有机玻璃采水器采集湖泊表层 0.5 m 处水样于酸洗后 (10% HCl) 的聚乙烯瓶 (1 L) 中, 随后将样品存放于盛有冰袋的保温箱中, 带回太湖湖泊生态系统研究站并当晚开展过滤预处理。

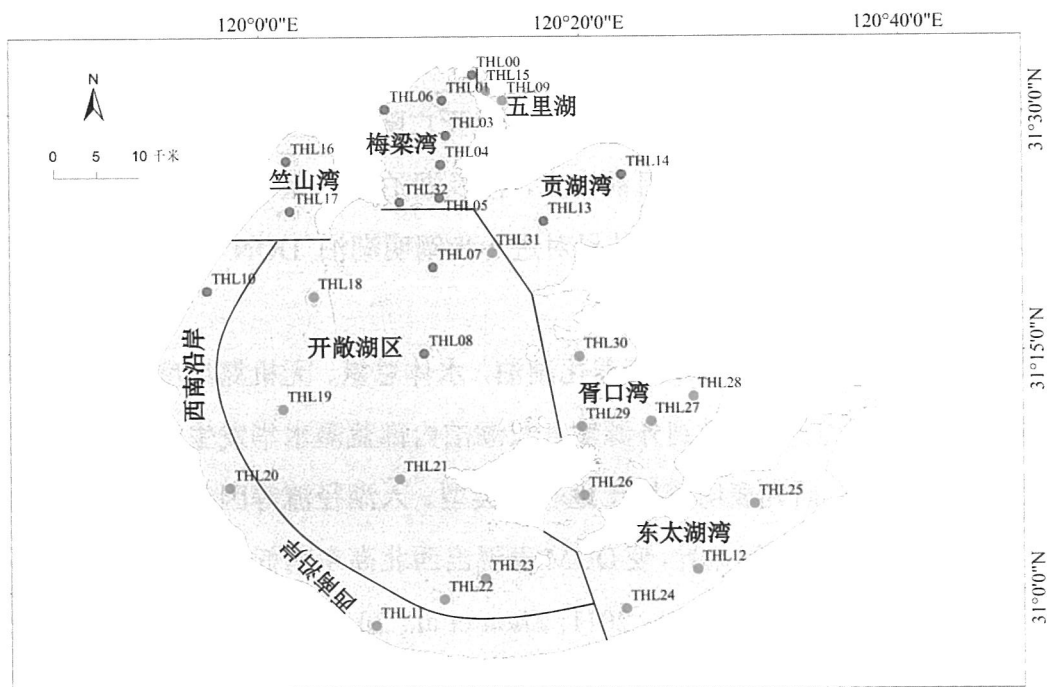


图 2.1 采样点分布 (红色圆圈为逐月采样点, 绿色圆圈为季度采样点)

Figure 2.1 Description of monthly (red circles) and seasonally (green circles) sampling sites

### 2.2.2 水体基本理化性质测定方法

现场水体的基本理化性质使用 Yellow Springs Instruments (YSI) 6600 或 EXO 多参数水质分析仪 (YSI In., Yellow Springs, 美国) 现场测定, 包括 pH、水温、溶解氧、电导率、碱度和盐度。采集的太湖各湖区样品带回实验室后, 使用 Whatman® GF/F 滤膜 (GE Healthcare, 美国, 预先在马弗炉 450°C 灼烧 2 h) 每个样点过滤 150 mL 于酸洗 (10% HCl) 后的聚乙烯瓶内, -20°C 冷冻保存, 三个月内完成溶解态氮磷等营养盐分析。叶绿素 *a* 样品分析时, 使用 Whatman GF/F 滤膜过滤 100–500 mL 水样, 滤膜于 -20°C 冷冻保存, 一周内完成滤膜上叶绿素 *a* 浓度的测定。未过滤的部分水样 (25 mL) 用来测定水体 TN 和总磷 (TP) 的浓度。各营养盐浓度分析时参照《湖泊富营养化调查规范 (第二版)》(金相灿和屠清瑛, 1990), 包括 TN、TP、TDN、TDP、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{NO}_2^-$ 、磷酸盐 ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) 和硫酸盐。TN/TDN 和 TP/TDP 浓度的测定使用过硫酸钾消化和分光光度法, 检出限分别为  $0.02 \text{ mg L}^{-1}$  和  $0.001 \text{ mg L}^{-1}$ ;  $\text{NH}_4^+$  浓度的测定使用纳氏试剂分光光度法, 检出限为  $0.05 \text{ mg L}^{-1}$ ;  $\text{NO}_3^-$  浓度的测定使用酚二磺酸紫外比色法, 检出限为  $0.02 \text{ mg L}^{-1}$ ;  $\text{NO}_2^-$  浓度的测定时通过其与对氨基苯磺酰胺反应生成重氮盐, 再与 N-(1-萘基) 乙二胺偶联于 pH = 2.0–2.5 下生成紫红色偶氮染料, 进而用分光光度法测定, 检出限为  $0.003 \text{ mg L}^{-1}$ ;  $\text{PO}_4^{3-}$  浓度的测定使用钼蓝分光光度法, 检出限为  $0.001 \text{ mg L}^{-1}$  (金相灿和屠清瑛, 1990)。叶绿素 *a* 浓度测定时, 使用 90% 热乙醇从滤膜中提取叶绿素 *a*, 并将提取物在黑暗和冷却下放置 4 小时, 随后依据分光光度法测得的提取物的吸光度计算叶绿素 *a* 浓度 (Lorenzen, 1967)。水样溶解态总碳和 DOC 浓度使用总有机碳 (Total Organic Carbon, TOC) 分析仪 (Shimadzu TOC-VCPN, 日本) 经高温 (680°C) 催化氧化法测定, 溶解态无机碳 (Dissolved Inorganic Carbon, DIC) 即为溶解态总碳和 DOC 浓度之差。

### 2.2.3 水体 DON 浓度的计算

水体 DON 浓度采用差减法获得:

$$[\text{DON}] = [\text{TDN}] - [\text{DIN}] = [\text{TDN}] - [\text{NO}_3^-] - [\text{NO}_2^-] - [\text{NH}_4^+] \quad (1)$$

其中, [...] 表示某种氮形态的浓度。

## 2.3 结果

### 2.3.1 DON浓度时间变化特征

对太湖水体中各形态氮素浓度的年际变化趋势分析显示, 2008–2016 年间, 太湖 TN ( $R^2 = 0.73$ ,  $p < 0.01$ )、TDN ( $R^2 = 0.81$ ,  $p < 0.01$ )、 $\text{NH}_4^+$  ( $R^2 = 0.93$ ,  $p < 0.01$ ) 和  $\text{NO}_3^-$  ( $R^2 = 0.74$ ,  $p < 0.01$ ) 均呈线性降低趋势 (图 2.2)。2008–2016 年间, TN 浓度年均值由  $3.71 \pm 5.83 \text{ mg L}^{-1}$  ( $n = 240$ ) 降低至  $2.50 \pm 1.62 \text{ mg L}^{-1}$  ( $n = 240$ ), 降低速率为  $0.12 \text{ mg L}^{-1} \text{ yr}^{-1}$  (图 2.2 a); TDN 浓度年均值由  $2.52 \pm 2.06 \text{ mg L}^{-1}$  ( $n = 240$ ) 降低至  $1.61 \pm 1.04 \text{ mg L}^{-1}$  ( $n = 240$ ), 降低速率为  $0.11 \text{ mg L}^{-1} \text{ yr}^{-1}$  (图 2.2 b);  $\text{NH}_4^+$  浓度年均值由  $0.76 \pm 1.04 \text{ mg L}^{-1}$  ( $n = 240$ ) 降低至  $0.25 \pm 0.35 \text{ mg L}^{-1}$  ( $n = 240$ ), 降低速率为  $0.06 \text{ mg L}^{-1} \text{ yr}^{-1}$  (图 2.2 c);  $\text{NO}_3^-$  年均值由  $0.92 \pm 0.85 \text{ mg L}^{-1}$  ( $n = 240$ ) 降低至  $0.43 \pm 0.35 \text{ mg L}^{-1}$  ( $n = 240$ ), 降低速率为  $0.06 \text{ mg L}^{-1} \text{ yr}^{-1}$  (图 2.2 d)。

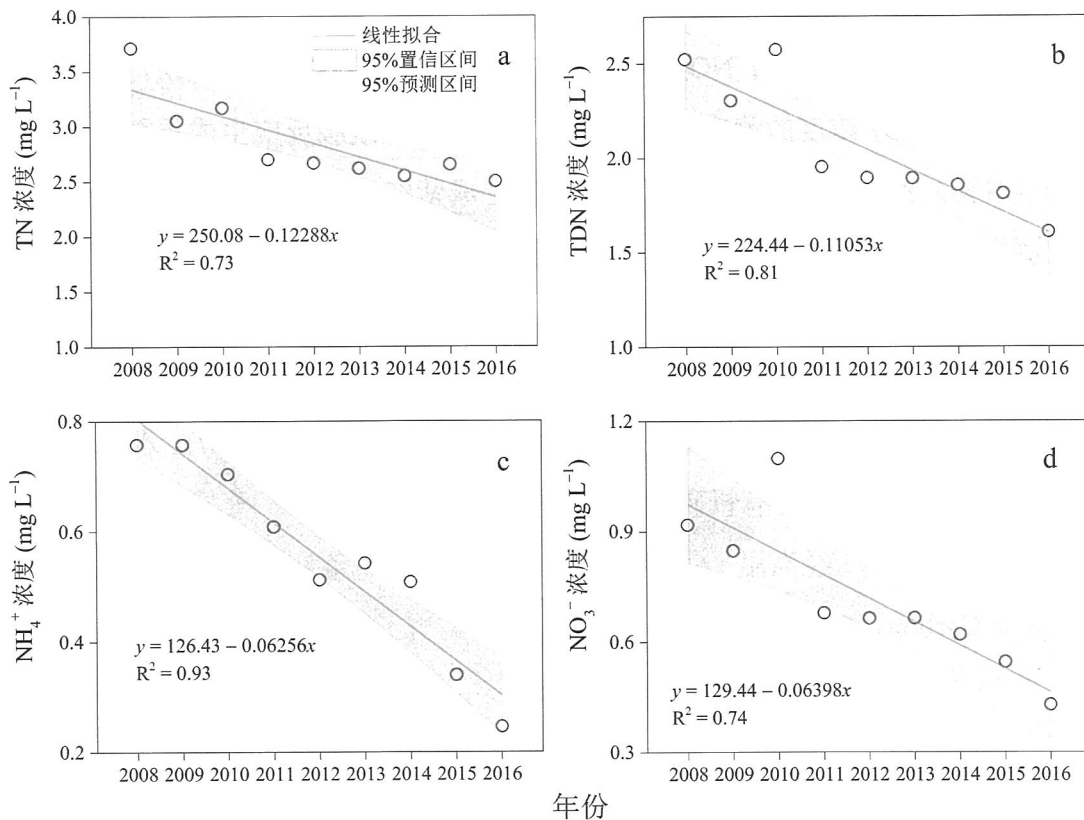


图 2.2 2008–2016 年间太湖水体总氮 (TN) (a)、总溶解态氮 (TDN) (b)、铵态氮 ( $\text{NH}_4^+$ ) (c) 和硝态氮 ( $\text{NO}_3^-$ ) (d) 浓度的年际变化

Figure 2.2 Yearly changes in the annual mean concentrations of TN (a), TDN (b),  $\text{NH}_4^+$  (c), and  $\text{NO}_3^-$  (d) from 2008 to 2016

2008–2016 年间太湖水体 DON 浓度变化范围为 0–2.91 mg L<sup>-1</sup>, 均值为 0.74 ± 0.55 mg L<sup>-1</sup> (n = 2160), DON 占 TDN 的比例变化范围为 0%–85%, 均值为 38 ± 17% (n = 2160)。对太湖水体 DON 浓度年际变化的分析表明, 近年来太湖 DON 浓度呈上升趋势, 尤其是 2013–2016 年间, DON 浓度呈线性上升趋势 (R<sup>2</sup> = 0.89, p < 0.01), 浓度由 0.65 ± 0.61 mg L<sup>-1</sup> (n = 240) 增加至 0.91 ± 0.52 mg L<sup>-1</sup> (n = 240), 上升速率为 0.10 mg L<sup>-1</sup> yr<sup>-1</sup> (图 2.3 a)。DON 占 TDN 的比例年际上整体呈线性上升趋势 (R<sup>2</sup> = 0.58, p < 0.05), 尤其是 2013–2016 年间, 线性趋势更加显著 (R<sup>2</sup> = 0.91, p < 0.01), 比例由 30% 上升至 56%, 上升速率为 9.4% yr<sup>-1</sup> (图 2.3 b)。

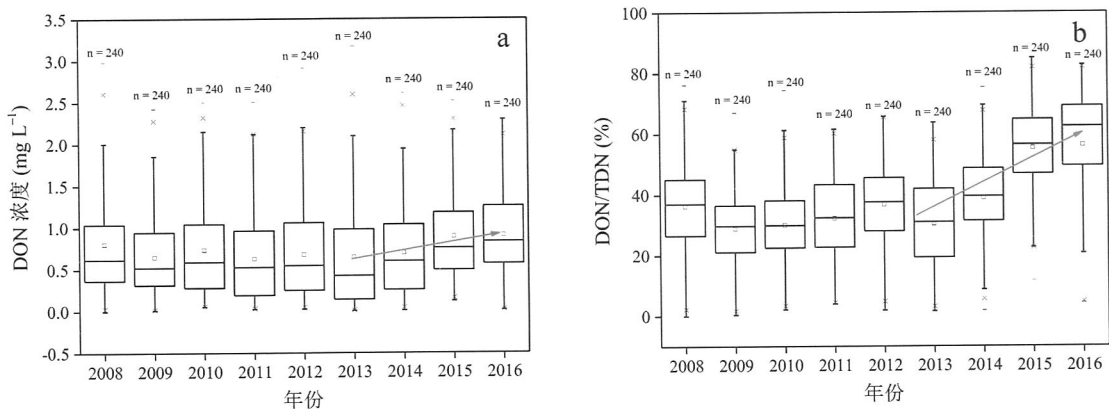


图 2.3 2008–2016 年间太湖水体溶解态有机氮 (DON) 浓度 (a) 及其占总溶解态氮 (TDN) 比例 (b) 的年际变化

Figure 2.3 Yearly changes in the annual mean concentrations of DON (a) and ratios of DON to TDN (b) from 2008 to 2016

对 2008–2016 年间太湖水体 DON 浓度多年季节均值变化的分析表明, 春季水体 DON 浓度最高, 为 1.10 ± 0.56 mg L<sup>-1</sup>, 冬季和夏季次之, 分别为 0.87 ± 0.58 和 0.54 ± 0.37 mg L<sup>-1</sup>, 秋季最低, 为 0.44 ± 0.38 mg L<sup>-1</sup> (图 2.4 a)。太湖水体 DON 占 TDN 的比例在季节上相对稳定, 春夏秋冬四季分别为 40 ± 16%、38 ± 18%、38 ± 18% 和 38 ± 17% (图 2.4 b)。

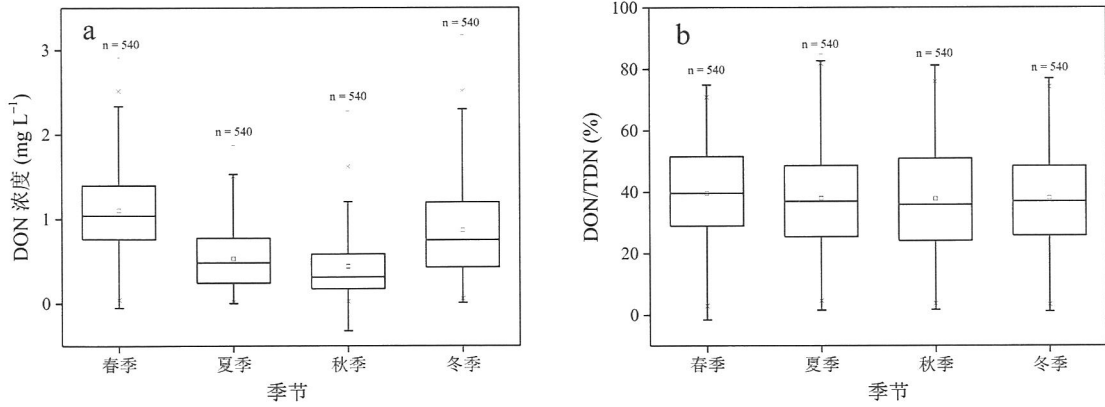


图 2.4 2008–2016 年间太湖溶解态有机氮 (DON) 浓度 (a) 及其占溶解态总氮 (TDN) 比例 (b) 的多年季节均值变化

Figure 2.4 Seasonal changes (multi-year (2008–2016) average) in the concentrations of DON (a) and the percentages of DON in TDN (b)

### 2.3.2 DON浓度空间变化特征

对 2008–2016 年间太湖不同湖区水体 DON 浓度多年均值的分析表明, 太湖竺山湾、西南沿岸和梅梁湾 DON 浓度较高, 开敞湖区、贡湖湾、胥口湾及东太湖湾次之, 五里湖浓度最低, DON 浓度依次为  $1.30 \pm 0.60$ 、 $0.98 \pm 0.59$ 、 $0.75 \pm 0.53$ 、 $0.68 \pm 0.47$ 、 $0.63 \pm 0.45$ 、 $0.45 \pm 0.33$ 、 $0.38 \pm 0.29$  和  $0.26 \pm 0.20$   $\text{mg L}^{-1}$  (图 2.5 a)。DON 占 TDN 的比例在梅梁湾、贡湖湾、胥口湾、开敞湖区较高, 为  $40 \pm 17\%$ 、 $39 \pm 19\%$ 、 $39 \pm 17\%$  和  $39 \pm 17\%$ , 其次为东太湖湾、西南沿岸、竺山湾和五里湖, 分别为  $37 \pm 20\%$ 、 $35 \pm 15\%$ 、 $34 \pm 14\%$  和  $33 \pm 19\%$  (图 2.5 b)。

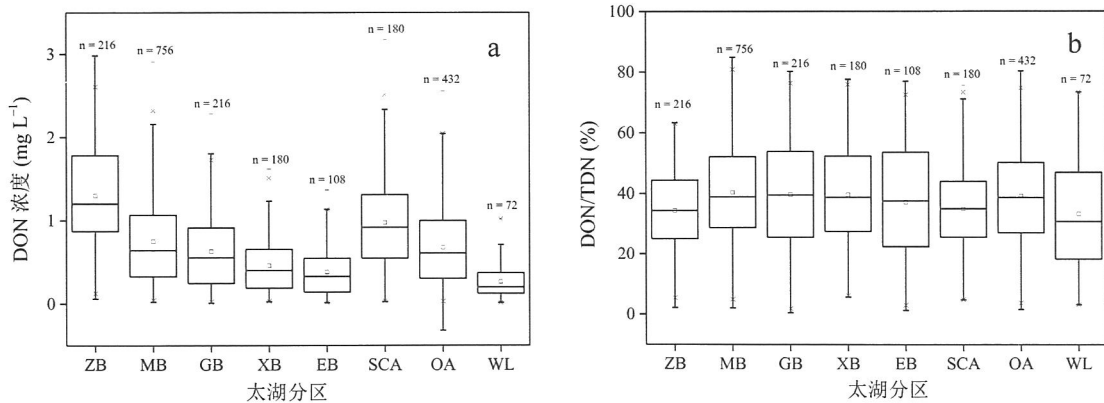


图 2.5 太湖溶解态有机氮 (DON) 浓度 (a) 及其占溶解态总氮 (TDN) 比例 (b) 的空间变化 (2008–2016 年多年数据, ZB: 竺山湾; MB: 梅梁湾; GB: 贡湖湾; XB: 胥口湾; EB: 东太湖湾; SCA: 西南沿岸; OA: 开敞湖区;

WL: 五里湖)

**Figure 2.5** Spatial changes in the concentrations of DON (a) and the percentages of DON in TDN (b) (multi-year (2008–2016) average, ZB = Zhushan Bay; MB = Meiliang Bay; GB = Gonghu Bay; XB = Xukou Bay; EB = East Taihu Bay; OA = the open area; SCA = the southwestern coastal area; WL = Lake Wuli)

### 2.3.3 DON浓度与环境因子间的关系

基于 2016 年调查数据 ( $n=240$ ), 太湖水体 DON 浓度与水体溶解氧浓度 ( $r=0.212$ ,  $p<0.01$ )、碱度 ( $r=0.587$ ,  $p<0.01$ )、电导率 ( $r=0.345$ ,  $p<0.01$ )、硫酸盐浓度 ( $r=0.566$ ,  $p<0.01$ )、溶解性总碳 ( $r=0.212$ ,  $p<0.01$ ) 和溶解性总无机碳浓度 ( $r=0.212$ ,  $p<0.01$ ) 均呈现显著正相关 ( $n=240$ ), 与水温 ( $r=-0.658$ ,  $p<0.01$ )、pH ( $r=-0.408$ ,  $p<0.01$ ) 呈显著负相关 ( $n=240$ ) (图 2.6)。

多元逐步回归分析的结果显示, 水体 DON 浓度主要受水温、pH 和电导率影响, 三者可以解释 DON 浓度变化的 59%。多元逐步回归方程为见表 1。

表 1 水体 DON 浓度的多元逐步回归模型 (2016 年数据)

**Table 1** Multiple regression model of DSS rates incorporating SPS and water variables

因变量	自变量	回归方程 (多元逐步回归)	显著性	R <sup>2</sup>
DON 浓度	WT	$[\text{DON}] = 1.637 - 0.040\text{WT}$	$p < 0.01$	0.43
	WT、ECs	$[\text{DON}] = 0.975 - 0.040\text{WT} + 0.002\text{ECs}$	$p < 0.01$	0.56
	WT、ECs、pH	$[\text{DON}] = 3.048 - 0.034\text{WT} + 0.002\text{ECs} - 0.266\text{pH}$	$p < 0.01$	0.59

\*[DON]为水体 DON 浓度, WT 为水温 (°C), ECs 为水体电导率 ( $\mu\text{s cm}^{-1}$ )。

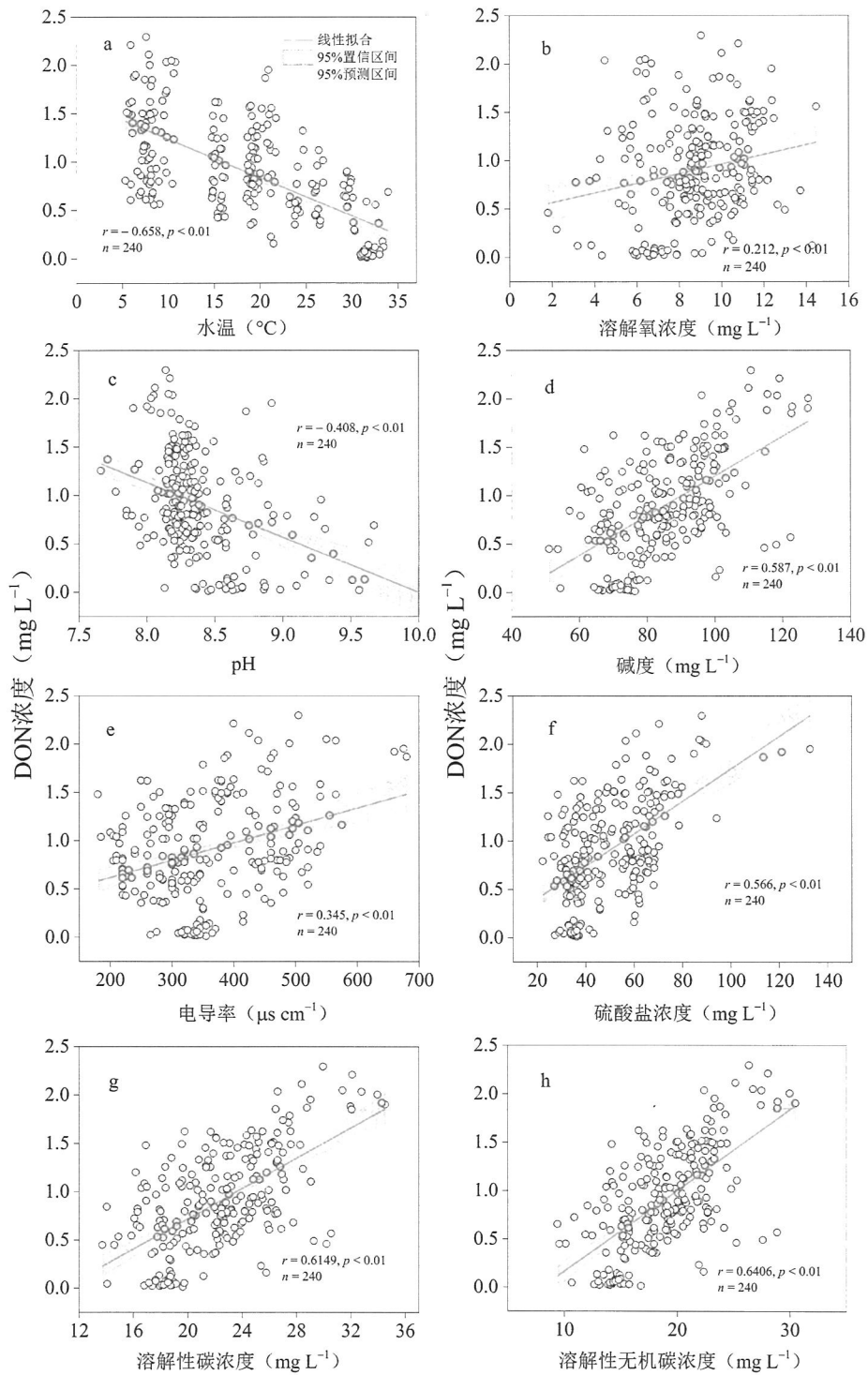


图 2.6 太湖水体 DON 浓度与水体基本理化参数的相关分析 (a: 水温; b: 溶解氧浓度; c: pH; d: 碱度; e: 电导率; f: 硫酸盐浓度; g: 溶解态总碳浓度; h: 溶解态无机碳浓度)

Figure 2.6 Correlation analyses between the concentrations of DON and the ambient physicochemical variables in Lake Taihu

相关分析还显示,太湖水体 DON 浓度与 TDN 浓度呈显著正相关( $r=0.893$ ,  $p<0.01$ ), 并与水体  $\text{NO}_3^-$  浓度存在显著的对数关系( $R^2=0.73$ ,  $p<0.01$ )(图 2.7)。此外, 水体 DON 浓度还与 TN ( $r=0.459$ ,  $p<0.01$ )、 $\text{NO}_2^-$  浓度 ( $r=0.355$ ,  $p<0.01$ )、 $\text{NH}_4^+$  浓度 ( $r=0.371$ ,  $p<0.01$ ) 均呈现显著正相关 ( $n=240$ )。

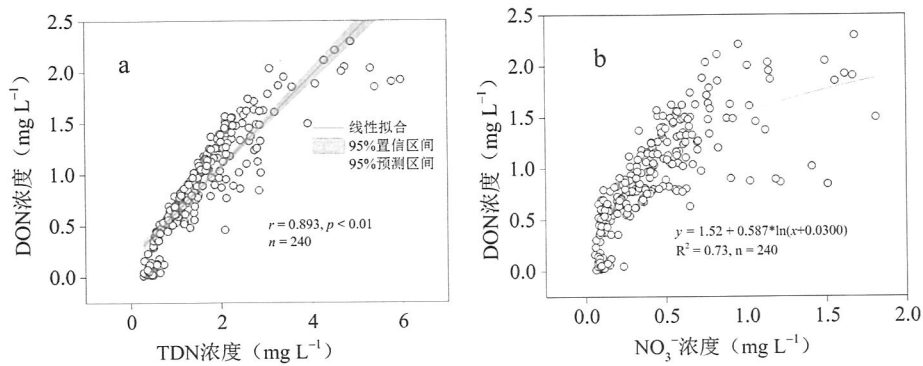


图 2.7 太湖水体 DON 浓度与水体溶解态总氮 (TDN) 浓度 (a) 和硝态氮 ( $\text{NO}_3^-$ ) 浓度 (b) 的相关及拟合分析

Figure 2.7 Correlation and fitting analyses between the concentrations of DON and the concentrations of TDN (a) and  $\text{NO}_3^-$  (b)

## 2.4 讨论

本文中太湖 DON 浓度的季节变化可能受到外源输入与内源过程 (如沉积物内源释放) 的综合影响, 并与蓝藻的生长和消亡密切相关。夏季和秋季蓝藻暴发期间, DIN 浓度较低的同时, 浮游藻类对 DON 的吸收利用导致其浓度也显著降低。而春季和冬季, 外源输入、沉积物内源的释放过程可能是 DON 浓度较高的原因。此外, 冬季浮游藻类和水生植被死亡降解可能也是 DON 浓度较高的原因之一。国内 17 个东部浅水湖泊 DON 浓度的研究结果也表明, 湖泊表层 DON 浓度在冬季较高, 可能与沉积物释放有关, 而夏季较低, 可能与浮游藻类和细菌对 DON 的吸收有关, 尤其是当浮游植物死亡降解、叶绿素  $a$  消失时, DON 浓度开始增加(Zhang et al., 2015)。此外, 流域内土地利用以农业为主的湖泊 DON 浓度较高, 暗示人类活动对 DON 负荷的影响(Zhang et al., 2015)。我国西南高原湖泊红枫湖和百花湖 DON 浓度的季节变化同样表现出春季较高, 夏季和早秋较低的趋势, 外源输入、生物过程、分层和混合是这两个湖泊 DON 分布和循环的最重要影响因素(Li et al., 2008)。

空间上, 太湖竺山湾、西南沿岸、梅梁湾 DON 浓度较高, 这几个西北部湖

区入湖河流密集、入湖径流高，并且受农业、工业、城市生活等人类活动的影响剧烈，外源输入可能是这些湖区 DON 浓度较高的原因。Yao 等(2011)对太湖和周边河流有色可溶性有机物 (Chromophoric Dissolved Organic Matter, CDOM) 分布和来源的研究发现，地质和土地利用的差异控制着 CDOM 动力学，例如西北上游河流中 CDOM 浓度较高并具有陆源特征，而西南上游河流中 CDOM 浓度较低并伴有微生物来源特征。此外，入湖径流很大程度上影响着太湖各个湖区 CDOM 的浓度及光学特性(Zhou et al., 2019)。由于 CDOM 各荧光组分浓度往往与 DON 浓度正相关(Osburn et al., 2016)，太湖 DON 浓度可能很大程度上也受到以上因素的影响。综合起来，影响 DON 源汇过程的因素如流域土壤植被类型、土地利用结构、湖泊流域水文过程、湖泊周边城市化发展、湖泊营养水平及生态系统类型等均会对 DON 浓度的时空变化产生显著影响。

近年来(2013–2016年)，太湖水体 TN、TDN、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_3^-$ 等总氮和无机氮形态年均浓度呈降低趋势，而 DON 浓度及其在 TDN 中的比例却呈增加趋势，暗示 DON 在太湖蓝藻水华维持中可能发挥着越来越重要的作用。首先，浮游植物能够像吸收无机氮那样吸收利用 DON(Seitzinger et al., 2002; Bronk et al., 2007)。其次，蓝藻相对于一些其他藻属吸收 DON 的能力更强(Glibert et al., 2004)，尤其是在无机氮浓度较低的情况下。DON 添加下的生物测试法显示，低盐度下所有藻属的生物量均增加，而高盐度下只有蓝藻的生物量相比于控制组显著增加，暗示蓝藻具有较高的竞争力(Filippino et al., 2011)。因此，逐年增加的 DON 浓度可能作为营养盐的重要补充促进太湖蓝藻的生长，即使无机氮的浓度被控制在较低的水平藻华仍能维持。

## 2.5 结论

2008–2016 年间对太湖 DON 浓度时空变化的调查显示：

(1) 太湖水体 DON 浓度变化范围为 0–2.91  $\text{mg L}^{-1}$ ，均值为  $0.74 \pm 0.55 \text{ mg L}^{-1}$  ( $n = 2160$ )，并呈现显著的季节和空间差异。季节上，春季水体 DON 浓度最高，冬季和夏季次之，秋季浓度最低。空间上，太湖竺山湾、西南沿岸和梅梁湾 DON 浓度较高，开敞湖区、贡湖湾、胥口湾及东太湖湾次之，五里湖浓度最低。

(2) 太湖水体 DON 浓度占总溶解态氮浓度的比例变化范围为 0%–85%，均值为  $38 \pm 17\%$ ，并在季节上相对稳定；空间上，这一比例在梅梁湾、贡湖湾、胥口

湾、开敞湖区较高，其次为东太湖湾、西南沿岸、竺山湾和五里湖。

(3) 对 2016 年调查数据的相关分析表明，太湖水体 DON 浓度与溶解氧、碱度、电导率、硫酸盐、溶解性碳和溶解性无机碳均呈现显著正相关 ( $p < 0.01$ )，与水体 pH、水温呈显著负相关 ( $p < 0.01$ )。多元回归分析显示，水体 DON 浓度主要受水温、pH 和电导率影响，三者可以解释 DON 浓度变化的 59%。



## 第3章 太湖水体典型来源DON的组成表征

### 3.1 引言

湖泊水体 DON 库由成千上万种化合物组成,是高度复杂的混合物(Osborne et al., 2013)。此外, DON 的化学复杂性因来源而异,这些来源包括原地自生(如浮游植物、固氮生物、大型水生植物、大型浮游动物、细菌和病毒)和外部来源(如河流、地下水、大气沉降)。基于分子水平的组成表征,大气湿沉降(Feng et al., 2016)、农业径流(Li et al., 2018)、草坪渗滤液(Lusk et al., 2018)、污水厂出水(Mesfioui et al., 2012)以及河流、湖泊、海洋和河口水体(Melendez-Perez et al., 2016)等来源的 DON 表现出不同分子组成特征。尽管越来越多的文献开始聚焦在分子水平上 DON 的表征,但由于 DON 来源的多样性, DON 的分子组成在很大程度上仍然未知。揭示这些不同来源 DON 的分子组成对其源汇过程研究以及未来 DON 的排放管理与控制具有非常重要的理论和现实意义。

DON 的传统浓度表征(TDN 减去 DIN)无法提供有关 DON 分布及其相关动力学的更多信息(Sipler and Bronk, 2015)。近几十年来,化合物水平上评价 DON 组成及其源汇过程的技术手段已经快速发展,包括紫外-可见吸收光谱、三维荧光光谱(Osburn et al., 2016; Hounshell et al., 2017)、超高分辨率 FT-ICR MS(Feng et al., 2016; Li et al., 2018; Lusk et al., 2018)、核磁共振技术(Aluwihare et al., 2005; Maie et al., 2006)等。其中,超高分辨率 FT-ICR MS 是目前唯一能够提供 DON 库前所未有水平的分子组成信息的技术,能够鉴定出 DON 库成千上万种有机化合物的分子式(Sipler and Seitzinger, 2008; Osborne et al., 2013)。此外,传统的紫外-可见吸收光谱、三维荧光光谱手段在表征 DON 组成上也具有一些特别的优势,如灵敏度和选择性高、样品结构不会得到破坏等,在 DON 组成及其源汇过程研究中得到广泛应用(Osburn et al., 2016; Hounshell et al., 2017)。

在太湖,由于高度的空间异质性和强烈的人类活动干扰, DON 来源众多,各种内外源交织混合, DON 分子组成可能会因来源而异。因而本章的主要目标为:(1)利用 FT-ICR MS 结合传统的紫外-可见吸收光谱、三维荧光光谱,揭示太湖水体典型来源 DON 的分子组成和光学特性;(2)揭示那些含有高浓度 DON 和大量不稳定 DON 组分的来源;(3)评估太湖水体 DON 潜在的重要来源。

## 3.2 材料与方法

### 3.2.1 野外样品采集

采集太湖水体 DON 典型外部来源和内部来源, 其中外部来源包括: 自然溪流源头、地下水、农业(稻田)径流水、生活污水、自然森林土壤淋溶水、大气湿沉降; 内部来源包括: 藻降解、水草降解(以粉绿狐尾藻(*Myriophyllum aquaticum*)为例)、沉积物间隙水。同时, 采集太湖湖心样点(THL08)水样对比分析各来源与太湖水体 DON 分子组成的差异。

各不同来源及太湖湖心样点描述见表 3.1。溪流源头、地下水、农业径流、生活污水、雨水和太湖湖心水样采集时, 使用 1 L 经酸洗(10% HCl)和纯水洗净的聚乙烯瓶采集。样品采集后放入装有冰袋的保温箱, 当天带回实验室使用 Whatman® GF/F 滤膜(GE Healthcare, 美国, 预先在 450 °C 下灼烧 2 h)过滤, -20°C 冷冻保存。溪流源头水样代表未受人为来源径流干扰的自然背景来源。

沉积物间隙水采集时, 使用 Peterson 沉积物采样器采集中国科学院太湖湖泊生态系统研究站(以下简称太湖站)栈桥附近(120.21383°E, 31.41933°N)表层沉积物(0-10 cm), 带回太湖站实验室使用系列 50 mL 康宁离心管 4000 rpm 离心 10 min, 离心后获得的上清液经 Whatman GF/F 滤膜(预先在 450 °C 下燃烧 2 h)过滤后, -20°C 冷冻保存。Chin and Gschwend 等(1991)的研究显示离心方法获得的沉积物间隙水产生的总有机碳和胶体态有机碳浓度剖面与 Peeper 方法相似。

土壤淋溶水准备时, 采集梅梁湾附近(120.22642°E, 31.42935°N)自然森林覆盖的山坡上的表层土壤(0-5 cm), 采集前去表层枯枝落叶。土壤带回实验室后自然风干, 然后将 100 g 土壤与 1 L 纯水混合, 恒温摇床内 160 r/min、25°C 下震荡 6 h, 随后将提取液于离心机内 4000 rpm 离心 10min, 上清液即为获得的土壤淋溶水, 使用 Whatman GF/F 滤膜(预先在 450 °C 下燃烧 2 h)过滤后, -20°C 冷冻保存。

雨水使用太湖站气象场内的大气沉降采样器(TE-78-100, Tisch Environmental, Cleves, 美国)采集。

藻降解水准备时, 使用浮游植物网(64 μm)采集梅梁湾中科院太湖站栈桥附近浮游藻类, 浓缩的藻类使用超纯水洗净后, 将 100 mL 浓缩藻与 700 mL 超纯水混合于酸洗(10% HCl)后的烧杯中, 盖上 200 目(75 μm)网, 置于黑暗的

50°C烘箱内降解2天。藻降解后的水样使用 Whatman GF/F 滤膜（预先在 450 °C 下燃烧 2 h）过滤，-20°C冷冻保存。

水草降解水准备时，将沉水植被粉绿狐尾藻 (*Myriophyllum aquaticum*) 带回实验室用纯水洗净，随后将 30 g 粉绿狐尾藻剪碎 (< 5 mm)，与 1 L 纯水混合于酸洗 (10% HCl) 后的玻璃烧杯中，盖上 200 目 (75 μm) 网，置于黑暗的 50°C 烘箱内降解 2 天。水草降解后的水使用 Whatman GF/F 滤膜（预先在 450 °C 下燃烧 2 h）过滤后，-20°C冷冻保存。

所有样品均测定 DOC 浓度和 TDN、TDP、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> 等氮磷营养盐的浓度，并依据差减法计算 DON 浓度。使用紫外-可见吸收光谱 (UV-Vis absorbance spectroscopy)、三维激发发射荧光光谱 (3D-EEM fluorescence spectroscopy)、超高分辨率 FT-ICR MS 表征 DON 光学特性及分子组成。

表 3.1 采样点描述

Table 3.1 Sampling sites and descriptions

DON 来源	采样日期	经度 (E°)	纬度 (N°)	描述
SW	10/15/2016	120.23691	31.50825	无锡宝界山林公园溪流源头水
GW	10/15/2016	120.22992	31.42286	梅梁湾附近农村地下水
AW	10/22/2016	119.95135	31.36778	稻田雨后流出水
SEW*	10/24/2016	118.82196	32.07773	南京市城市污水管道生活污水
SPW	10/15/2016	120.21383	31.41933	沉积物间隙水
ADW	10/05/2016	120.21383	31.41933	梅梁湾藻降解水
SLW	10/22/2016	120.22642	31.42935	梅梁湾附近自然森林土壤淋溶水
MDW	10/25/2016	120.21578	31.41962	水草 ( <i>Myriophyllum aquaticum</i> ) 降解水
RW	09/23/2015	120.21528	31.42079	太湖站气象观测场雨水
TH	07/29/2016	120.29550	31.38650	太湖湖心水样 (THL08)

\*南京市污水管道生活污水的 DON 组成被认为与梅梁湾附近无锡市生活污水中的相同。

### 3.2.2 营养盐和DOC浓度测定

各不同来源及太湖水样中的 TDN、TDP、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>、PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> 等营养盐浓度测定参照《湖泊富营养化调查规范》(第二版) 中的方法进行(金相灿和屠清瑛, 1990), 详见章节 2.2.2。水样的 DOC 浓度使用 TOC 分析仪 (Shimadzu TOC-VCPN, 日本) 经高温 (680°C) 催化氧化法测定。DON 浓度采用下式的差减法获得:

$$[\text{DON}] = [\text{TDN}] - [\text{DIN}] = [\text{TDN}] - [\text{NO}_3^-] - [\text{NO}_2^-] - [\text{NH}_4^+] \quad (1)$$

DON 浓度的标准偏采用误差传递的方法计算(Bronk et al., 2010)。

### 3.2.3 紫外-可见吸收光谱测定

水样经 0.70  $\mu\text{m}$  Whatman GF/F 滤膜（预先在 450  $^{\circ}\text{C}$  下燃烧 2 小时）过滤后，用 0.22  $\mu\text{m}$  Millipore 纤维素滤膜再次过滤，随后使用配有 5 cm 石英比色皿的紫外-可见分光光度计(Shimadzu UV-2550PC, Kyoto, 日本)测定波长范围为 200–800 nm 内的吸光度，测定间隔为 1 nm，同时使用超纯水（Milli-Q）作为参比。依据下式计算各波长的 Napierian 吸收系数(Hu et al., 2002):

$$a(\lambda) = 2.303A(\lambda)/r \quad (2)$$

式中， $a(\lambda)$ 为波长  $\lambda$  下的吸收系数 ( $\text{m}^{-1}$ )， $A(\lambda)$ 为波长  $\lambda$  下校正后的吸光度， $r$  为比色皿路径长度 (m)，吸收系数的精度为  $0.005 \text{ m}^{-1}$ 。过滤后的水样仍会有胶体等细小颗粒物，会引起光的散射，因此吸光度  $A(\lambda)$ 经过下式的基线校正：

$$A(\lambda) = A(\lambda') - A(700) \times \lambda/700 \quad (3)$$

式中， $A(\lambda)$ 为波长  $\lambda$  下校正后的吸光度； $a(\lambda')$ 为波长  $\lambda$  下未校正的吸光度； $\lambda$  为波长 (nm)。

水样在 254 nm 和 350 nm 处的吸收系数，即  $a(254)$ 和  $a(350)$ ，被普遍用来表征 CDOM（其中包括有色可溶解态有机氮（Chromophoric Dissolved Organic Nitrogen, CDON））的相对浓度(Yamashita et al., 2008; Osburn et al., 2011; Kellerman et al., 2015; Stedmon et al., 2015)。

所有紫外-可见吸收光谱数据被认为遵循近似下式的指数衰减(Stedmon et al. 2000):

$$a(\lambda) = a(\lambda_0)\exp(S(\lambda_0 - \lambda)) + K \quad (4)$$

其中， $a(\lambda)$ 和  $a(\lambda_0)$ 分别是在波长  $\lambda$  和参考波长  $\lambda_0 = 440 \text{ nm}$  下的吸收系数； $S$  为光谱斜率，通过将特定波长范围与自然对数转换后的光谱吸收系数进行线性回归得到； $K$  为考虑了由 CDOM 以外的因素引起的基线偏移或衰减的背景参数。

使用 CDOM/CDON 在 250 和 365 nm 处的吸收系数比值，即  $a(250):a(365)$ ，来半定量地表征 CDOM/CDON 相对分子质量大小（即平均分子质量），该比值随着 CDOM/CDON 相对分子量的增加而减小(Helms et al., 2008)。通过将 275–295 nm 波长范围与该波长范围内自然对数转换后的 CDOM/CDON 光谱吸收系数进行线性回归计算得到光谱斜率  $S_{275-295}$ ，该斜率可用于表征 CDOM/CDON 的芳香性，其值越小，CDOM/CDON 芳香性越高(Helms et al., 2008; Fichot and Benner, 2011)。光谱斜率比值 ( $S_R$ ) 定义为 275–295 nm 和 350–400 nm 波长范围内光谱斜率的比

值 (即  $S_{275-295}/S_{350-400}$ ), 其中  $S_R < 1$  和  $S_R > 1$  分别表明强烈的外部陆源土壤有机质和内部自生来源信号 (如藻、水草等水生生物降解等) (Helms et al., 2008)。DOC 在 254 nm 处的特定紫外吸收, 即  $SUVA_{254}$ , 由 254 nm 处的吸收系数与 DOC 值之比 ( $a(254)/DOC$ , 单位为  $L\ mg^{-1}\ m^{-1}$ ) 计算得到, 该值可以表征 CDOM/CDON 的芳香化和腐殖化程度,  $SUVA_{254}$  值越大, 芳香化和腐殖化程度越高 (Weishaar et al., 2003; Kothawala et al., 2012)。

### 3.2.4 三维荧光光谱测定

样品的激发发射三维荧光光谱采用配有 1 cm 石英比色皿和 700 V 氙灯的 F-7000 荧光光谱仪 (Hitachi High-Technologies, Tokyo, 日本) 于室温下 ( $20 \pm 2^\circ C$ ) 测定。三维荧光光谱扫描时激发光谱的波长范围设定为 200–450 nm, 间隔为 5 nm; 发射光谱的波长范围设定为 250–600 nm, 间隔为 1 nm。激发和发射光谱测定时的狭缝宽度均设定为 5 nm (周永强, 2017; Zhang et al., 2013b)。所有光谱用 2400 nm/min 的扫描速度在比率模式 (S/R) 获得。测得的水样荧光光谱通过减掉 Milli-Q 超纯水空白实现对拉曼散射效应的校正, 并依据 Hitachi F-7000 仪器操作说明中的程序进行仪器响应的光谱效应校正 (包括激发和发射光谱校正), 随后采用仪器自带的 FL Solutions 2.1 软件对导出的 EEMs 数据进行仪器内部校正 (周永强, 2017; Zhang et al., 2013b)。

测定当天纯水三维荧光光谱, 并用纯水拉曼峰校准所有三维荧光光谱的荧光强度, 定标后采用拉曼单位 R.U., 与常用的硫酸奎宁单位 QSU 相比,  $1\ R.U. = 13.04\ QSU$  (周永强, 2017)。采用 MATLAB 软件下 drEEM 工具包对样品进行瑞利散射校正 (Murphy et al., 2013)。此外, 根据以下公式对样品的内滤波效应进行校正 (Mcknight et al., 2001):

$$F_{cor} = F_{obs} \times 10^{(A_{Ex} + A_{Em})/2} \quad (5)$$

式中,  $F_{obs}$  和  $F_{cor}$  是校准前后三维荧光光谱的荧光强度,  $A_{Ex}$  和  $A_{Em}$  是相应的三维荧光光谱中激发和发射波长的吸光度。

通过计算腐殖化指数 HIX 和内源生物贡献指数 BIX 两个荧光指数可以分别评价 CDOM/CDON 腐殖化和自养生产力的相对程度。腐殖化指数 HIX 为发射波长为 435–480 nm 与 300–345 nm 波段内荧光强度积分的比值, 两者对应激发波长均为 255 nm, 高 HIX 值 (10–16) 是强腐殖质的信号, 主要为陆地来源, 而低值

(< 4) 与内源自生有机物质有关(Zsolnay et al., 1999; Huguet et al., 2009)。内源生物贡献指数 BIX 为发射波长 380 nm 与 430 nm 下荧光强度比值, 两者激发波长均为 310 nm, 高 BIX (> 1) 表明 CDOM/CDON 主要为内源自生来源或新鲜释放于水体中的 CDOM/CDON 的存在, 而低 BIX (0.6–0.7) 表明较低的内源自生 CDOM/CDON 产生(Huguet et al., 2009)。

### 3.2.5 超高分辨率傅里叶变换离子回旋共振质谱测定

FT-ICR MS 是目前唯一能够提供 DON 分子组成信息和追踪 DON 分子组成变化的技术(Osborne et al., 2013)。水样先经过 0.70  $\mu\text{m}$  Whatman GF/F 滤膜(预先在 450  $^{\circ}\text{C}$  下燃烧 4 h) 过滤后, 再经 0.22  $\mu\text{m}$  Millipore 纤维素滤膜过滤。过滤后的水样用 HCl (6N.) 调至 pH = 2 以提高对有机酸和苯酚的萃取效率(Dittmar et al., 2008; Osborne et al., 2013)。酸化后的样品使用 500 mg、6 mL 的固相萃取小柱 (Varian Bond Elut PPL, Agilent Technologies, Santa Clara, 美国) 按 Dittmar 等(2008)的方法进行固相萃取, 萃取溶剂为甲醇 (ULC-MS 级)。萃取时, 每个 PPL 小柱用 2 倍小柱体积的甲醇 (ULC-MS 级) 预冲洗, 随后将酸化后的水样装入 PPL 小柱并控制流速为  $\leq 5 \text{ mL min}^{-1}$ , 之后每个小柱让 2 倍小柱体积的 0.01 M HCl 通过以去除盐分和残余的  $\text{NH}_4^+$ , 然后用高纯  $\text{N}_2$  ( $\geq 99.999\%$ ) 将 PPL 小柱吹干。最后, 每个 PPL 小柱上的 DON 使用 6 mL 甲醇 (ULC-MS 级) 洗脱。根据固相萃取前水样的 DOC 浓度, 通过控制萃取水样的体积, 将萃取后的样品 DOC 浓度控制在  $40 \text{ mg L}^{-1}$  左右。

样品使用美国佛罗里达大学国家高磁实验室的 21T FT-ICR MS (Bruker, Billerica, MA, 美国) 测定, 测定前用超纯水将甲醇提取液按 1:1 稀释。进样装置采用负离子模式下的电喷雾电离源 (ESI) 以最小化钠加合物形成带来的干扰 (Mesfioui et al., 2015)。m/z 分析范围为 200–800, 内部校准后的质量精度  $< 0.2 \text{ ppm}$ , 并根据已发表的规则将分子式分配给信噪比  $> 5$  的峰 (Stubbins et al., 2010; Spencer et al., 2014), 同时除去超纯水 PPL 提取物作为空白检测到的峰。分子式鉴定通过软件 Data Analysis (version 4.2, Bruker, Billerica, MA, 美国) 实现, 并按照文献中的方法进行进一步的质量校准和数据处理 (Stubbins et al., 2010; Spencer et al., 2014; Mesfioui et al., 2015)。值得注意的是, 由于样品中存在异构体, 可能会低估鉴定的分子式的总数 (Feng et al., 2016)。标准化以后的峰强度 (即相对离子丰度)

计算参照 Spencer 等(2014)计算:

$$z = \frac{x - \mu}{\sigma} \quad (6)$$

式中,  $x$  是检测到的峰强度,  $\mu$  是每个样品的平均峰强度,  $\sigma$  是样品峰强度的标准偏差。

FT-ICR MS 的超高分辨能力 (>400000) 和质量精度 (<1 ppm) 能够从单个 DON 样品中认定成千上万种化合物的特有分子式。样品经 FT-ICR MS 测定后产生的大量数据通过三个主要的参数进行比较分析, 即双键当量(DBE)、芳香性指数(AI)和 van Krevelen 图(Mesfioui et al., 2015)。

双键当量:

$$DBE = 1 + C - \left(\frac{H}{2}\right) + \left(\frac{N}{2}\right) + \left(\frac{P}{2}\right) \quad (7)$$

DBE 表征有机质的氢饱和度, 它包含了有机分子式中双键和/或环的数量。

芳香性指数:

$$AI = \frac{1+C-O-S-0.5H}{C-O-S-N-P} \quad (8)$$

AI 值最早由 Koch 和 Dittmar(2006)提出, 旨在明确区分自然有机质中的芳香族 (AI > 0.5) 和稠环芳香族 (AI ≥ 0.67)。后者的 AI 值可暗示稠环芳香族或“黑炭”的热源, 也可以用下式表征(Kim et al., 2004; Hockaday et al., 2006):

$$0.3 \leq \frac{O}{C} \leq 0.6 \text{ 且 } 0.5 \leq \frac{H}{C} \leq 0.8 \text{ 且 } \frac{DBE}{C} = 0.67 \quad (9)$$

然而仅依靠上述规则可能造成稠环芳烃的高估, 如果仅考虑自然有机质羧基官能团中氧个数的一半, 则改进后的 AI 值为(Mesfioui et al., 2015):

$$AI_{mod} = \frac{1+C-0.5O-S-0.5H}{C-0.5O-S-N-P} \quad (10)$$

van Krevelen 图(VK): VK 图将分子式中的 O/C 比值作为  $x$  轴, H/C 作为  $y$  轴。根据主要生化化合物种类中 H/C 和 O/C 的特征规则, 按分子式的官能团组成将分子式聚类。这有助于阐明化合物组成的变化, 例如氧化状态、甲基化程度和缩合反应等。简而言之, 生物分子的化学组成可由 van Krevelen 图进一步细分为(Ohno et al., 2014):

➤ 脂类:

$$0 \leq \frac{O}{C} \leq 0.3 \text{ 且 } 1.5 \leq \frac{H}{C} \leq 2.0 \quad (11)$$

➤ 蛋白质与氨基酸:

$$0.3 \leq \frac{o}{c} \leq 0.67 \text{ 且 } 1.5 \leq \frac{H}{c} \leq 2.2 \quad (12)$$

➤ 木质素:

$$0.1 \leq \frac{o}{c} \leq 0.67 \text{ 且 } 0.7 \leq \frac{H}{c} \leq 1.5 \quad (13)$$

➤ 碳水化合物:

$$0.67 \leq \frac{o}{c} \leq 1.2 \text{ 且 } 1.5 \leq \frac{H}{c} \leq 2.2 \quad (14)$$

➤ 不饱和碳氢化合物:

$$0 \leq \frac{o}{c} \leq 0.1 \text{ 且 } 0.7 \leq \frac{H}{c} \leq 1.5 \quad (15)$$

➤ 稠环芳烃类:

$$0 \leq \frac{o}{c} \leq 0.67 \text{ 且 } 0.2 \leq \frac{H}{c} \leq 0.7 \quad (16)$$

➤ 单宁:

$$0.67 \leq \frac{o}{c} \leq 1.2 \text{ 且 } 0.5 \leq \frac{H}{c} \leq 1.5 \quad (17)$$

相对丰度权重 ( $M_w$ ) 下的各参数 (如  $C_w$ 、 $O/C_w$ 、 $H/C_w$ 、 $DBE_w$ 、 $AI_{mod-w}$ 、和  $N/C_w$ ) 按照 Mesfioui 等(2015)给出的公式计算。FT-ICR MS 鉴定出的分子式可归类为 CHO-、CHON-和 CHOS-组成的化合物, 由于本研究聚焦于 DON, 因而主要基于 CHON 组成的分子式进行分析, 例如 van Krevelen (VK) 图。

### 3.3 统计分析

使用单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 评价各来源表征参数平均值之间的显著差异, 并使用双变量相关分析评估 DON 组成各指标之间的相关关系, 差异和相关关系在  $p < 0.05$  水平被认为显著。统计分析在 Excel 2016 (Microsoft Corporation, Redmond, USA), SPSS 20.0 (IBM Analytics, Armonk, USA) 和 OriginPro 2016 (OriginLab Corporation, Northampton, USA) 软件包中进行。

平行因子分析 (Parallel Factor Analysis, PARAFAC) 是以三线性分解理论为基础, 运用交替最小二乘算法实现的一种数学模型, 能将复杂的荧光图谱解析为多个独立具有单个发射峰的荧光团, 进而能客观和准确的解译 CDOM 荧光组成

结构的相对丰度及变化情况(Stedmon et al., 2003; Ishii and Boyer, 2012; Murphy et al., 2013), 并且存在开源数据库使得新的模型分析结果与已有结果间可以相互比较 (OpenFluor, <http://www.openfluor.org>)。PARAFAC 分析使用 drEEM 工具箱在 MATLAB (Mathworks, Natick, MA, 美国) 中进行, 与 Stedmon 和 Bro(2008) 给出的程序包 DOMFluor 工具箱相比, 该工具箱在对半检验中显得更为强大(周永强, 2017)。

为了更好地理解不同来源 DON 组成的变化并探索可能影响相对丰度权重下氮分子式数量的变量, 基于各来源的 DON 浓度、含氮 VK 组分的总相对丰度(信号值)、平行因子各组分的丰度进行主成分分析 (PCA)。首先对 PCA 的各变量进行标准化, 以便对不同水平和来源的 DON 组成数据进行有意义的比较, 随后使用 SPSS 20.0 (IBM Analytics, Armonk, USA) 中的基本功能完成 PCA 分析。

### 3.4 结果

#### 3.4.1 营养盐和DOC浓度

太湖水体及各不同来源水样的基本理化性质见表 3.2。TDN 浓度除了农业径流水外, 其他各来源 TDN 浓度均高于太湖湖心水样, 表现出的趋势为水草降解 > 藻降解 > 地下水 > 溪流源头水 > 雨水 > 土壤淋溶 > 沉积物间隙水 > 生活污水 > 太湖 > 农业径流。 $\text{NH}_4^+$ 浓度变化范围为  $0.01 \pm 0.01$  至  $16.92 \pm 2.94 \text{ mg L}^{-1}$ , 趋势为藻降解 > 水草降解 > 雨水 > 沉积物间隙水 > 土壤淋溶 > 生活污水 > 溪流源头水 > 太湖 > 农业径流 > 地下水。 $\text{NO}_3^-$ 浓度变化范围为  $0.02 \pm 0.01$  至  $4.13 \pm 0.17 \text{ mg L}^{-1}$ , 趋势为地下水 > 溪流源头水 > 水草降解水 > 土壤淋溶水 > 生活污水 > 藻降解 > 太湖 > 农业径流 > 沉积物间隙水。 $\text{PO}_4^{3-}$ 浓度范围为  $2 \pm 2$  至  $4974 \pm 1569 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ , 趋势为水草降解 > 藻降解 > 地下水 > 农业径流 > 沉积物间隙水 > 太湖 > 雨水 > 生活污水 > 土壤淋溶水 > 溪流源头水。DOC 浓度范围为  $1.19 \pm 0.06$  至  $241.27 \pm 5.53 \text{ mg L}^{-1}$ , 趋势为水草降解 > 生活污水 > 藻降解 > 土壤淋溶 > 太湖 > 沉积物间隙水 > 农业径流 > 溪流源头 > 雨水 > 地下水。

DON 浓度范围为  $0.08 \pm 0.05$  至  $16.90 \pm 2.94 \text{ mg L}^{-1}$ , 藻降解水和水草降解水最高, 溪流源头水最低, 趋势为水草降解 > 藻降解 > 地下水 > 生活污水 > 沉积物间隙水 > 土壤淋溶水 > 太湖 > 农业径流 > 溪流源头水。DON 占 TDN 的

比例方面, 生活污水最高(81%), 其次为水草降解、农业径流和太湖(>50%), 其他来源表现出的趋势为藻降解 > 沉积物间隙水 > 雨水 > 地下水 > 土壤淋溶 > 溪流源头水。营养盐和 DOC 浓度随不同来源均呈现显著差异(one-way ANOVAs,  $p < 0.01$ )。

表 3.2 太湖湖心及各不同来源水样基本理化性质

Table 3.2 Main characteristics of the water from autochthonous and allochthonous sources to Lake Taihu

DON 来源	DOC (mg L <sup>-1</sup> )	TDN (mg L <sup>-1</sup> )	TDP (mg L <sup>-1</sup> )	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (μg L <sup>-1</sup> )	DON (mg L <sup>-1</sup> )	DON:TDN (%)
SW	2.22 ± 0.09	4.56 ± 0.20	0 ± 0	0.11 ± 0.1	4.08 ± 0.22	0 ± 0	2 ± 2	0.37 ± 0.26	8 ± 5
GW	1.19 ± 0.06	6.61 ± 0.27	0.54 ± 0.02	0.01 ± 0.01	4.13 ± 0.17	0 ± 0	507 ± 21	2.46 ± 0.33	37 ± 4
AW	4.41 ± 0.04	0.71 ± 0.02	0.19 ± 0	0.08 ± 0.05	0.21 ± 0.05	0.01 ± 0	196 ± 50	0.42 ± 0.1	59 ± 13
SEW	82.90 ± 1.17	1.63 ± 0.05	0.04 ± 0	2.02 ± 2.06	0.40 ± 0.38	0.1 ± 0.12	6 ± 1	1.10 ± 0.26	81 ± 1
SPW	4.64 ± 0.12	1.97 ± 0.06	0.12 ± 0.01	1.08 ± 0.06	0.02 ± 0.01	0 ± 0	39 ± 9	0.87 ± 0.11	44 ± 4
ADW	27.20 ± 1.10	32.00 ± 1.45	5.41 ± 1.17	16.90 ± 2.94	0.36 ± 0.11	0.14 ± 0.04	4273 ± 465	14.60 ± 2.66	46 ± 9
SLW	7.21 ± 0.05	2.52 ± 0.08	0.05 ± 0.01	0.55 ± 0.17	1.14 ± 0.08	0 ± 0	6 ± 3	0.82 ± 0.02	33 ± 1
MDW	241.00 ± 5.53	47.7 ± 0.71	6.56 ± 0.13	15.50 ± 2.77	1.75 ± 0.09	0.15 ± 0.01	4974 ± 1569	30.30 ± 3.49	63 ± 6
RW	2.31 ± 0.22	2.82 ± 0.10	0.02 ± 0.00	1.09 ± 0.12	0.52 ± 0.03	0 ± 0	15 ± 2	1.21 ± 0.15	43 ± 4
TH	5.49 ± 1.29	0.83 ± 0.34	0.04 ± 0.05	0.11 ± 0.05	0.28 ± 0.21	0 ± 0	33 ± 48	0.44 ± 0.19	53 ± 2

\*SW: 溪流源头水; GW: 地下水; AW: 农业径流; SEW: 生活污水; SPW: 沉积物间隙水; ADW: 藻降解水; SLW: 壤淋溶水; MDW: 水草降解水; RW: 雨水; TH: 太湖湖心水

### 3.4.2 紫外-可见吸收光谱表征

太湖湖心及各不同来源水样 CDOM/CDON 吸收系数  $a(254)$ 和  $a(350)$ 变化范围分别为 2.28–117.39 和 0.20–41.48 m<sup>-1</sup>, 趋势均为藻降解、水草降解和土壤淋溶较高, 其次为农业径流、生活污水、沉积物间隙水和太湖, 溪流源头水、地下水和雨水较低(图 3.1 ab)。S<sub>275-295</sub> 和 S<sub>R</sub> 变化范围分别为 10.34–28.50 和 0.58–1.65, 表现出的趋势分别为雨水 > 水草降解 > 生活污水 > 太湖 > 沉积物间隙水 > 藻降解 > 溪流源头水 > 土壤淋溶 > 地下水 > 农业径流和藻降解 > 太湖 > 沉积物间隙水 > 生活污水 > 1 > 水草降解 > 土壤淋溶 > 溪流源头水 > 地下

水 > 农业径流 > 雨水 (图 3.1 cd)。分子大小参数  $a(250):a(365)$  变化范围为 0.01–30.80, 趋势为雨水 > 溪流源头水 > 生活污水 > 地下水 > 太湖 > 沉积物间隙水 > 水草降解 > 土壤淋溶 > 农业径流 > 藻降解 (图 3.1 e)。腐殖化指数  $SUVA_{254}$  变化范围为 0.31–11.97  $L\ mg^{-1}\ m^{-1}$ , 趋势为土壤淋溶 > 农业径流 > 地下水 > 溪流源头水 > 沉积物间隙水 > 水草降解 > 藻降解 > 太湖 > 雨水 > 生活污水 (图 3.1 f)。各不同来源水样的紫外-可见吸收光谱参数呈现显著差异 (one-way ANOVAs,  $p < 0.01$ )。

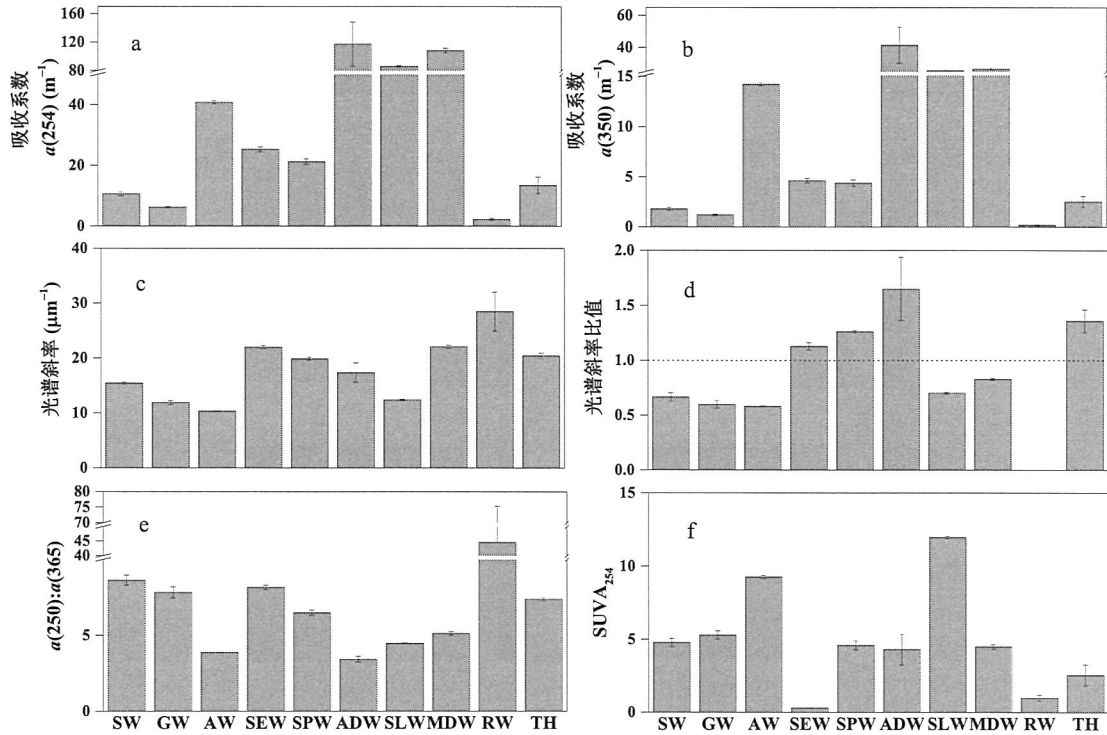


图 3.1 各不同来源 CDOM/CDON 的光谱吸收系数  $a(254)$  (a)、 $a(350)$  (b)、光谱斜率  $S_{275-295}$  (c)、光谱斜率比值  $S_R$  (d)、分子大小  $a(250):a(365)$  (e)、腐殖化程度  $SUVA_{254}$  (f) (SW: 溪流源头水; GW: 地下水; AW: 农业径流; SEW: 生活污水; SPW: 沉积物间隙水; ADW: 藻降解水; SLW: 土壤淋溶水; MDW: 水草降解水; RW: 雨水; TH: 太湖湖心水)

**Figure 3.1** Spectral absorption coefficients  $a(254)$  (a) and  $a(350)$  (b), composition parameters of spectral slope  $S$  (c), spectral slope ratio  $S_R$  (d), and molecular size  $a(250):a(365)$  of CDOM from different sources. The bar is standard error. (SW: stream water; GW: groundwater; AW: agricultural runoff; SEW: domestic sewage; SPW: sediment porewater; ADW: algae-derived water; SLW: soil leachates water; MDW: macrophyte derived water; RW: rain water; TH: centre of Lake Taihu)

### 3.4.3 三维荧光光谱表征

太湖湖心及各不同来源水样表现出不同的三维荧光光谱特征(图 3.2)。平行因子鉴定出三个组分(图 3.3 abc), 每个组分均有单个发射波长最大值和单个或多个激发波长最大值(图 3.3 def)。三维荧光光谱形状与 Openfluor 在线数据库(Murphy et al., 2014)中已发表的其他生态系统模型结果对比显示, C1 组分( $Ex/Em = 235 (355)/476$ )为典型的陆源腐殖酸荧光团(Stedmon and Markager, 2005; Williams et al., 2010; Zhang et al., 2010; Shutova et al., 2014; Catala et al., 2015); C2 组分( $Ex/Em = 275/316$ )为内源类色氨酸和类酪氨酸组分结合的蛋白峰(Graeber et al., 2012; Kowalczyk et al., 2013; Yamashita et al., 2013; Zhang et al., 2013b); C3 ( $Ex/Em = \leq 230/296$ )为微生物源腐殖酸组分(Murphy et al., 2011; Kothawala et al., 2014a; Shutova et al., 2014)。

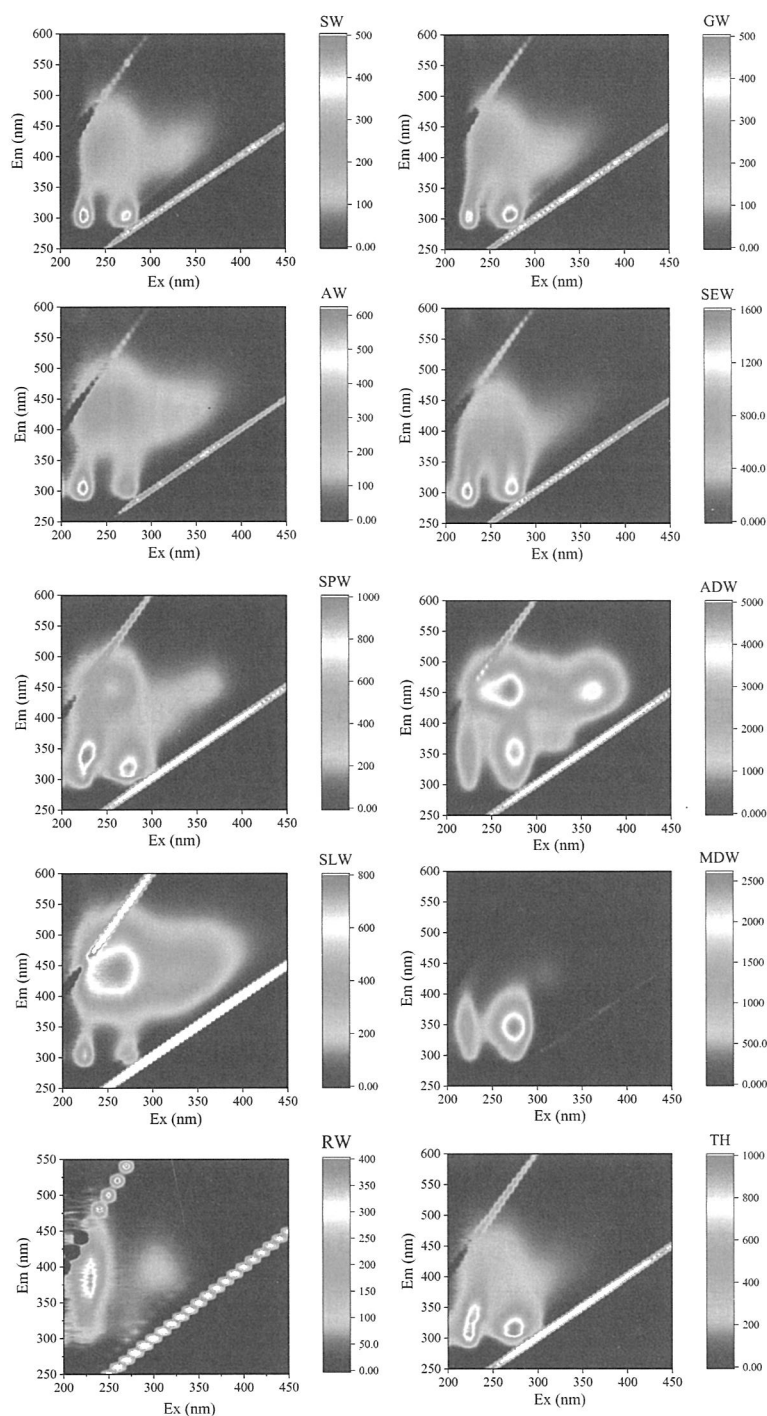


图 3.2 太湖各不同来源水样 CDOM/CDON 的三维荧光图谱 (SW: 溪流源头水; GW: 地下水; AW: 农业径流; SEW: 生活污水; SPW: 沉积物间隙水; ADW: 藻降解水; SLW: 壤淋溶水; MDW: 水草降解水; RW: 雨水; TH: 太湖湖心水)

Figure 3.2 Three-dimensional fluorescence spectroscopy of CDOM/CDON from different sources in Lake Taihu

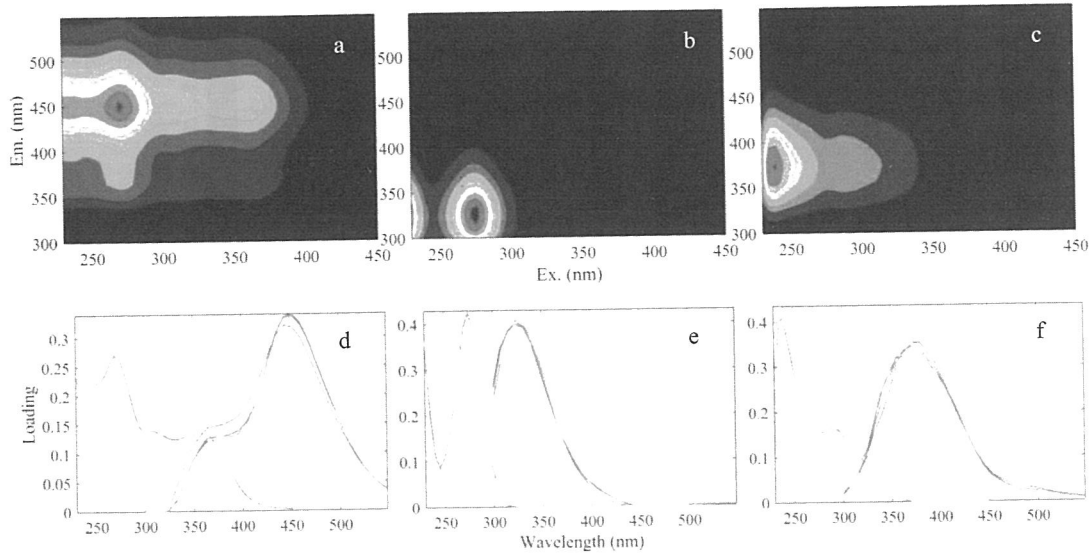


图 3.3 平行因子分析得到的 3 个荧光组分的光谱特征 (a、b 和 c)；模型经过半分裂验证程序验证，d、e 和 f 显示 3 个组分重叠的激发和发射负荷

**Figure 3.3** Spectral characteristics of the three PARAFAC components (A, B, and C). The largely overlapping excitation and emission loadings of the three components, modeled on the halves of the dataset and on the whole dataset are also shown (d, e, and f).

三个组分中 (图 3.4 ab), C1 比例变化范围为 5.35%–70.30%, 趋势为土壤淋溶 > 农业径流 > 藻降解 > 溪流源头水 > 沉积物间隙水 > 地下水 > 生活污水 > 雨水 > 太湖 > 水草降解; C2 比例变化范围为 18.47%–78.39%, 趋势为水草降解 > 太湖 > 生活污水 > 沉积物间隙水 > 藻降解 > 地下水 > 雨水 > 溪流源头水 > 农业径流 > 土壤淋溶水; C3 比例变化范围为 2.20%–30.95%, 趋势为雨水 > 生活污水 > 溪流源头水 > 地下水 > 太湖 > 水草降解 > 农业径流 > 沉积物间隙水 > 土壤淋溶 > 藻降解。生物源指数 BIX 变化范围为 0.23–1.20 (图 3.4c), 趋势为太湖 > 生活污水 > 地下水 > 溪流源头水 > 1 > 雨水 > 沉积物间隙水 > 藻降解水 > 农业径流 > 土壤淋溶 > 水草降解; 腐殖化指数 HIX 变化范围为 0.23–1.20 (图 3.4d), 趋势土壤淋溶 > 农业径流 > 藻降解 > 溪流源头水 > 沉积物间隙水 > 地下水 > 生活污水 > 雨水 > 太湖 > 水草降解。

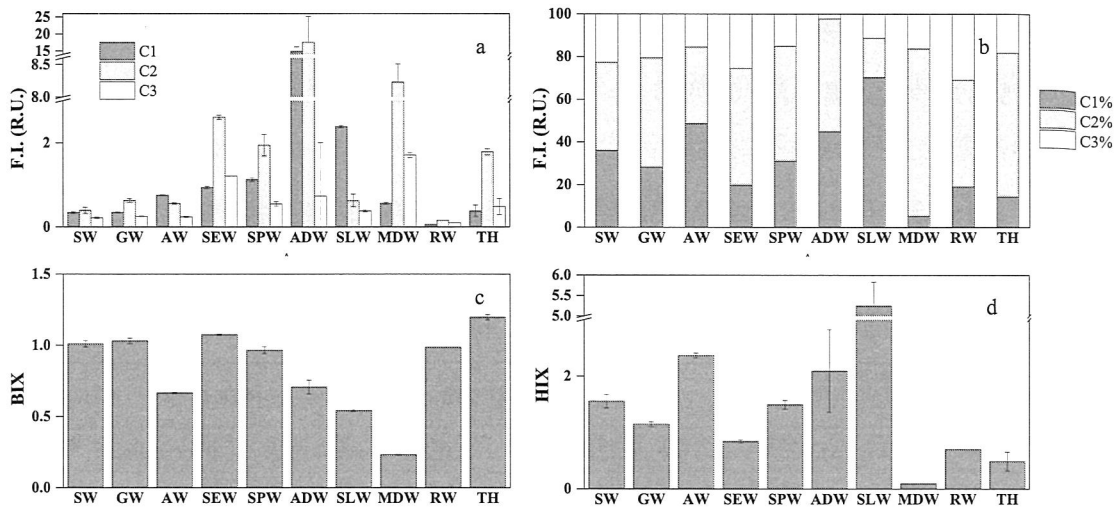


图 3.4 太湖不同来源 CDOM/CDON 各荧光组分的丰度 (a) 及比例 (b)、生物源指数 BIX (c) 和腐殖化指数 HIX (d) 的变化 (SW: 溪流源头水; GW: 地下水; AW: 农业径流; SEW: 生活污水; SPW: 沉积物间隙水; ADW: 藻降解水; SLW: 土壤淋溶水; MDW: 水草降解水; RW: 雨水; TH: 太湖湖心水)

**Figure 3.4** Changes in component abundance (a) and proportion (b), BIX (c), and HIX (d) for DON samples from 10 different sources in Lake Taihu Basin. The bar is standard error.

### 3.4.4 超高分辨率质谱表征

#### 3.4.4.1 DON 元素组成

各不同来源水样中, 沉积物间隙水、土壤淋溶水和农业径流鉴定出的分子式数量最多 (> 10000), 藻降解水最少 (3568) (表 3.3 和图 3.5)。平均分子质量变化范围为 383–596 Da, 趋势为土壤淋溶 (596) > 水草降解 (579) > 农业径流 (561) > 沉积物间隙水 (538) > 地下水 (522) > 雨水 (521) > 溪流源头水 (517) > 生活污水 (465) > 太湖 (422) > 藻降解 (383)。所鉴定出的分子式中, CHO、CHON 和 CHOS 元素组成的分子式分别占总分子式数量的 33%–67%、28%–63%和 0%–18%。含氮分子式 (CHON) 占总分子式数量百分比的趋势为雨水 (63%) > 藻降解 (52%) > 溪流源头水 (47%) > 沉积物间隙水 (47%) > 农业径流 (46%) > 地下水 (45%) > 土壤淋溶 (36%) > 生活污水 (36%) > 太湖 (33%) > 水草降解 (28%)。含氮分子式 (CHON) 占总分子式相对离子丰度的百分比趋势为藻降解 (53%) > 雨水 (37%) > 农业

径流(32%) > 沉积物间隙水(32%) > 地下水(28%) > 溪流源头水(19%) > 太湖(19%) > 土壤淋溶(19%) > 生活污水(14%) > 水草降解(10%)。

表 3.3 FT-ICR MS 鉴定的各不同来源 DON 中的化合物总数

Table 3.3 Total number of compounds assigned by FT-ICR MS of ten different DON sources

DON 来源*	化合物总数量	CHO	CHON	CHOS	CHO%	CHON%	CHOS%
SW	4315	2901	2034	190	67	47	4
GW	9875	3716	4409	1750	38	45	18
AW	11099	4605	5132	1362	41	46	12
SEW	4996	2463	1806	727	49	36	15
SPW	12627	4497	5944	2186	36	47	17
ADW	3568	1162	1858	548	33	52	15
SLW	12524	6340	4531	1653	51	36	13
MDW	8559	4951	2423	1185	58	28	14
RW	5301	1977	3324	0	37	63	0
TH	4754	2543	1553	658	53	33	14

\*SW: 溪流源头水; GW: 地下水; AW: 农业径流; SEW: 生活污水; SPW: 沉积物间隙水; ADW: 藻降解水; SLW: 壤淋溶水; MDW: 水草降解水; RW: 雨水; TH: 太湖湖心水

针对 FT-ICR MS 鉴定出的所有分子式来说, 相对离子丰度权重下的各参数  $DBE_w$ 、 $AI_w$ 、 $C_w$ 、 $H/C_w$ 、 $N/C_w$  和  $O/C_w$  证明各不同来源的 DOM 组成间的显著差异 (表 3.4)。DBE 和  $DBE_w$  变化范围分别为 7–16 和 6–14, 趋势均为雨水 > 土壤淋溶 > 溪流源头水 > 水草降解 > 农业径流 > 地下水 > 沉积物间隙水 > 太湖 > 生活污水 > 藻降解。 $AI_{mod}$  均值变化范围为 0.20–0.47, 趋势为雨水 (0.47) > 溪流源头水 (0.38) > 土壤淋溶水 (0.35) > 地下水 (0.27) > 太湖 (0.26)  $\approx$  农业径流 (0.26) > 水草降解 (0.25)  $\approx$  沉积物间隙水 (0.25) > 藻降解 (0.21) > 生活污水 (0.20); 而  $AI_{mod-w}$  变化范围为 0.16–0.47, 趋势为雨水 (0.47) > 土壤淋溶水 (0.37) > 溪流源头水 (0.33) > 水草降解水 (0.27)  $\approx$  地下水 (0.27) > 农业径流 (0.26) > 太湖 (0.25) > 沉积物间隙水 (0.24) > 藻降解 (0.19) > 生活污水 (0.16)。雨水表现出最高的  $AI_w$ 、 $AI_{mod-w}$  和  $DBE_w$ 。 $C_w$  变化范围为 16–26, 趋势为雨水 (26) > 土壤淋溶 (24) > 溪流源头水 (23) > 农业径流 (22)  $\approx$  水草降解 (22) > 地下水 (21) > 沉积物间隙水 (20) > 生活污水 (19)  $\approx$  太湖 (19) > 藻降解 (16)。 $N/C_w$  变化范围为 0.006–0.055,

趋势为藻降解 (0.055) > 沉积物间隙水 (0.023) > 农业径流 (0.022) > 雨水 (0.021) > 地下水 (0.019) > 太湖 (0.015) > 溪流 (0.012) > 土壤淋溶 (0.011) > 生活污水 (0.009) > 水草降解 (0.006)。生活污水和藻降解表现出最高的  $H/C_w$  ( $> 1.4$ ), 而水草降解和土壤淋溶表现出最高的  $O/C_w$  ( $> 0.50$ )。

表 3.4 太湖各不同来源水样 DON 化合物 FT-ICR MS 峰值权重下的芳香指数 ( $AI_w$ )、双键当量 ( $DBE_w$ )、 $H/C_w$ 、 $N/C_w$  和  $O/C_w$  比值

Table 3.4 Magnitude-weighted  $AI_w$ ,  $DBE_w$ ,  $H/C_w$ ,  $N/C_w$ , and  $O/C_w$  mole ratios for each source of DON to Lake Taihu

DON 来源*	$C_w$	$O/C_w$	$H/C_w$	$N/C_w$	$AI_{mod-w}$	$DBE_w$
SW	22.89	0.43	1.17	0.01	0.30	10.97
GW	20.91	0.49	1.22	0.02	0.26	9.39
AW	22.41	0.50	1.23	0.02	0.25	9.90
SEW	19.32	0.45	1.49	0.01	0.09	6.02
SPW	20.50	0.51	1.25	0.02	0.24	8.90
ADW	16.22	0.46	1.45	0.06	0.13	5.99
SLW	23.88	0.53	1.03	0.01	0.36	12.63
MDW	21.80	0.57	1.16	0.01	0.25	10.28
RW	26.22	0.24	1.03	0.02	0.47	13.59
TH	19.11	0.44	1.30	0.02	0.24	7.78

\*SW: 溪流源头水; GW: 地下水; AW: 农业径流; SEW: 生活污水; SPW: 沉积物间隙水; ADW: 藻降解水; SLW: 壤淋溶水; MDW: 水草降解水; RW: 雨水; TH: 太湖湖心水

针对 FT-ICR MS 鉴定出的含氮分子式 (DON 库) 来说 (表 3.5), 平均分子质量变化范围为 394–571 Da, 趋势为土壤淋溶水 (571) > 农业径流水 (550) > 溪流源头水 (541) > 水草降解水 (540) > 沉积物间隙水 (539) > 雨水 (519) > 地下水 (515) > 生活污水 (512) > 太湖 (403) > 藻降解水 (394)。平均 DBE 数量为 8–17, 趋势为雨水 (17) > 土壤淋溶水 (15) > 溪流源头水 (14) > 水草降解水 (12)  $\approx$  农业径流水 (12) > 沉积物间隙水 (11)  $\approx$  地下水 (11)  $\approx$  生活污水 (11) > 太湖 (9) > 藻降解水 (8)。 $AI_{mod}$  变化范围为 0.19–0.50, 趋势为雨水 (0.50) > 土壤淋溶水 (0.44) > 太湖 (0.34) > 地下水 (0.30)  $\approx$  溪流源头水 (0.30) > 水草降解水 (0.29) > 农业径流水 (0.26)  $\approx$  沉积物间隙水 (0.26) > 生活污水 (0.21) > 藻降解水 (0.19)。平均 N/C 变化范围为

0.052–0.091, 趋势为藻降解水 (0.091) > 太湖 (0.076) > 生活污水 (0.065) > 沉积物间隙水 (0.063)  $\approx$  地下水 (0.063) > 溪流源头水 (0.061) > 农业径流水 (0.060) > 土壤淋溶水 (0.055) > 水草降解水 (0.052)  $\approx$  雨水 (0.052)。

表 3.5 太湖各不同来源 DOM 和 DON 的 m/z、H/C、O/C、N/C、AI<sub>mod</sub>、DBE 和 DBE/C 均值

Table 3.5 Average values of m/z, H/C, O/C, N/C, AI<sub>mod</sub>, DBE, and DBE/C for DOM and DON from each source of Lake Taihu

DON 来源*	DOM 组成							DON 组成						
	m/z	H/C	O/C	N/C	AI <sub>mod</sub>	DBE	DBE/C	m/z	H/C	O/C	N/C	DBE	AI <sub>mod</sub>	DBE/C
SW	517	1.11	0.41	0.029	0.38	14	0.50	541	1.13	0.44	0.06	14	0.39	0.51
GW	522	1.21	0.48	0.028	0.27	11	0.45	515	1.18	0.49	0.06	11	0.31	0.49
AW	561	1.22	0.50	0.028	0.26	12	0.45	550	1.21	0.51	0.06	12	0.28	0.47
SEW	465	1.41	0.48	0.024	0.20	8	0.36	512	1.33	0.43	0.07	11	0.27	0.42
SPW	538	1.25	0.49	0.030	0.25	11	0.44	539	1.22	0.50	0.06	11	0.28	0.47
ADW	383	1.38	0.48	0.048	0.21	7	0.39	394	1.34	0.48	0.09	8	0.26	0.44
SLW	596	1.07	0.50	0.020	0.35	14	0.52	571	0.96	0.54	0.06	15	0.44	0.59
MDW	579	1.22	0.53	0.015	0.25	12	0.44	540	1.16	0.54	0.05	12	0.31	0.49
RW	521	1.04	0.25	0.033	0.47	16	0.53	519	1.00	0.24	0.05	17	0.50	0.56
TH	422	1.28	0.44	0.025	0.26	9	0.43	403	1.18	0.46	0.08	9	0.34	0.51

\*SW: 溪流源头水; GW: 地下水; AW: 农业径流; SEW: 生活污水; SPW: 沉积物间隙水;  
ADW: 藻降解水; SLW: 壤淋溶水; MDW: 水草降解水; RW: 雨水; TH: 太湖湖心水

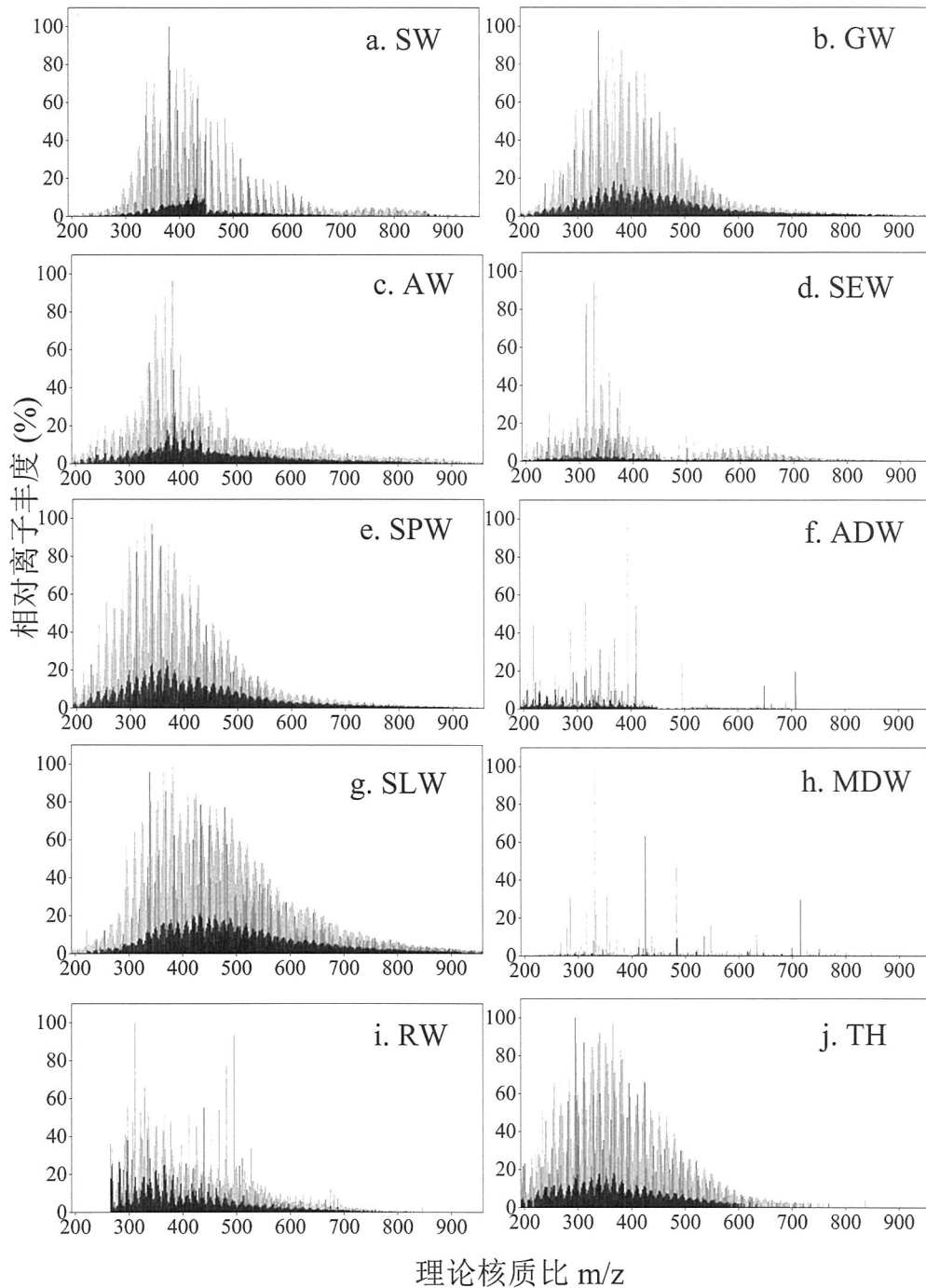


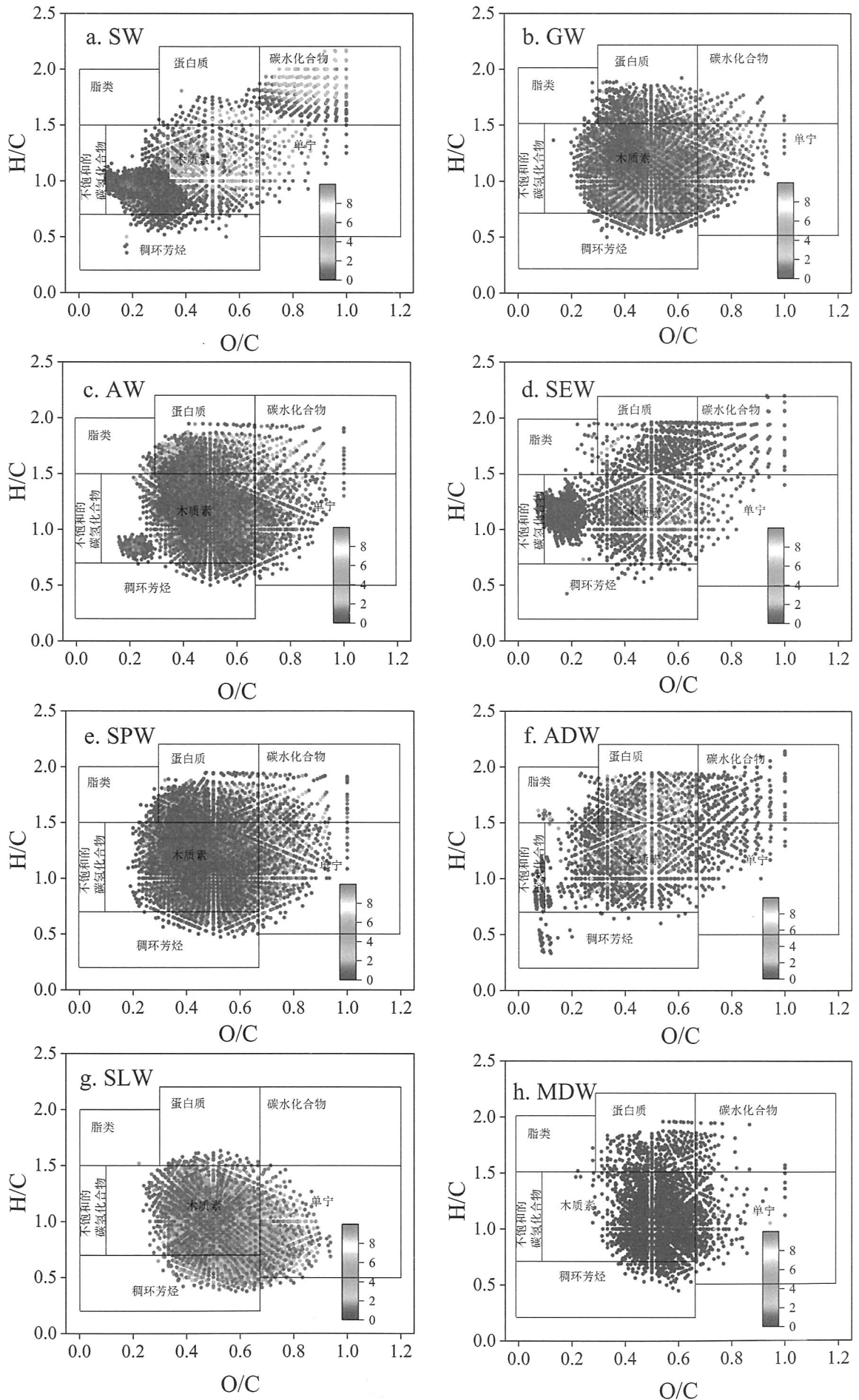
图 3.5 ESI FT-ICR MS 表征各来源 DON 时不同理论核质比 ( $m/z$ ) 下的相对离子丰度 (a: 溪流源头 (SW); b: 地下水 (GW); c: 农业径流 (AW); d: 生活污水 (SEW), e: 沉积物间隙水 (SPW); f: 藻降解水 (ADW); g: 土壤淋溶水 (SLW); h: 水草降解水 (MDW); i: 雨水 (RW); j: 太湖湖心水 (TH))

Figure 3.5 Relative ion abundance of theoretical masses ( $m/z$ ) by ESI FT-ICR MS in the negative ionization mode after salt removal using solid phase extraction

#### 3.4.4.2 DON 元素组成 Van Krevelen (VK) 图

FT-ICR MS 鉴定出的分子式可以通过基于 O/C 和 H/C 的二维 Van Krevelen (VK) 图划归出 8 种常见的化合物分类：脂类、蛋白质和氨基酸、木质素、碳水化合物、不饱和的碳氢化合物、稠环芳烃、单宁、其他等(Kim et al., 2003; Ohno et al., 2014; Mesfioui et al., 2015)。由于本文聚焦于太湖各来源的 DON 组成，Van Krevelen 图相关的结果仅包括含氮分子式 (CHON) (表 3.6 和图 3.6)。各不同来源 DON 均表现出类木质素结构分子式数量最多，占总含氮分子式数量的 49–80%，趋势为太湖 (80%) > 雨水 (79%) > 地下水 (74%) > 水草降解 (73%) > 溪流源头 (72%) > 沉积物间隙水 (69%) ≈ 土壤淋溶水 (69%) > 农业径流 (68%) > 生活污水 (59%) > 藻降解水 (49%)。溪流、土壤淋溶水和雨水的第二大组分依次为碳水化合物 (15%)、稠环芳烃 (15%) 和不饱和的碳氢化合物 (10%)，而对其他来源的 DON 来说，蛋白质和氨基酸为第二大组分，趋势为生活污水 (22%) > 藻降解水 (21%) > 农业径流水 (15%) > 沉积物间隙水 (13%) > 水草降解水 (12%) > 地下水 (10%) > 太湖 (9%)。整体上，单宁类分子式为第三大组分 (除了溪流、生活污水和藻降解水)，占总含氮分子式数量的 4–14%。

对不同来源 DON 各组分的总相对丰度及其比例的比较表明 (表 3.6)，木质素比例最高，趋势为太湖 (88%) > 雨水 (86%) > 地下水 (83%) > 沉积物间隙水 (78%) > 水草降解水 (72%) > 农业径流水 (71%) > 土壤淋溶水 (69%) > 溪流源头水 (67%) > 生活污水 (63%) > 藻降解水 (53%)。蛋白质和氨基酸的比例范围为 0–32%，趋势为藻降解 (32%) > 生活污水 (22%) > 农业径流水 (16%) > 沉积物间隙水 (9%) ≈ 水草降解水 (9%) > 地下水 (6%) ≈ 太湖 (6%) > 溪流源头水 (3%) > 土壤淋溶水 (0%) = 雨水 (0%)。



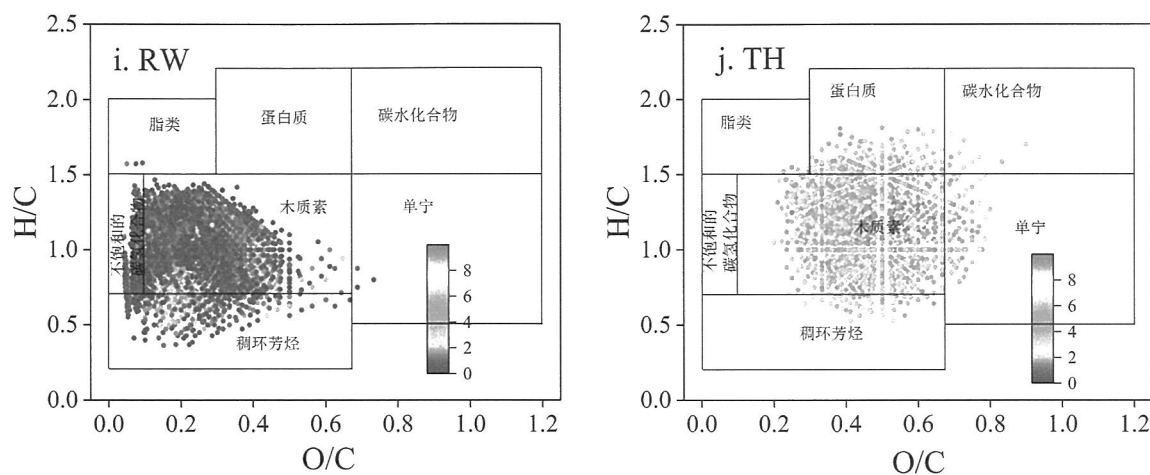


图 3.6 各不同来源 DON 组分的 Van Krevelen 图 (a: 溪流源头 (SW); b: 地下水 (GW); c: 农业径流 (AW); d: 生活污水 (SEW), e: 沉积物间隙水 (SPW); f: 藻降解水 (ADW); g: 土壤淋溶水 (SLW); h: 水草降解水 (MDW); i: 雨水 (RW); j: 太湖湖心水 (TH))

Figure 3.6 Van Krevelen diagrams of DON components from 10 different sources in Lake Taihu Basin

表 3.6 FT-ICR MS 鉴定出的太湖水体不同来源 DON 各组分数比例和总相对丰度比例

Table 3.6 Total number of compounds assigned by FT-ICR MS of ten different DON sources

DON 来源*	脂类 (%)	蛋白质和氨基酸 (%)	木质素 (%)	碳水化合物 (%)	不饱和的碳氢化合物 (%)	稠环芳烃 (%)	单宁 (%)	其他 (%)
SW	0 (0)	3 (3)	72 (67)	15 (20)	0 (0)	5 (2)	4 (6)	1 (2)
GW	0 (0)	10 (6)	74 (83)	1 (1)	0 (0)	4 (2)	9 (7)	2 (2)
AW	0 (0)	15 (16)	68 (71)	2 (2)	0 (0)	3 (1)	10 (7)	2 (3)
SEW	1 (1)	22 (22)	59 (63)	8 (6)	3 (3)	1 (1)	3 (3)	2 (2)
SPW	1 (0)	13 (9)	69 (78)	3 (2)	0 (0)	3 (2)	9 (7)	2 (2)
ADW	3 (2)	21 (32)	49 (53)	10 (5)	3 (1)	2 (1)	8 (3)	3 (3)
SLW	0 (0)	1 (0)	69 (69)	0 (0)	0 (0)	15 (16)	14 (14)	1 (1)
MDW	0 (0)	12 (9)	73 (72)	2 (1)	0 (0)	4 (2)	7 (14)	2 (1)
RW	0 (0)	0 (0)	79 (86)	0 (0)	10 (6)	9 (8)	0 (0)	1 (1)
TH	0 (0)	9 (6)	80 (88)	1 (0)	0 (0)	3 (2)	4 (3)	3 (2)

\*SW: 溪流源头水; GW: 地下水; AW: 农业径流; SEW: 生活污水; SPW: 沉积物间隙水; ADW: 藻降解水; SLW: 壤淋溶水; MDW: 水草降解水; RW: 雨水; TH: 太湖湖心水

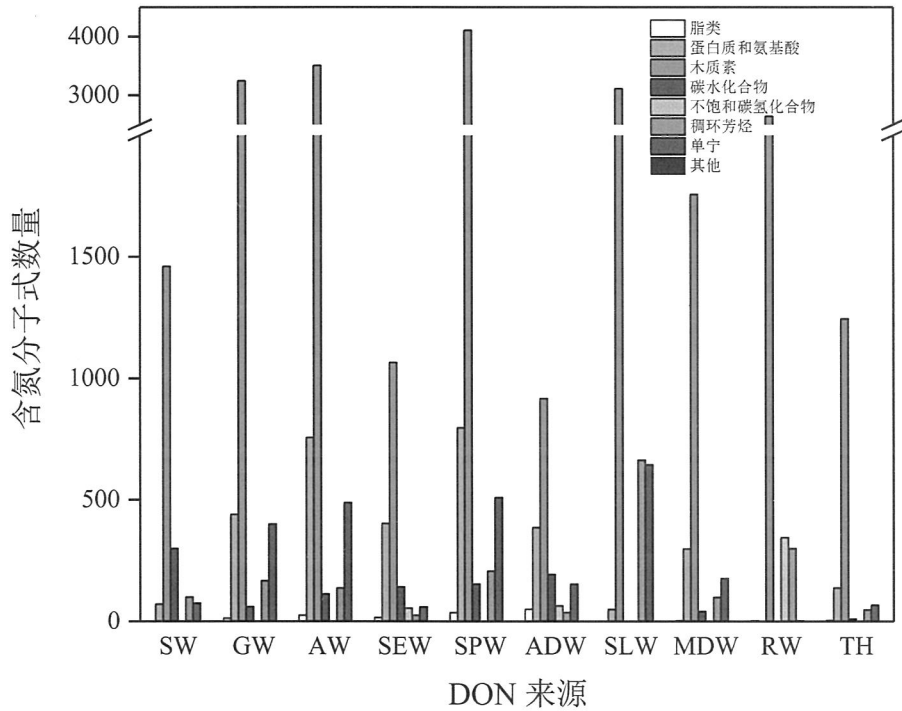


图 3.7 太湖各来源 DON 的含氮分子式数量 (SW: 溪流源头水; GW: 地下水; AW: 农业径流; SEW: 生活污水; SPW: 沉积物间隙水; ADW: 藻降解水; SLW: 壤淋溶水; MDW: 水草降解水; RW: 雨水; TH: 太湖湖心水)

Figure 3.7 Bar chart depicting the number of molecular formulas assigned to each defined compound class revealed by FT-ICR MS for DON samples of 10 different sources in Lake Taihu Basin

### 3.5 讨论

#### 3.5.1 DON浓度及不稳定组分高的来源

本节的结果表明, 外部人为来源的 DON 占 TDN 的比例相对较高, 例如生活污水和农业径流。生活污水不仅 DON 占 TDN 比例在所有来源中最高, 还表现出最低的  $AI_{mod-w}$ 、 $DBE_w$  及最高的  $H/C_w$ , 并且分子重量相对较低, 暗示 DON 中不稳定含氮组分的比例较高。芳香性指数  $AI_{mod}$  较低的 DON 分子通常先被浮游生物群落转化, 留下  $AI_{mod}$  较高的 DON 分子(Li et al., 2018)。另外, 在持续的紫外光照射下, 人为来源(如污水厂出水)的 DON 发生光漂白效应向光腐殖化效应的转变, 表现出  $DBE$  和平均分子质量增加(Mesfioui et al., 2015)。因而, 生活污水中的 DON 可能拥有较强的生物可利用性和光反应特性。

在外部人为来源中, 农业径流 DON 浓度占 TDN 的比例也较高(大于 50%),

生活污水能够被水再利用设施处理,然而农业径流为非点源并通常直接流入湖泊等水体。研究表明,农业活动促进了受农业影响的河源(Heinz et al., 2015)和河网(Graeber et al., 2015)DON浓度的增加。Heinz等(2015)强调农业活动对DON浓度产生的影响比DOC更显著。同时,密集农业活动能够增加类似微生物来源(Graeber et al., 2015)和/或类蛋白(Bida et al., 2015; Heinz et al., 2015)荧光有机组分的增加,这些组分比森林自然溪流经历了更多的微生物降解过程(Heinz et al., 2015)。本文的研究结果也表明,与森林自然溪流和森林土壤淋溶水中的DON相比,农业径流DON的相对丰度权重下的含氮分子式比例、类蛋白分子式数量以及 $N/C_w$ 都显著升高,而 $DBE_w$ 和 $AI_w$ 显著降低。因此,比起外部的自然来源,如森林自然溪流和森林土壤淋溶,人类的农业活动可能更显著地增强了流域释放出的DON的不稳定性。此外,在各来源中,农业径流来源的DON含氮分子式数量排第2,暗示来源比外部自然来源内更丰富多样的DON化合物。

在太湖DON的原地自生来源中,藻降解和水草降解通常成为研究的焦点(Zhang et al., 2013a; Zhang et al., 2013b; Xu et al., 2016; Liu et al., 2017)。紫外-可见吸收和三维荧光光谱揭示的藻和水草降解来源的CDOM/CDON的组成差异与前人的研究结果一致,例如光谱斜率 $S_{280-500}$ 、光谱斜率比值 $S_R$ 和 $a(250):a(365)$ 间的差异(Zhang et al., 2013a; Zhang et al., 2013b)。藻降解和水草降解来源的DOM还表现出较高的微生物降解和光漂白反应活性(Zhang et al., 2013a; Zhang et al., 2013b)。本文中,藻降解来源的DON表现出最低的分子质量( $m/z$ )、 $DBE$ 、 $AI_{mod}$ 和最高的平均 $N/C$ 、 $N/C_w$ 以及相对丰度权重下的含氮分子式比例,表明藻降解来源的溶解态有机质中DON的比例和不稳定性较高。此外,相对峰强度权重下的含氮式比例比单纯的含氮分子式数量比例更高,表明这些含氮分子式在FT-ICR MS中峰的强度更高(Mesfioui et al., 2015)。有研究表明,太湖水体溶解态有机质的类色氨酸组分的主要来源是内源自生而非来自周边河流输入(Yao et al., 2011),并且藻类和细菌群落对新产生的DON的吸收速率与DON释放速率甚至相当(Bronk and Glibert, 1993; Bronk et al., 1994)。太湖北部湖区每年夏季和秋季期间氮限制状况加剧(Xu et al., 2010b),因此,可以推断藻自身降解再生的DON可能在支撑和维持藻生长中扮演着重要的角色。

### 3.5.2 稳定难降解DON组分较高的来源

在外部来源中,雨水表现出最高的  $DBE_w$  和  $AI_{mod-w}$ , 表明其稳定难降解组分的比例较高。研究表明,生物培养试验条件下,类木质素分子式相对稳定并保留下来,而类脂质、类蛋白质结构的一大部分(79%–100%)被去除,并有一些其他化合物产生(Mesfioui et al., 2012; Osburn et al., 2016)。本研究中,雨水 DON 表现出最高的类木质素和类芳香结构数量比例,表明其可能较难被浮游植物或细菌群落所利用,生物可利用性较低。

在其他外部来源中,溪流源头和土壤淋溶来源的 DON 也表现出相对较高的  $DBE$  和  $AI_{mod}$ 。Heinz 等(2015)的研究表明作为自然背景参照的森林溪流 DON 组分主要是高分子质量的类腐殖酸组分,暗示外部陆地来源。本研究中森林土壤淋溶来源 DON 中高分子质量(低  $a(250):a(365)$ 和高平均核质比)的类腐殖酸组分同样占了很大比例(荧光组分 C1 的比例和类木质素及稠环芳烃结构的分子式数量均较高)。溪流源头和森林土壤淋溶水中这些陆源类腐殖酸结构组分高度难降解,并且难以被水体中的浮游植物群落吸收利用。

### 3.5.3 太湖DON的潜在重要来源

所调查的 10 种来源共有的含氮分子式数量较少 (< 100), 然而,个别来源中共有的含氮分子式数量较多,例如沉积物间隙水、土壤淋溶水和农业径流拥有 2760 个相同的含氮分子式 (> 20%)。太湖与沉积物间隙水(1545, 99%)、地下水(1528, 98%)、农业径流(1455, 94%)、土壤淋溶水(1162, 75%)、水草降解水(890, 57%)、藻降解水(879, 57%)、生活污水(815, 52%)、溪流(727, 47%)和雨水(452, 29%)共有的含氮分子式的数量依次递减。由于微生物活动和光化学反应等过程的存在,共有的含氮分子式数量不能够定量太湖 DON 各不同来源的贡献,尽管如此,共有的含氮分子式仍能一定程度上提供太湖 DON 某些化合物来源的线索。

虽然外部来源的溪流源头、土壤淋溶、地下水和雨水中的 DON 浓度、含氮分子式数量、 $N/C_w$  以及其他一些组成参数不是很突出,但仍可能是太湖 DON 的重要来源,因为这些来源对太湖的水量输入或与太湖的水交换较高(Kelderman et al., 2005; Qin et al., 2007; Zhao et al., 2012)。Osburn 等(2016)的研究显示,外部来源中的溪流和土壤淋溶是受农业和城市影响的沿海流域内的一个河口水体 DON

的最主要来源。此外，基于 DON 各组分丰度的 PCA 结果表明 97% 的变化可以被 5 个主成分解释，而 62% 的变化可以被前两个主成分 PC1 (35.8%) 和 PC2 (26.3%) 解释；结果还揭示太湖、溪流源头、雨水及土壤淋溶水同时拥有负的 PC1 得分和正的 PC2 得分，暗示这些来源的 DON 组成可能有更多的相似性 (图 3.8)。

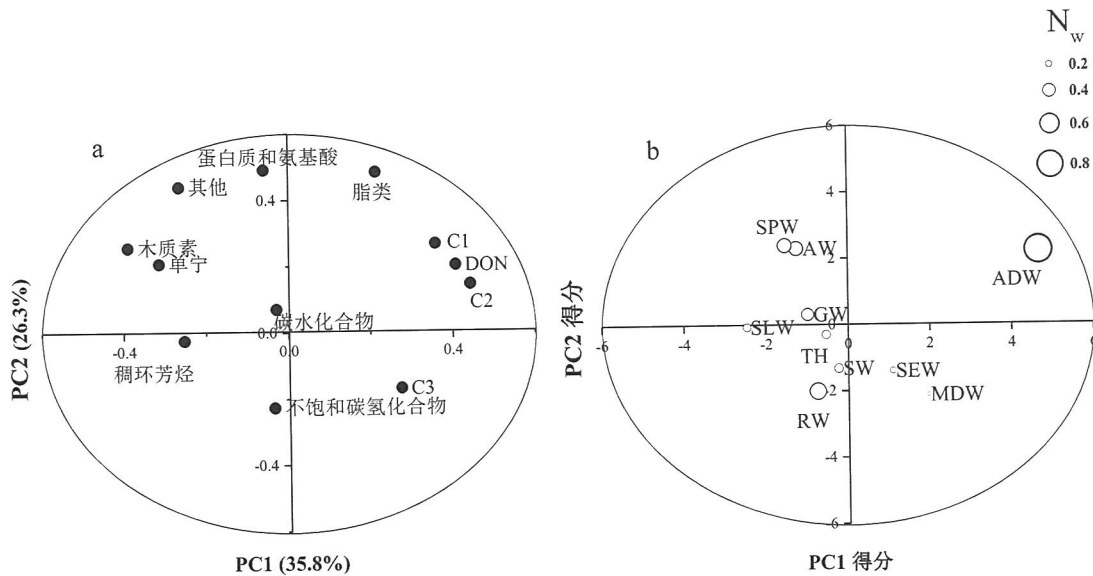


图 3.8 基于 DON 浓度、各 DON 组分的总相对丰度 (FT-ICR MS 信号) 和各荧光组分的丰度的主成分分析 (a: DON 组成各参数的特征向量图; b: 不同来源 DON 的主成分得分图)

**Figure 3.8** Results of the principle component analysis (PCA) performed using the DON concentrations, total relative abundance (signal) of each class of N-containing formulas, and the abundance of each PARAFAC component measured from all sources. (a) an Eigenvector plot of the DON composition parameters that integrating PC1 as the x axis (35.8% variation explained) and PC2 as the y axis (26.3% variation explained); (b) a plot of the PC scores of all sources (the magnitude-weighted nitrogen number for each source is overlaid as a bubble plot).

#### 3.5.4 多方法联合表征DON组成：一致性

应用多种技术手段联合揭示 DON 组成及其来源具有广泛的前景。本研究中，基于 DON 组成各参数间的相关分析表明，DON 浓度与荧光组分 C1 和 C2 的丰度值呈显著正相关 ( $p < 0.01$ )，这是一些其他研究中运用激发发射光谱数据预测 DON 来源的基础 (Osburn et al., 2016; Hounshell et al., 2017)。并且，C1 组分的浓

度与相对丰度权重下的含氮分子式比例 ( $r=0.699, p<0.05$ )、平均 N/C ( $r=0.759, p<0.05$ )、N/C<sub>w</sub> ( $r=0.888, p<0.01$ ) 及相对丰度权重下蛋白质和氨基酸比例 ( $r=0.674, p<0.05$ ) 这些 FT-ICR MS 表征参数呈显著正相关, 而与 C<sub>w</sub> ( $r=-0.633, p<0.05$ ) 显著负相关。类蛋白荧光组分 C2 的浓度与 N/C<sub>w</sub> ( $r=0.708, p<0.05$ ) 和相对丰度权重下蛋白质和氨基酸比例 ( $r=0.718, p<0.05$ ) 显著正相关, 而与 C<sub>w</sub> ( $r=-0.674, p<0.05$ ) 和相对丰度权重下的木质素比例显著负相关 ( $r=-0.659, p<0.05$ )。这些相关进一步表明荧光组分 C1 和 C2 为含氮组分。

相关分析还表明, 溶解态有机质的腐殖化指数 HIX 与稠环芳烃 ( $r=0.866, p<0.01$ ) 和单宁 ( $r=0.878, p<0.05$ ) 的总相对丰度呈显著正相关;  $a(250):a(365)$  与荧光组分 C3 的比例 ( $r=0.681, p<0.05$ )、AI<sub>mod</sub> ( $r=0.751, p<0.05$ )、AI<sub>mod-w</sub> ( $r=0.681, p<0.05$ )、DBE/O ( $r=0.955, p<0.01$ )、不饱和烃的总相对丰度 ( $r=0.989, p<0.01$ ) 以及相对丰度权重下的不饱和烃的比例 ( $r=0.980, p<0.01$ ) 均呈显著正相关, 而与 O/C<sub>w</sub> 显著负相关 ( $r=-0.904, p<0.01$ )。这些结果以及图 3.9 中一些其他的相关关系暗示运用多种技术手段共同揭示 DON 组成这一黑箱的重要性。

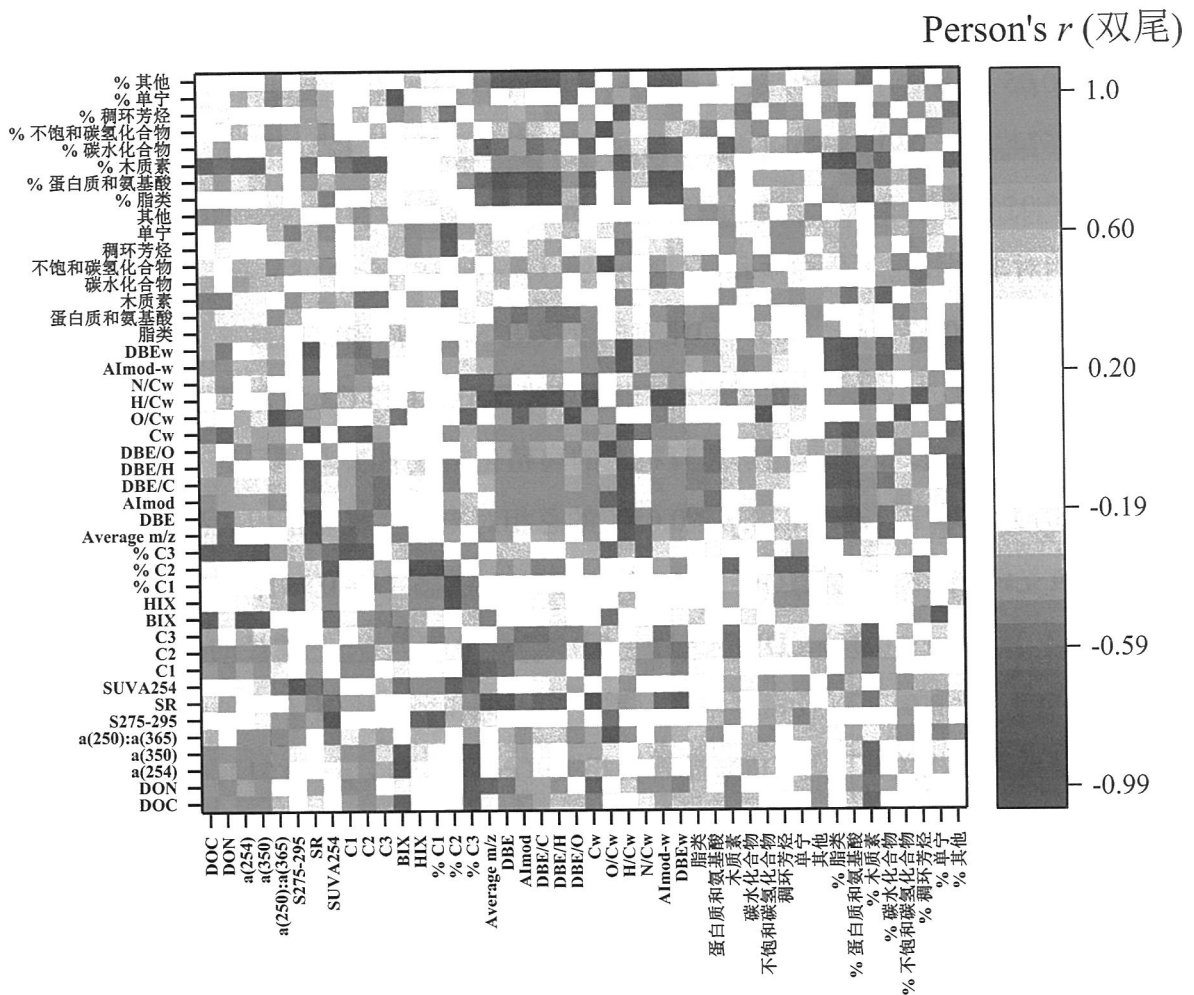


图 3.9 DON 组分各参数间的相关分析 (各简写的说明见附录)

Figure 3.9 Correlation analyses between multiple indicators of the DON composition.

Multiple techniques were applied including UV-Vis, EEMs, and FT-ICR MS.

Abbreviations were explained in appendix of this paper.

### 3.6 结论

对太湖水体典型来源 DON 的组成表征结果表明:

(1) 不同来源水样中鉴定出的 DON 分子式数量呈现显著差异, 但均表现出类木质素/单宁组分的分子式数量最多, 约占含氮分子式总数的 49%–80%。

(2) 内源沉积物间隙水和外部来源中的农业径流、土壤淋溶水和地下水中 DON 分子式种类最为丰富 (> 4000); 在含氮分子式数量占溶解态有机质总分子式数量的比例上, 雨水和藻降解水最高 (> 50%), 草降解水和太湖水较低 (< 35%)。

(3) 受人类影响下的外部来源 (如生活污水和农业径流) 不稳定含氮组分的

分子式数量丰富，而雨水和溪流源头含有更多的稳定难降解的 DON 分子。非点源如农业径流、土壤淋溶、地下水、沉积物间隙水中鉴定出的含氮分子式与太湖水样相同的数量最多，可能是太湖 DON 的重要来源。

(4) 本研究证实人类活动的加剧可能会增加比溪流等自然来源 DON 生物可利用性更高的 DON 向湖泊的输入。



## 第4章 太湖水体DON各来源贡献权重定量

### 4.1 引言

本文绪论提到, DON 可通过原地自生或外部输入的众多来源进入湖泊水体进而推动湖泊的富营养化进程。在 DON 组成表征基础上, 追踪湖泊 DON 的外部来源并定量各来源的权重将对估算进入湖泊中的氮负荷、实现 DON 的排放控制等具有十分重要的现实意义(Osburn et al., 2016)。尽管来源十分复杂, 并且存在众多的生物或非生物转化过程, 湖泊中的 DON 仍能通过一定的技术手段来估算各来源的贡献。例如, 稳定同位素自然丰度 ( $\delta^{13}\text{C}$  和  $\delta^{15}\text{N}$ ) 和荧光光谱数据结合模型分析是两种常用来估算 DOM 或 DON 各不同来源相对权重的手段(Osburn et al., 2016; Derrien et al., 2018)。

自然界中不同来源有机质混合及不同来源条件下的物理、化学和生物过程差异能够导致同位素比值(如  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  和  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) 改变, 因而稳定同位素自然丰度 ( $\delta^{13}\text{C}$  和  $\delta^{15}\text{N}$ ) 是追踪有机质来源和迁移的强大手段(Toming et al., 2013)。海洋浮游植物典型的同位素  $\delta^{13}\text{C}$  和  $\delta^{15}\text{N}$  组成范围分别为  $-22\text{‰} \sim -19.1\text{‰}$  (Gearing et al., 1984)和  $3.0\text{‰} \sim 12.0\text{‰}$  (Wada and Hattori 1991); 而淡水浮游植物同位素  $\delta^{13}\text{C}$  和  $\delta^{15}\text{N}$  特征分别为  $-35.0\text{‰} \sim -25.0\text{‰}$  (Boutton 1991)和  $\sim 5\text{‰}$  (Wada and Hattori 1991)。整体上, 与海源溶解态有机质相比, 陆源溶解态有机质的  $\delta^{13}\text{C}$  和  $\delta^{15}\text{N}$  几乎耗尽(Vizzini et al., 2005)。外源 DOM 贫化的  $\delta^{13}\text{C}$  通常在  $-29\text{‰}$ 至  $-26\text{‰}$ 之间, 而内源 DOM 其变幅为  $-24\text{‰}$ 至  $-20\text{‰}$ (Hood et al., 2009; Spencer et al., 2014)。DOM 的  $\delta^{15}\text{N}$  值可以提供关于水体 DON 的来源和循环机制的进一步信息, 因为在产生、转化和降解途径中存在明显的同位素分馏和富集过程(Knapp et al., 2018; Ye et al., 2018)。例如, 外源居民生活废水及农田施肥废水 DOM 通常带有  $\delta^{15}\text{N}$  高值, 约为  $10\text{‰}$ 至  $20\text{‰}$ , 而内源型 DOM 其变幅为  $-5\text{‰}$ 至  $5\text{‰}$ (Vizzini et al., 2005)。

通过有机物的荧光特性能够追踪 DOM 或 DON 的来源(Derrien et al., 2017)。过滤后水样的荧光特性相对容易测定并且信息丰富, 可以使用多元分析技术手段进行评价, 特别是平行因子分析(Osburn et al., 2016)。EEM-PARAFAC 模型能客观和准确的解译 CDOM 荧光组成结构的相对丰度及变化情况(Stedmon et al., 2003; Ishii and Boyer, 2012; Murphy et al., 2013)。此外, 许多光学指标可以来自

EEM-PARAFAC 模型结果, 如荧光指数 (Fluorescence Index, FI) (Mcknight et al., 2001; Cory and McKnight, 2005) 及第 3 章中涉及的 HIX、BIX 等, 这些指标的来源识别能力已经在许多水生生态系统中被测试 (Derrien et al., 2017)。然而, 仅通过这些光学指标较难对水体 DOM 或 DON 的各来源相对贡献进行定量, 需结合一定算法或模型, 如末端成员混合分析 (EMMA)、MIXSIAR 模型等, 并且往往需要筛选最合适的模型参数 (来源表征指标) (Hur et al., 2006; Derrien et al., 2018)。

本章旨在通过对太湖湖区及各来源水样 DON 的光学特性和稳定碳氮同位素自然丰度 ( $\delta^{13}\text{C}$  和  $\delta^{15}\text{N}$ ) 测定, 获得两种不同表征手段下的数据集, 进而运用这两个数据集联合定量评价太湖水体 DON 各不同来源的贡献, 研究结果可能揭示太湖水体 DON 相对重要的来源过程并对未来 DON 的排放控制具有一定的指导意义。

## 4.2 材料与方法

### 4.2.1 样品采集

依托中国科学院太湖湖泊生态系统研究站常规采样于 2016 年 11 月、2017 年 2 月、2017 年 5 月、2017 年 8 月采集太湖湖区 32 个常规样点水样, 样点分布与章节 2.2.1 中的相同。同时, 采集 2016 年 11 月太湖环湖河道 51 个样点的水样, 采样点位置与 Zhou 等 (2018) 报导的一致。样品采集时使用有机玻璃采水器 (UWITEC, 澳大利亚) 采集表层 0.5 m 处水样于 1 L 酸洗 (10% HCl) 后的高密度聚乙烯塑料桶中, 样品装于放有冰袋的保温箱中, 当天带回实验室过滤。

对 2016 年 11 月太湖湖区和河道样品测定了稳定碳氮同位素  $\delta^{15}\text{N}$  与  $\delta^{13}\text{C}$  自然丰度, 对太湖湖区各季节 (2016 年 11 月、2017 年 2 月、2017 年 5 月、2017 年 8 月) 样品分析了 CDOM/CDON 的光谱特性。

本章节涉及的太湖水体 DON 各不同来源样品与第 3 章中相同, 在测定其紫外-可见吸收和三维荧光光谱特性基础上, 还测定了其稳定碳氮同位素  $\delta^{15}\text{N}$  与  $\delta^{13}\text{C}$  自然丰度。

### 4.2.2 样品分析

#### 4.2.2.1 样品预处理

采集的样品先经 0.7  $\mu\text{m}$  GF/F 膜 (Whatman<sup>®</sup>, GE Healthcare, USA, 预先在

马弗炉 450°C 灼烧 2 h) 过滤, 部分滤后样品 (约 500 mL) 用于水样的稳定同位素  $\delta^{15}\text{N}$  与  $\delta^{13}\text{C}$  自然丰度测定。部分 GF/F 膜滤后样品 (约 100 mL) 经 0.22  $\mu\text{m}$  纤维素滤膜 (MilliporeSigma, Darmstadt, Germany) 再次过滤, 用于紫外-可见吸收光谱、三维荧光光谱测定。

#### 4.2.2.2 紫外-可见吸收光谱、三维荧光光谱测定

各季节太湖湖区样品的紫外-可见吸收光谱、三维荧光光谱测定方法及各表征参数的计算见章节 3.2.3 和 3.2.4。

#### 4.2.2.3 稳定碳氮同位素比值测定

样品稳定碳氮同位素  $\delta^{15}\text{N}$  与  $\delta^{13}\text{C}$  自然丰度测定时, 先将水样转入系列玻璃烧杯 (10% HCl 酸洗后去离子水洗净) 中, 滴入 2 mol L<sup>-1</sup> 盐酸至 pH = 2 以排除溶解态无机碳对  $\delta^{13}\text{C}$ -DOM 测定的干扰, 之后在 55  $\pm$  5°C 烘箱中将水样低温烘干至恒重 (三天左右), 将烧杯底部的溶解态有机物固体用薄刀片刮下, 用铝箔包裹保存于干燥器中。

样品测定时先使用 FlashEA<sup>®</sup> 1112 HT 碳氮元素分析仪 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) 将样品充分燃烧, 随后使用 Finnigan MAT Delta<sup>plus</sup> 双向连续流同位素比质谱仪 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) 测定样品稳定碳氮同位素比值 ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  和  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ )。碳和氮同位素的分析精度 < 0.1%。测定时使用国际通用的维也纳 Pee Dee Belemnite (VPDB) 标准品校准比率  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  和  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  对最终测定的稳定性同位素比值进行校正。

#### 4.2.2.4 稳定同位素分馏值计算

使用下式计算稳定同位素分馏值:

$$\delta A = [(R_{\text{sample}} - R_{\text{standard}}) / R_{\text{standard}}] \times 10^3 (\text{‰}) \quad (1)$$

式中,  $\delta A$  代表  $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ ,  $R_{\text{sample}}$  表示所测定样品的同位素比值 (即  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ),  $R_{\text{standard}}$  表示国际通用同位素标准物的同位素比值。

### 4.3 统计分析

太湖 DON 不同来源的权重使用稳定同位素混合模型 MixSIAR 软件 (3.1 版本) 基于稳定碳氮同位素自然丰度数据获得, 具体操作方法见 Stock 和 Semmens(2016)。基于三位荧光数据的太湖水体 DON 各来源权重判别同样可以使用 MixSIAR 软件进行。例如, 所有来源样品和太湖湖区样品均使用 PARAFAC

模型得到各荧光组分的丰度以及 HIX、BIX 后, 有学者利用与内源自生相关的荧光参数 C2%、C2/C1 和与外部来源相关的荧光参数 C3/C1、HIX 作为来源判别指标带入 Isosource 模型 (与 MixSIAR 模型类似) 得到各来源的贡献(Derrien et al., 2018)。各来源水样 CDOM/CDON 的 PARAFAC 荧光组分相对丰度与 DON 浓度显著正相关时 ( $p < 0.05$ ), 可用 EEM-PARAFAC 数据结合模型预测 DON 的来源 (Osburn et al., 2016)。

## 4.4 结果

### 4.4.1 太湖水体及典型来源水样各荧光组分丰度

平行因子分析得到的 CDOM/CDON 三个主要荧光组分与章节 3.4.3 中相同 (图 3.3): C1 为典型的陆源腐殖酸组分; C2 为内源类色氨酸和类酪氨酸组分结合的一类蛋白组分; C3 为微生物源腐殖酸组分。三个荧光组分在太湖湖区中的丰度分布如图 4.1 所示。

2016 年 11 月至 2017 年 8 月间太湖陆源腐殖酸组分 C1 相对丰度变化范围为 0.21–1.13 R.U., 均值为  $0.47 \pm 0.17$  R.U.; 类蛋白组分 C2 相对丰度变化范围为 0.38–6.40 R.U., 均值为  $2.40 \pm 1.15$  R.U.; 微生物源腐殖酸组分 C3 相对丰度变化范围为 0–3.36 R.U., 均值为  $0.75 \pm 0.45$  R.U.。CDOM/CDON 中 C1% 变化范围为 25%–96%, 均值为  $64 \pm 14\%$ ; C2% 变化范围为 0%–43%, 均值为  $21 \pm 9\%$ ; C3% 变化范围为 3%–35%, 均值为  $14 \pm 6\%$ 。太湖陆源腐殖酸组分 C1 和微生物源腐殖酸组分 C3 整体上各季节均表现出西北高东南低的趋势, 而蛋白组分 C2 表现出秋冬季西南高东北低, 而春夏季西北高东南低的趋势 (图 4.1)。

各来源水样的三个荧光组分中 (详见章节 3.4.3), 陆源腐殖酸 C1% 变化范围为 5.35%–70.30%, 趋势为土壤淋溶 > 农业径流 > 藻降解 > 溪流源头水 > 沉积物间隙水 > 地下水 > 生活污水 > 雨水 > 水草降解; C2% 变化范围为 18.47%–78.39%, 趋势为水草降解 > 生活污水 > 沉积物间隙水 > 藻降解 > 地下水 > 雨水 > 溪流源头水 > 农业径流 > 土壤淋溶水; C3% 变化范围为 2.20%–30.95%, 趋势为雨水 > 生活污水 > 溪流源头水 > 地下水 > 水草降解 > 农业径流 > 沉积物间隙水 > 土壤淋溶 > 藻降解。

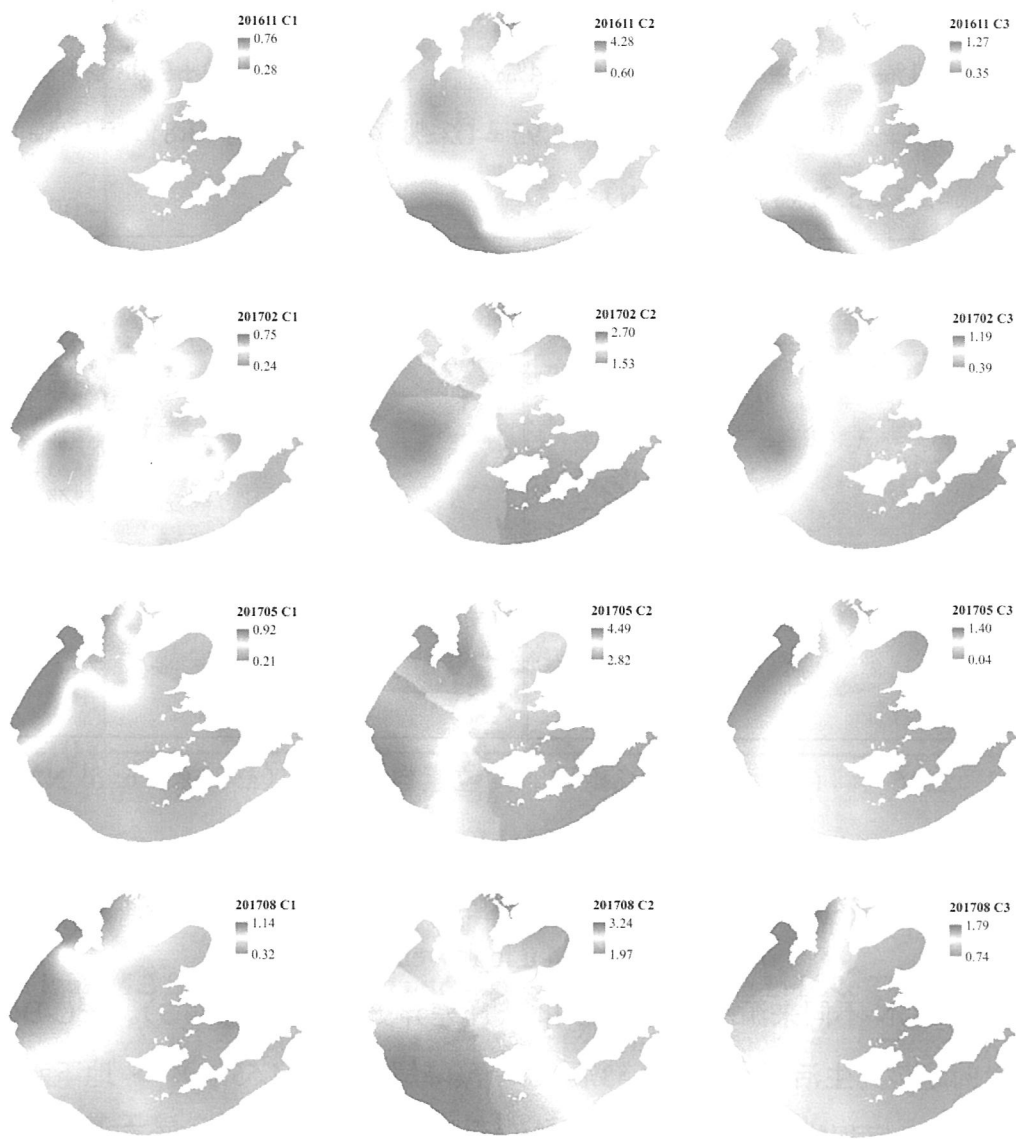


图 4.1 2016 年 11 月至 2017 年 8 月各季节太湖溶解态有机质荧光组分 C1-C3 时空分布

Figure 4.1 Temporal and spatial distribution of the fluorescent components C1-C3 of dissolved organic matter in Lake Taihu

#### 4.4.2 太湖水体及典型来源水样稳定碳氮同位素自然丰度

2016 年 11 月太湖水样  $\delta^{13}\text{C}$  变幅较小, 为  $-27.47\text{‰} \sim -25.18\text{‰}$ , 均值为  $-26.20 \pm 0.43\text{‰}$ , 表现出显著的陆源输入特征。空间上, 各湖区表现出的趋势为贡湖湾 ( $-25.95 \pm 0.02\text{‰}$ ) > 西南沿岸 ( $-26.10 \pm 0.32\text{‰}$ ) > 胥口湾 ( $-26.16 \pm 0.14\text{‰}$ ) > 开敞湖区 ( $-26.20 \pm 0.25\text{‰}$ ) > 梅梁湾 ( $-26.21 \pm 0.75\text{‰}$ ) > 东太湖湾 ( $-26.22 \pm 0.04\text{‰}$ ) > 竺山湾 ( $-26.65 \pm 0.04\text{‰}$ ) (图 4.2 a)。 $\delta^{15}\text{N}$  变幅较

大, 为 $-0.82\text{‰} \sim 13.78\text{‰}$ , 均值为 $6.58 \pm 3.24\text{‰}$ , 空间上表现出的趋势为梅梁湾 ( $8.92 \pm 2.51\text{‰}$ ) > 竺山湾 ( $8.38 \pm 0.64\text{‰}$ ) > 西南沿岸 ( $7.09 \pm 2.08\text{‰}$ ) > 开敞湖区 ( $5.57 \pm 2.48\text{‰}$ ) > 东太湖湾 ( $4.95 \pm 1.22\text{‰}$ ) > 贡湖湾 ( $4.81 \pm 0.08\text{‰}$ ) > 胥口湾 ( $4.65 \pm 5.51\text{‰}$ ) (图 4.2 b)。

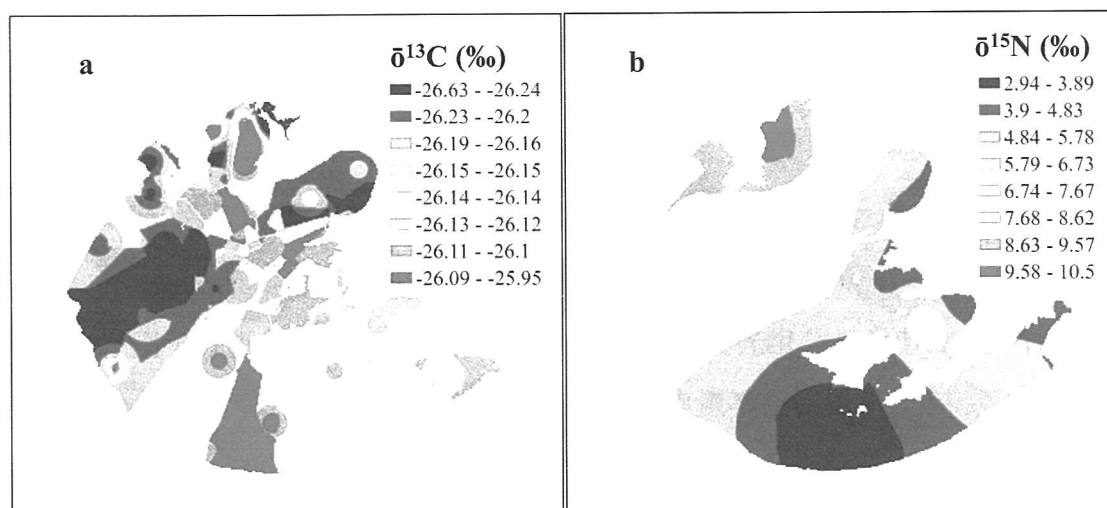


图 4.2 2016 年 11 月太湖湖区稳定碳氮同位素自然丰度 (a:  $\delta^{13}\text{C}$ ; b:  $\delta^{15}\text{N}$ ) 的空间分布

Figure 4.2 Spatial distribution of stable carbon and nitrogen isotopes (a:  $\delta^{13}\text{C}$ ; b:  $\delta^{15}\text{N}$ ) in Lake Taihu in November 2016

太湖 DON 不同来源水样的  $\delta^{13}\text{C}$  和  $\delta^{15}\text{N}$  差异更为显著 (图 4.3)。  $\delta^{13}\text{C}$ -DOM 表现出的趋势为生活污水 ( $-19.53\text{‰}$ ) > 藻降解水 ( $-24.55\text{‰}$ ) > 地下水 ( $-24.70\text{‰}$ ) > 沉积物间隙水 ( $-25.91\text{‰}$ ) > 溪流源头水 ( $-26.46\text{‰}$ ) > 土壤淋溶 ( $-26.72\text{‰}$ ) > 养殖废水 (鸡、鱼) ( $-27.17\text{‰}$ ) > 纺织废水 ( $-28.76\text{‰}$ ) > 农业径流 ( $-31.21\text{‰}$ ) > 水草降解 ( $-39.17\text{‰}$ )。  $\delta^{15}\text{N}$  表现出的趋势为地下水 ( $28.09\text{‰}$ ) > 藻降解水 ( $24.86\text{‰}$ ) > 水草降解水 ( $13.07\text{‰}$ ) > 沉积物间隙水 ( $12.09\text{‰}$ ) > 生活污水 ( $8.85\text{‰}$ ) > 溪流源头水 ( $7.23\text{‰}$ ) > 养殖废水 (鸡、鱼) ( $2.71\text{‰}$ ) > 农业径流 ( $0.37\text{‰}$ ) > 土壤淋溶 ( $-0.44\text{‰}$ ) > 纺织废水 ( $-4.95\text{‰}$ )。

2016 年 11 月太湖环湖 51 个河道样点水样  $\delta^{13}\text{C}$  变幅为 $-27.93\text{‰} \sim -23.88\text{‰}$ , 均值为 $-26.27 \pm 0.68\text{‰}$ , 与太湖湖区均值非常接近 (图 4.3), 表现出显著的陆源输入特征。  $\delta^{15}\text{N}$  变幅较大, 为 $-0.77\text{‰} \sim -14.98\text{‰}$ , 均值为 $8.06 \pm 2.55\text{‰}$ , 略高于太湖水体  $\delta^{15}\text{N}$  均值。

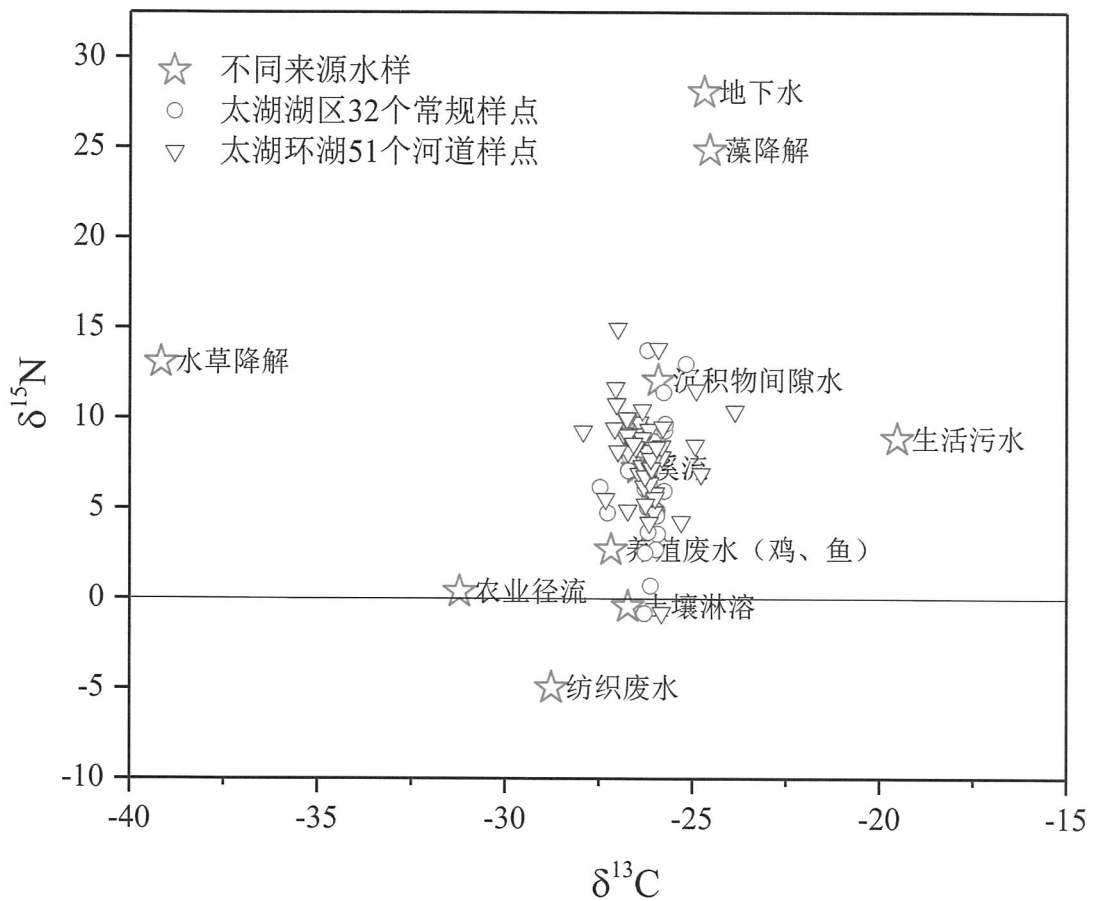


图 4.3 太湖湖区、环湖河道及典型不同来源水样的稳定碳氮同位素丰度

Figure 4.3 Stable carbon and nitrogen isotope abundance in Lake Taihu and its adjacent rivers as well as from typical sources

#### 4.4.3 基于稳定同位素的太湖水体 DON 各来源权重判别

基于 2016 年 11 月稳定同位素数据 ( $\delta^{13}\text{C}$  和  $\delta^{15}\text{N}$ ) 的 MixSIAR 混合模型分析显示 (假设各来源水样的  $\delta^{13}\text{C}$  和  $\delta^{15}\text{N}$  值不随点位发生变化) (图 4.4), 太湖水体 DON 不同来源里土壤淋溶水权重最高 ( $22.4 \pm 18.5\%$ ), 其次为溪流源头水 ( $15.4 \pm 13.4\%$ )、沉积物间隙水 ( $13.5 \pm 11.5\%$ )、农业径流水 ( $12.8 \pm 11.4\%$ )、藻降解水 ( $11.2 \pm 9.6\%$ ) 和地下水 ( $10.5 \pm 9.7\%$ ), 生活污水 ( $7.9 \pm 7.5\%$ ) 和水草降解 ( $6.2 \pm 6\%$ ) 最低。各不同来源对太湖 DON 的贡献不同湖区之间差异不显著。

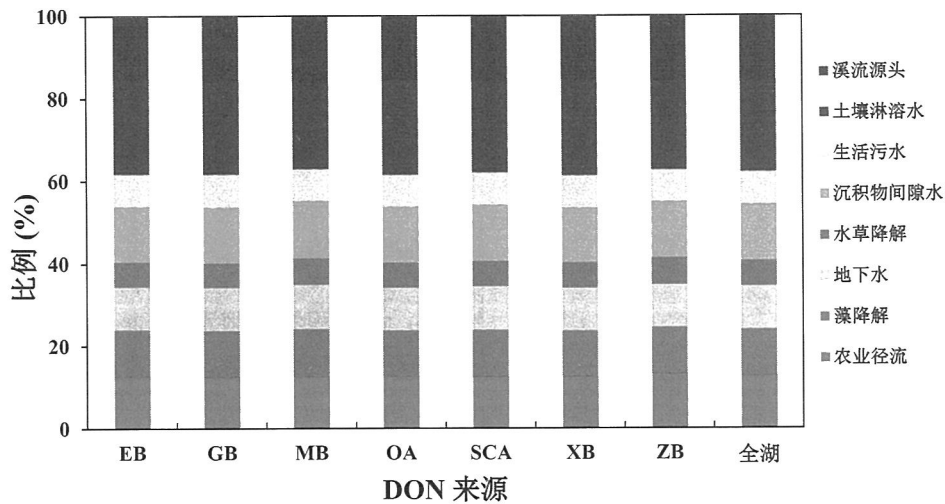


图 4.4 太湖全湖及各湖区 DON 不同来源权重 (EB: 东太湖湾; GB: 贡湖湾; MB: 梅梁湾; OA: 开敞湖区; SCA: 西南沿岸; XB: 胥口湾; ZB: 竹山湾)

**Figure 4.4** Contributions of DON from typical sources to Lake Taihu. The lake area is divided into seven subregions: Zhushan Bay (ZB), Meiliang Bay (MB), Gonghu Bay (GB), Xukou Bay (XB), East Taihu Bay (EB), the open area (OA), and the southwestern coastal area (SCA).

#### 4.4.4 基于光谱的太湖水体DON来源解析

通过水体 DON 浓度与紫外-可见吸收光谱各参数的相关分析发现, 全年的 DON 浓度 ( $n = 127$ ) 与 CDOM 的光谱斜率比值  $S_R$  相关性最好 ( $p < 0.01$ ) (表 4.1 和图 4.5 a), 并且各季节的水体 DON 浓度 ( $n = 31$  或 32) 均与  $S_R$  呈显著负相关 ( $p < 0.01$ ) (表 4.1)。而其他吸收光谱参数如  $a(250):a(365)$ 、 $S_{275-295}$  和  $SUVA_{254}$  仅在某些季节与 DON 浓度具有显著相关性 (表 4.1)。

2016 年 11 月至 2017 年 8 月各季节,  $S_R$  在秋季和冬季较低 (均值为 1.15), 春季开始升高 (均值为 1.18), 夏季最高 (均值为 1.27) (图 4.5 b)。在章节 3.4.2 中提到, 各来源水样  $S_R$  (变化范围 0.58–1.65) 表现出的趋势为藻降解 > 沉积物间隙水 > 生活污水 > 水草降解 > 土壤淋溶 > 溪流源头水 > 地下水 > 农业径流 (图 3.1 d)。因而秋冬季节, 水体 DOM 较低的光谱斜率  $S_R$  可能主要受到农业径流、地下水、溪流、土壤淋溶等外部陆源的影响, 导致 DON 浓度较高。这与同位素模型的预测结果 (2016 年 11 月数据) 较为吻合。而到了春季尤其是

夏季，水体 CDOM 较高的光谱斜率  $S_R$  则可能主要受到藻吸收降解、沉积物间隙水等湖泊内源的影响（假设各来源水样的  $S_R$  不随季节变化），DON 浓度较低。

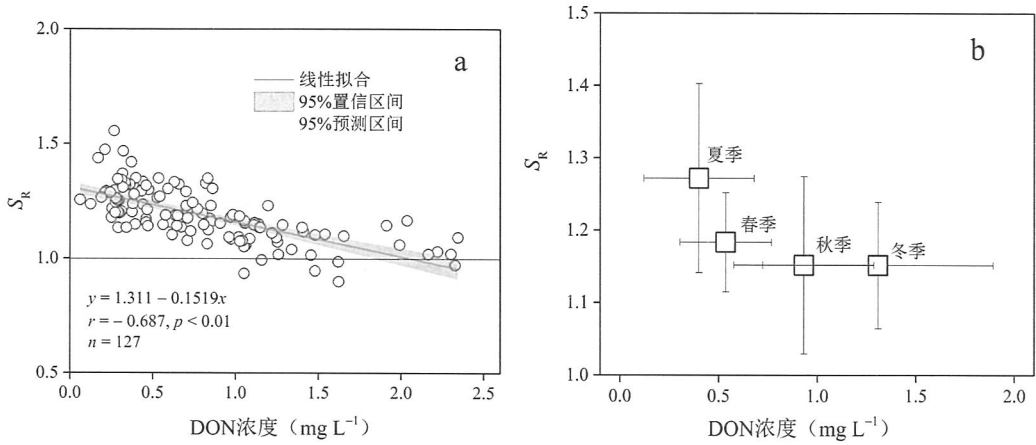


图 4.5 DON 浓度与光谱斜率比值  $S_R$  的相关和回归分析 (a: 各采样点数据; b: 季节均值数据)

Figure 4.5 Correlation analysis and linear fitting between the concentrations of DON and  $S_R$  (a: data at each sampling site; b: season-averaged data)

表 4.1 太湖水体 DON 浓度与紫外-可见吸收光谱参数的相关分析 (Pearson 双尾显著性检验)

Table 4.1 Correlation analyses between the concentrations of DON and UV-Vis parameters of CDOM (Pearson Sig. (2-tailed))

采样时间	参数	$a(250):a(365)$	$S_{275-295}$	$S_R$	$SUVA_{254}$
2016 年 11 月 ( $n = 32$ )	DON	-0.874**	-0.909**	-0.889**	0.882**
	DON/TDN	0.461**	0.491**	0.570**	-0.429*
2017 年 2 月 ( $n = 31$ )	DON	-0.794**	-0.865**	-0.805**	0.239
	DON/TDN	0.644**	0.679**	0.713**	-0.168
2017 年 5 月 ( $n = 32$ )	DON	0.153	0.027	-0.475**	0.313
	DON/TDN	0.454**	0.467**	0.109	-0.297
2017 年 8 月 ( $n = 32$ )	DON	-0.688**	-0.841**	-0.695**	0.883**
	DON/TDN	0.088	0.216	0.407*	-0.232
全年 ( $n = 127$ )	DON	-0.196*	-0.489**	-0.687**	0.625**
	DON/TDN	0.243**	0.264**	0.077	0.443**

\*显著相关 ( $p < 0.05$ )

\*\*极显著相关 ( $p < 0.01$ )

通过对太湖水体 DON 浓度与 CDOM/CDON 三维荧光光谱各参数的间相关

分析发现 (表 4.2), 冬季 (2017 年 2 月) 水体 DON 浓度与各荧光组分相对丰度 (C1-C3) 均存在显著的正相关关系 ( $p < 0.01$ ); 而夏季和秋季, DON 浓度仅与陆源腐殖酸组分 C1 和微生物源腐殖酸组分 C3 的相对丰度存在显著正相关关系; 春季藻华开始生长期间, DON 浓度与各荧光组分的相对丰度均不相关。此外, 值得注意的是, 夏秋季节蓝藻暴发期间 DON 浓度与类蛋白组分的比例 C2% 呈显著负相关。全年数据还表明 DON 占 TDN 比例 (DON/TDN) 与各荧光组分丰度呈显著负相关 ( $p < 0.01$ )。这些相关分析证实对太湖 DON 来源的预测需考虑季节因素。

表 4.2 太湖水体 DON 浓度与三维荧光光谱参数的相关分析 (Pearson 双尾显著性检验)

Table 4.2 Correlation analyses between the concentrations of DON and EEM-PARAFAC parameters of CDOM

	参数	C1	C2	C3	C1%	C2%	C3%	BIX	HIX
2016 年 11 月 ( $n = 32$ )	DON	0.808**	0.028	0.688**	0.378*	-0.508**	0.579**	-0.273	0.440*
	DON/TDN	-0.589**	0.174	-0.286	-0.463**	0.482**	-0.449*	0.375*	-0.472**
2017 年 2 月 ( $n = 31$ )	DON	0.719**	0.573**	0.815**	-0.377*	0.105	0.171	0.485**	-0.174
	DON/TDN	-0.805**	-0.255	-0.539**	0.146	-0.036	-0.074	-0.185	0.075
2017 年 5 月 ( $n = 32$ )	DON	0.183	-0.211	0.236	0.136	-0.259	0.243	-0.225	0.404*
	DON/TDN	-0.300	-0.223	-0.450**	-0.040	0.326	-0.355*	-0.164	-0.210
2017 年 8 月 ( $n = 32$ )	DON	0.673**	0.029	0.805**	0.172	-0.463**	0.631**	-0.220	0.304
	DON/TDN	-0.429*	0.371*	-0.214	-0.545**	0.546**	-0.480**	0.539**	-0.540**
全年 ( $n = 127$ )	DON	0.110	-0.233**	0.188*	0.164	-0.272**	0.309**	0.056	0.200*
	DON/TDN	-0.450**	-0.283**	-0.381**	0.027	0.056	-0.103	0.042	-0.110

\*显著相关 ( $p < 0.05$ )

\*\*极显著相关 ( $p < 0.01$ )

由于 DON 浓度与冬季 2 月份水体 CDOM 各荧光组分丰度相关性最好, 故采用该季节各湖区以及各来源水样的荧光光谱数据结合 MixSIAR 模型对太湖水体 DON 进行溯源。经过多次尝试, 基于三维荧光光谱数据的 MixSIAR 混合模型分析结果随模型输入参数的变化差异较大, 并且与同位素结果差异也较大 (数据结果未显示), 表明运用三维荧光数据预测各来源贡献存在一定难度, 包括合适

的参数筛选等困难。Derrien 等(2018)首次运用三维荧光数据和 Isosource 软件的末端成员混合分析 (EMMA) 算法 (与 MixSIAR 模型类似) 预测了沉积物有机质各不同来源的相对贡献, 并将结果与同位素预测结果进行了比较, 同样发现差异巨大, 并指出同位素的预测结果更为准确。

#### 4.5 讨论

研究表明, 陆源与内源生物作用下 DOM 的稳定性碳同位素自然丰度  $\delta^{13}\text{C}$  范围分别为  $-29\text{‰} \sim -26\text{‰}$  和  $-23\text{‰} \sim -20\text{‰}$  (Zeng et al., 2008; Hood et al., 2009), 2016 年 11 月太湖水体  $\delta^{13}\text{C}$ -DOM 变幅为  $-27.47\text{‰} \sim -25.18\text{‰}$ , 均值为  $-26.20\text{‰}$ , 因而表现出显著的陆源输入特征。太湖 11 月份  $\delta^{13}\text{C}$ -DOM 范围和均值与爱沙尼亚大型浅水富营养化湖泊 Vörtsjärv 湖 ( $-28.4\text{‰} \sim -26.1\text{‰}$ , 均值为  $-27.2\text{‰}$ ) 接近, 该湖 DOM 外部来源占的比例达 68%–81%。针对本章节所调查的各来源来说, 太湖 DON 外部来源比例高达 82.6%, 自生来源的藻和水草降解仅占 17.4%, 较高的外部来源权重说明即使在太湖这样高度生产力的湖泊, 不稳定的自生 DOM 可能被快速利用和降解, 因而对湖泊内部 DOM 库的贡献较小 (Toming et al., 2013)。

稳定同位素混合模型结果证实非点源如土壤淋溶水、溪流源头水、沉积物间隙水、农业径流水等是太湖水体 DON 的主要来源。在章节 3.5.3 中, 基于 DON 各组分丰度的 PCA 结果还揭示太湖 DON 组成与溪流源头水、雨水、土壤淋溶水来源的 DON 可能有更多的相似性。这与罗专溪等(2010)的论述一致, 即在淡水水体中, 大部分 DON 来自陆地径流、植物碎屑、土壤淋溶液及沉积物释放。Zehr 等(1988)对美国加州中度富营养化湖泊 Castle 湖 DON 浓度动态特征的研究发现, DON 的最主要来源可能是沉积物释放, 而非浮游植物、浮游动物的释放。Osburn 等(2016)的基于三维荧光光谱数据研究了受农业和城市影响的沿海流域河口水体 DON 的来源, 其结果证实外部来源中的溪流和土壤淋溶是 DON 的最主要来源。

太湖河道水体比湖区水体  $\delta^{15}\text{N}$  均值更高, 暗示河道水体 DON 更多来自于外源居民生活废水及农田施肥废水 (Vizzini et al., 2005)。利用氮同位素进行物质的来源区分比较局限, 因为氮库存在非常复杂的生物地球化学循环并且氮库中涉及了众多的氮素形态 (无机和有机态) (Bianchi and Canuel, 2011)。然而, 稳定碳氮

同位素的联合使用 ( $\delta^{13}\text{C}$  和  $\delta^{15}\text{N}$ ) 能够有效地对有机质进行来源追踪和识别(Gao et al., 2012; Derrien et al., 2018)。

CDOM 的光学性质提供了 DOM 来源识别、组分及反应活性鉴定等实用的手段, 并且三位荧光光谱与平行因子分析结合已被广泛应用于各种各样的水生生态系统中来鉴别陆源、海源和人为来源的 CDOM 组分。然而, CDOM 仅构成了溶解态有机质的一部分, 并且水生生态系统中的荧光特性并不是普遍的(Stubbins et al., 2014), 因而运用三维荧光光谱数据追踪溶解态有机质来源也具有一定的局限性。目前, 特定化合物同位素分析 (Compound-Specific Isotope Analysis, CSIA) 通过测定特定有机化合物 (蛋白质、碳水化合物、木质素、木质素氧化产物等) 中某元素 (如 C、N) 的自然发生稳定同位素比值 (如  $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta\text{D}$ ) 及放射同位素比值 (如  $\Delta^{14}\text{C}$ ) 来更准确地追踪和理解有机质来源, 展现出广泛的应用前景。未来需要在溶解态有机质整体  $\delta^{13}\text{C}$  和  $\delta^{15}\text{N}$  测定的基础上, 结合 CSIA 方法, 深入理解有机质的来源。

#### 4.6 结论

运用稳定碳氮同位素和三维荧光光谱方法对 DON 来源判别的结果表明:

(1) 基于稳定碳氮同位素自然丰度 ( $\delta^{13}\text{C}$  和  $\delta^{15}\text{N}$ ) 的 MixSIAR 同位素混合模型分析证实, 一些非点源如土壤淋溶、自然溪流、沉积物间隙水、农业径流等对太湖 DON 的贡献权重较高, 而生活污水和水草降解对太湖 DON 的贡献较低。因此, 外部非点源和沉积物间隙水是 2016 年秋季太湖 DON 的主要来源。

(2) 光谱数据结果表明, DON 在冬季主要受外源输入影响, 而夏季可能主要受到内源过程的影响, 因而 DON 来源预测还需考虑季节因素。

## 第5章 太湖水体DON的再悬浮沉积物光溶解来源

### 5.1 引言

沉积物是水生生态系统中营养盐和污染物的重要存储库。自然和人为驱动因素如风浪、捕鱼作业、疏浚等会造成沉积物的再悬浮,使其在 DOM 或 DON 的来源转化过程中扮演重要角色(Hu et al., 2016)。尤其在太湖这样的大型浅水湖泊,风浪等物理过程容易引起湖底沉积物的再悬浮。在外部污染来源得到有效控制的情况下,太湖沉积物内源营养盐释放过程开始引起较多的关注(张路 等,2001;朱广伟 等,2005;钟继承 等,2009)。相比于太湖的外源污染,内源污染更加复杂并且难以控制(Qin et al., 2019)。

在水体 DON 原地自生来源的关键过程中,浮游藻类释放以及细菌介导的生物降解过程在过去几十年受到广泛关注(Bronk et al., 1994; Mccarthy et al., 1998)。除了生物过程,光照诱导下颗粒态有机质(Particle Organic Matter, POM)向溶解态转化的过程,即光溶解过程,是 DOM 或 DON 的另一个重要来源途径(Riggsbee et al., 2008; 何伟 等, 2016)。然而,这一过程并没有受到足够的关注。近年来的研究表明,再悬浮沉积物来源的 POM 在模拟的自然光暴露下会产生大量的 DOM(Mayer et al., 2006; Mayer et al., 2011)。研究还进一步表明腐殖质在有机碳的光溶解中起重要作用,无论是从上游(如陆源腐殖质)输入的还是在沉积环境中产生的(Hu et al., 2016)。水体颗粒物释放的 DOM 中易降解组分可达 50%(Butman et al., 2007),因而光照诱导的 POM 溶解有潜力提供足够的 DOM 来影响关键的生态系统生物地球化学过程(Shank et al., 2011)。此外, POM 的光溶解最有可能影响浅水湖泊生态系统的生物地球化学,这些系统接收充足的阳光,并且颗粒物负荷很高或者颗粒物再悬浮事件频繁发生。因此,太湖中 POM 或 PON 的光溶解过程可能为水体提供了大量生物可利用的 DOM 或 DON。

目前,鲜有研究涉及再悬浮沉积物来源的 PON 到 DON 的光溶解过程并从分子水平揭示这一过程的转化机制。深入了解 POM-DOM 转化机制对于揭示营养盐内源关键过程、控制水体污染物具有重大的现实意义(Yang et al., 2014)。本章节通过对自然光辐射影响下太湖沉积物再悬浮来源的 PON 向溶解态转变的室外模拟研究,深入揭示 DON 内源来源关键过程之一的再悬浮沉积物光溶解来源。

## 5.2 材料与方法

### 5.2.1 样品采集

2016年8月4日傍晚于中国科学院太湖湖泊生态系统研究站栈桥(120.23691 E°, 31.50825 N°)使用彼得森(Peterson)采泥器采集表层沉积物(0–10 cm)。样品装入塑料自封袋(Ziploc)中,当天带回南京湖泊与环境国家重点实验室,并保存在4°C冰箱内,24小时内开展室外培养试验。

### 5.2.2 室外培养及取样

再悬浮沉积物光溶解培养试验采用6个长方体玻璃缸(351×211×250 mm, 长×宽×高)进行。玻璃缸先后经10% HCl酸洗和去离子水洗净后,装入10 L蒸馏水和20 g鲜沉积物(湿重),置于光照条件较好的中国科学院南京地理与湖泊研究所教育楼楼顶的塑料箱(800×600×230 mm, 长×宽×高)水浴内培养(水浴深度约20 cm),培养期间玻璃缸盖有2 mm厚的高透有机玻璃盖以防止大气沉降的干扰。每个玻璃缸内配有吸盘式静音造浪泵(40×70 mm, JVP-110, SUNSUN, 中国舟山)使沉积物保持悬浮状态。其中3个玻璃缸被铝箔包裹,光照培养组和黑暗控制组各3个平行,水温日变化范围为25–38°C。试验在南京夏季高温季节开展(2016年8月5日至9月15日,共31天),晴天日最大光强可达1900  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (由于盖有高透有机玻璃盖,玻璃缸内最大光强会低于该值,并且可能缺少紫外波段)。2016年8月5日至15日每天上午9点用120 mL棕色玻璃瓶(经10% HCl酸洗和去离子水洗净)于各玻璃缸中采集100 mL水样,带回湖泊与环境国家重点实验室过滤,–20°C冰箱冷冻保存。此外,为了得到DON分子组成的变化,采集了光照培养第0、10、31天样品各50 mL用于超高分辨率FT-ICR MS质谱分析。

### 5.2.3 样品分析

采集的样品经0.7  $\mu\text{m}$  GF/F膜(Whatman, GE Healthcare, USA, 预先在马弗炉450°C灼烧2 h)过滤后,部分样品(约50 mL)用于分析水样的TDN、TDP、DOC、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{NO}_2^-$ 和 $\text{PO}_4^{3-}$ 浓度。剩余样品经0.22  $\mu\text{m}$ 纤维素滤膜(MilliporeSigma, Darmstadt, Germany)再次过滤,用以紫外-可见吸收光谱、三维荧光光谱和超高分辨率质谱分析。样品各项指标的分析方法见章节2.2和3.2。

### 5.3 统计分析

对培养期间各参数随培养时间的变化进行了线性拟合分析。各参数组内培养前后差异、光照组和黑暗控制组间差异分别运用了配对样本 T 检验 (Paired-Samples T Tests) 和独立样本 T 检验 (Independent-Samples T Tests) 分析。线性拟合使用 OriginPro 2016 (OriginLab Corporation, Northampton, USA) 软件实现, 显著差异分析使用 SPSS 20.0 (IBM Analytics, Armonk, USA) 软件实现。

### 5.4 结果

#### 5.4.1 无机营养盐、DOC和DON的光化学产生

培养期间, 光照组 DOC 浓度随培养时间呈显著上升趋势 ( $R^2 = 0.95$ ,  $p < 0.01$ ), 上升速率为  $0.14 \text{ mg L}^{-1} \text{ day}^{-1}$ , 而黑暗控制组则呈显著降低趋势 ( $R^2 = 0.53$ ,  $p < 0.05$ ), 降低速率为  $0.02 \text{ mg L}^{-1} \text{ day}^{-1}$  (图 5.1 a); 光照组 DON 浓度随培养时间也呈现显著上升趋势 ( $R^2 = 0.37$ ,  $p < 0.05$ ), 上升速率为  $0.02 \text{ mg L}^{-1} \text{ day}^{-1}$ , 而黑暗控制组没有表现出显著的线性变化趋势 ( $R^2 = 0.00$ ,  $p > 0.05$ ) (图 5.1 b)。光照培养第 10 天, DOC 浓度由  $0.60 \pm 0.10 \text{ mg L}^{-1}$  增加至  $1.91 \pm 0.09 \text{ mg L}^{-1}$ , DON 浓度由  $0.10 \pm 0.03 \text{ mg L}^{-1}$  增加至  $0.41 \pm 0.10 \text{ mg L}^{-1}$ , 分别为培养开始时浓度的 318%和 410%, 显著高于此时黑暗控制组的浓度 (T Tests,  $p < 0.05$ )。

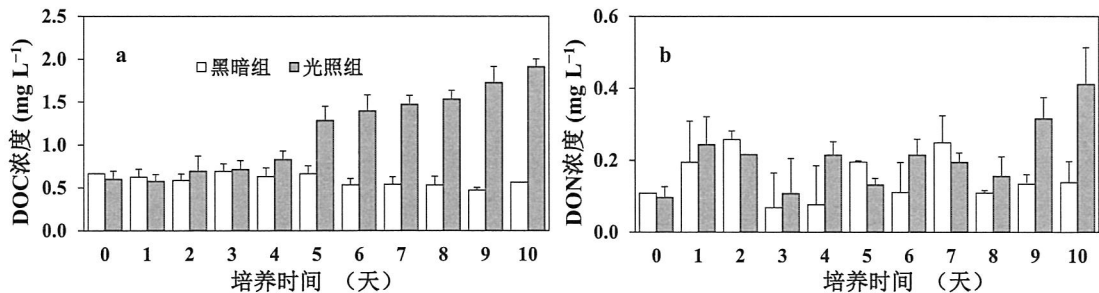


图 5.1 DOC (a) 和 DON (b) 浓度随培养时间的变化

Figure 5.1 Changes in the concentrations of DOC (a) and DON (b) during the incubation

光照组 TDN 浓度随培养时间呈显著降低趋势 ( $R^2 = 0.58$ ,  $p < 0.01$ ), 特别是第 4 天出现显著降低 (t-test,  $p < 0.01$ ), 而黑暗控制组未呈现显著的线性变化趋势 ( $R^2 = 0.29$ ,  $p > 0.05$ ) (图 5.2 a)。光照培养第 10 天, TDN 浓度由  $0.76 \pm 0.05 \text{ mg L}^{-1}$  降低至  $0.46 \pm 0.11 \text{ mg L}^{-1}$  (初始浓度的 61%), 显著低于此时的黑暗控制组 (T Test,  $p < 0.05$ )。

光照组 TDP 浓度随培养时间呈显著上升趋势 ( $R^2=0.75$ ,  $p<0.01$ ), 上升速率为  $3.05 \mu\text{g L}^{-1} \text{day}^{-1}$ , 黑暗控制组也呈相同趋势 ( $R^2=0.77$ ,  $p<0.01$ ), 上升速率为  $3.57 \mu\text{g L}^{-1} \text{day}^{-1}$  (图 5.2 b)。培养第 10 天, 光照组 TDP 浓度由  $8 \pm 3 \mu\text{g L}^{-1}$  增加至  $42 \pm 9 \mu\text{g L}^{-1}$ , 略低于此时的黑暗控制组, 但二者无显著差异 (T Test,  $p > 0.05$ )。

光照培养下,  $\text{NO}_3^-$  浓度在第 4 天出现显著降低 (t-test,  $p < 0.01$ ), 并在第 5 天至第 10 天稳定在  $0.03 \pm 0.01 \text{ mg L}^{-1}$  (图 5.2 c), 而黑暗控制组  $\text{NO}_3^-$  浓度随培养时间呈显著增加趋势 ( $R^2=0.76$ ,  $p<0.01$ ), 速率为  $0.01 \text{ mg L}^{-1} \text{day}^{-1}$ 。培养第 10 天, 光照组  $\text{NO}_3^-$  浓度显著低于黑暗控制组 (T Test,  $p < 0.01$ )。

光照组  $\text{NH}_4^+$  浓度随培养时间呈显著降低趋势 ( $R^2=0.57$ ,  $p<0.01$ ), 速率为  $0.006 \text{ mg L}^{-1} \text{day}^{-1}$ , 而黑暗控制组  $\text{NH}_4^+$  浓度线性变化趋势不显著 ( $R^2=0.27$ ,  $p > 0.05$ ) (图 5.2 d)。培养第 10 天,  $\text{NH}_4^+$  浓度由最初的  $0.13 \pm 0.02 \text{ mg L}^{-1}$  降低至  $0.03 \pm 0.01 \text{ mg L}^{-1}$ 。

光照组  $\text{PO}_4^{3-}$  浓度随培养时间呈显著上升趋势 ( $R^2=0.49$ ,  $p<0.05$ ), 上升速率为  $0.73 \mu\text{g L}^{-1} \text{day}^{-1}$ , 黑暗控制组也呈类似的上升趋势 ( $R^2=0.88$ ,  $p < 0.01$ ), 上升速率为  $2.81 \mu\text{g L}^{-1} \text{day}^{-1}$  (图 5.2 e)。培养第 10 天, 光照组  $\text{PO}_4^{3-}$  浓度由  $2 \pm 1 \mu\text{g L}^{-1}$  增加至  $10 \pm 5 \mu\text{g L}^{-1}$ , 为第 0 天的 500%。

光照组 TDN 与 TDP 的比值 (TDN:TDP) 随培养时间呈显著降低趋势 ( $R^2=0.76$ ,  $p < 0.01$ ), 速率为  $11.4 \text{ day}^{-1}$ , 黑暗组也呈类似的降低趋势 ( $R^2=0.43$ ,  $p < 0.01$ ), 速率为  $10.7 \text{ day}^{-1}$  (图 5.2 f)。光照培养第 10 天, TDN:TDP 由  $103 \pm 35$  降低至  $11 \pm 2$ , 低于此时的黑暗控制组, 但无显著差异 (T Test,  $p > 0.05$ )。

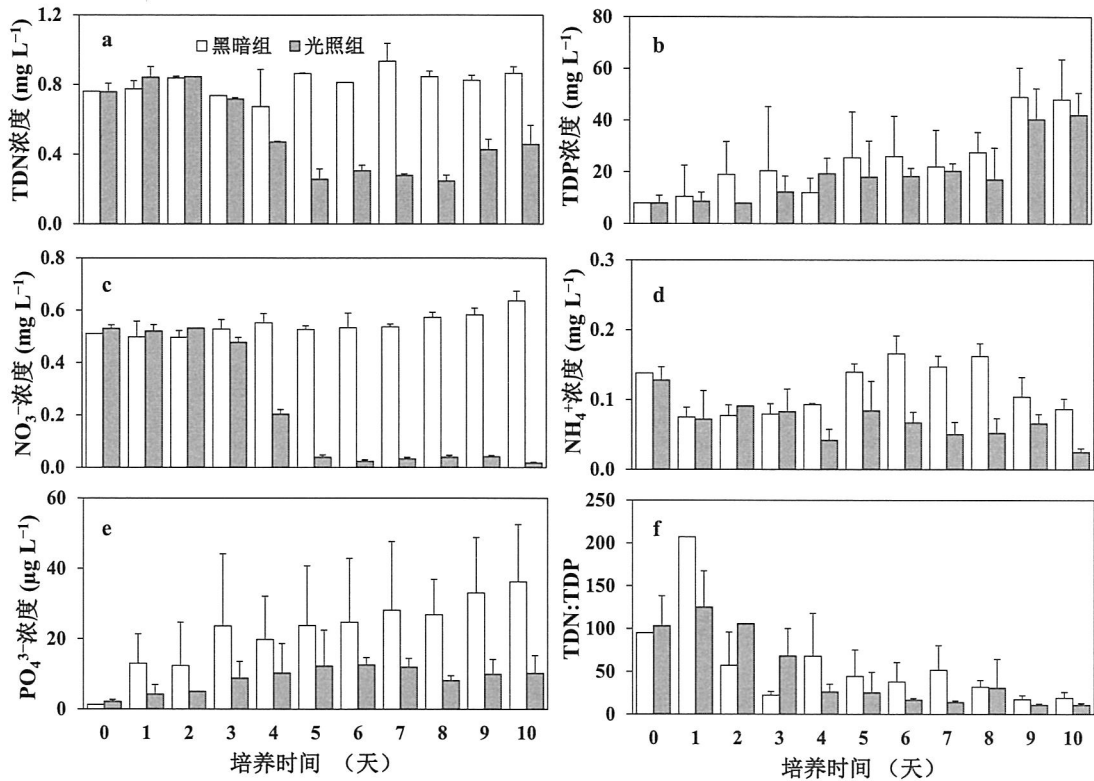


图 5.2 氮磷营养盐浓度及比值随培养时间的变化 (a: TDN; b: TDP; c:  $\text{NO}_3^-$ ; d:  $\text{NH}_4^+$ ; e:  $\text{PO}_4^{3-}$ ; f: TDN:TDP (质量比))

Figure 5.2 Temporal changes in the concentrations of nutrients and TDN:TDP (mass ratio) during the incubation

#### 5.4.2 光学参数的变化

##### 5.4.2.1 紫外可见-吸收光谱参数的变化

不同培养时间下光照组和黑暗控制组 CDOM/CDON 光谱吸收系数随激发波长变化呈现显著差异 (图 5.3 a 和 b)。黑暗条件下, 不同培养时间 CDOM/CDON 光谱吸收系数随激发波长的变化曲线差异较小 (图 5.3 a), 而光照培养下差异较大, 尤其是激发波长的紫外波段 (图 5.3 b)。

培养期间紫外-可见吸收光谱参数随培养时间的变化如图 5.4 所示。光谱吸收系数  $a(350)$  随培养时间呈显著上升趋势 ( $R^2=0.72$ ,  $p<0.01$ ), 上升速率为  $0.20 \text{ m}^{-1} \text{ day}^{-1}$ , 黑暗控制组也呈显著上升趋势 ( $R^2=0.56$ ,  $p<0.01$ ), 上升速率为  $0.097 \text{ m}^{-1} \text{ day}^{-1}$  (图 5.4 a)。光照培养第 10 天,  $a(350)$  由  $0.25 \pm 0.05 \text{ m}^{-1}$  增加至  $3.01 \pm 0.83 \text{ m}^{-1}$ , 为培养开始时的 12 倍, 但与此时光照控制组的  $a(350)$  浓度无显著差异 (T Tests,  $p>0.05$ )。培养期间, 光照组和黑暗控制组的  $\text{SUVA}_{254}$  和光谱斜率比

值  $S_R$  与培养时间的线性关系均不显著 ( $p > 0.05$ ), 光照组和黑暗控制组间的差异也不显著 (TTest,  $p > 0.05$ )。分子大小参数  $a(250):a(365)$  随培养时间呈显著上升趋势 ( $R^2 = 0.49$ ,  $p < 0.05$ ), 上升速率为  $0.38 \text{ day}^{-1}$ , 而黑暗控制组与培养时间的线性关系不显著 ( $R^2 = 0.35$ ,  $p > 0.05$ )。

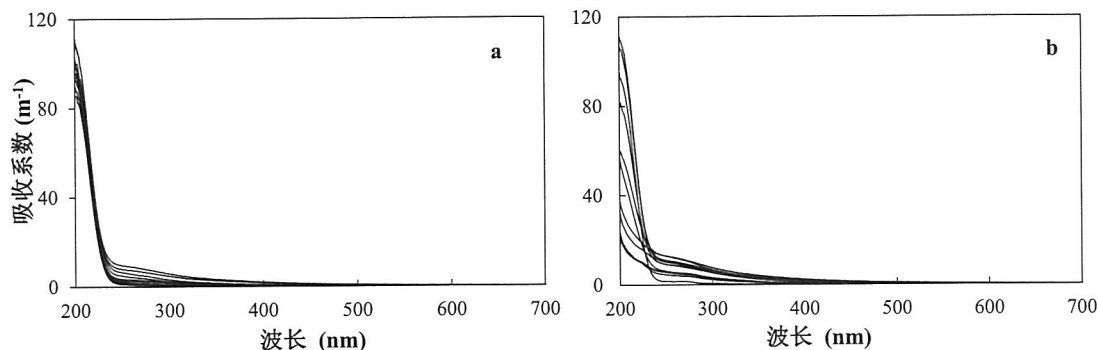


图 5.3 不同培养时间下黑暗控制组 (a) 和光照组 (b) 溶解态有机质光谱吸收系数随激发波长的变化

**Figure 5.3** Spectral absorption coefficients of CDOM derived by suspended sediments under dark (a) and light (b) incubation. The lines represent CDOM absorption spectra of different days.

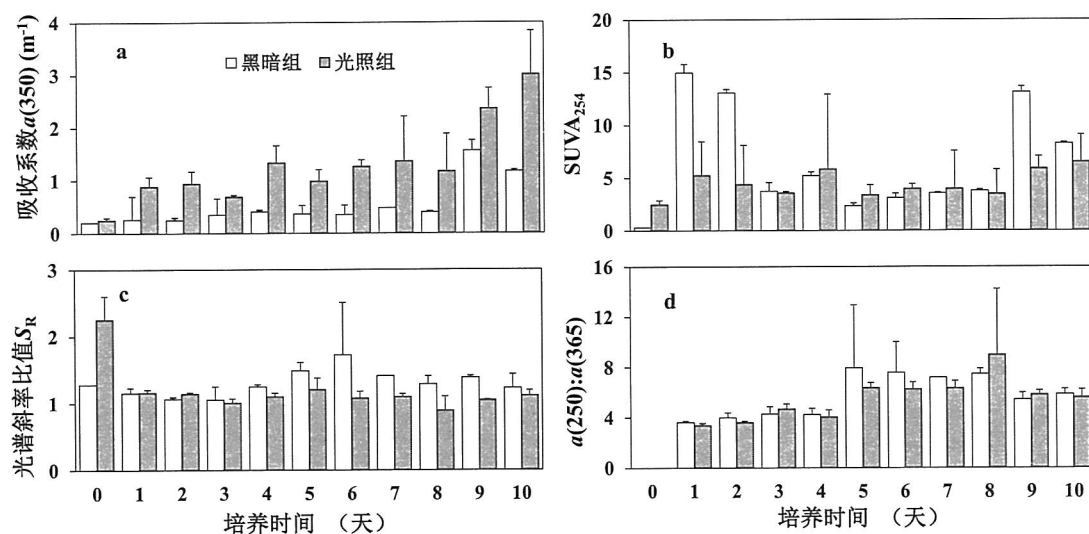


图 5.4 培养期间紫外-可见吸收光谱参数随培养时间的变化 (a:  $a(350)$ ; b:  $SUVA_{254}$ ; c:  $S_R$ ; d:  $a(250):a(365)$ )

**Figure 5.4** Temporal changes in UV-Vis absorption spectroscopy parameters during the incubation. Parameters include spectral absorption coefficients  $a(350)$  (a),  $SUVA_{254}$  (b), spectral slope ratio  $S_R$  (c), and molecular size  $a(250):a(365)$  of CDOM/CDON

#### 5.4.2.2 三维荧光光谱参数的变化

平行因子分析得到 CDOM/CDON 的四个荧光组分 (图 5.5), 与开源数据库 Openfluoer (Murphy et al., 2014)中其他水生态系统的平行因子分析模型结果对比得知: C1 (Ex/Em = 235 (355)/442) 为陆源类腐殖酸组分 (Williams et al., 2010; Zhang et al., 2010; Shutova et al., 2014; Catala et al., 2015) (图 5.5 a); C2 (Ex/Em = 275/340) 为类色氨酸组分 (Graeber et al., 2012; Yamashita et al., 2013; Zhang et al., 2013b) (图 5.5 b); C3 和 C4 (Ex/Em = 275/310) 为类酪氨酸组分 (Yao et al., 2011; Zhou et al., 2017) (图 5.5 c 和 d)。

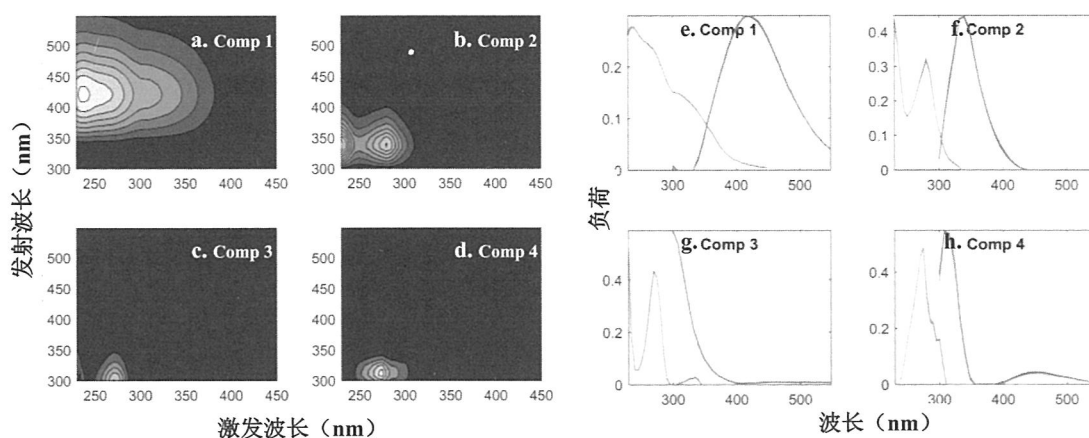


图 5.5 平行因子分析得到的四个荧光组分 (a、b、c 和 d) 和各组分的分半验证结果 (e、f、g 和 h)

**Figure 5.5** Spectral characteristics of the three PARAFAC components (a, b, c, and d). The model was well validated using the split-half validation procedure. The largely overlapping excitation and emission loadings of the four components, modeled on each half of the dataset and the whole dataset, are also shown (e, f, g, and h).

培养期间, 光照组 C1 组分浓度随培养时间呈线性上升趋势 ( $R^2 = 0.71$ ,  $p < 0.01$ ), 上升速率为  $0.024 \text{ R.U. day}^{-1}$ ; 黑暗控制组也呈线性上升趋势 ( $R^2 = 0.36$ ,  $p = 0.05$ ), 速率较光照组低, 为  $0.005 \text{ R.U. day}^{-1}$  (图 5.6 a)。C1 组分光照组与黑暗控制组组间差异显著 (T Test,  $p = 0.01$ )。C2 组分浓度光照组和黑暗组随培养时间均未表现出线性变化趋势 ( $p > 0.05$ ), 而光照组和黑暗组间表现出显著差异 (T Test,  $p < 0.05$ ) (图 5.6 b)。光照组 C3 组分浓度随培养时间未表现出线性变化趋势 ( $p > 0.05$ ), 而黑暗组 C3 组分浓度随培养时间表现出线性上升趋势 ( $R^2 = 0.79$ ,  $p < 0.01$ ), 上升速率为  $0.13 \text{ R.U. day}^{-1}$  (图 5.6 c); 光照组和黑暗组间差

异不显著 (T Test,  $p < 0.05$ )。C4 组分浓度随培养时间光照组和黑暗组均未表现出线性变化趋势 ( $p > 0.05$ ), 光照组和黑暗组间差异也不显著 (T Test,  $p < 0.05$ ) (图 5.6 d)。从各组分比例随培养时间的变化可以看出 (图 5.6 e 和 f), 培养第 10 天, 光照组 C1 和 C4 组分比例显著增加。

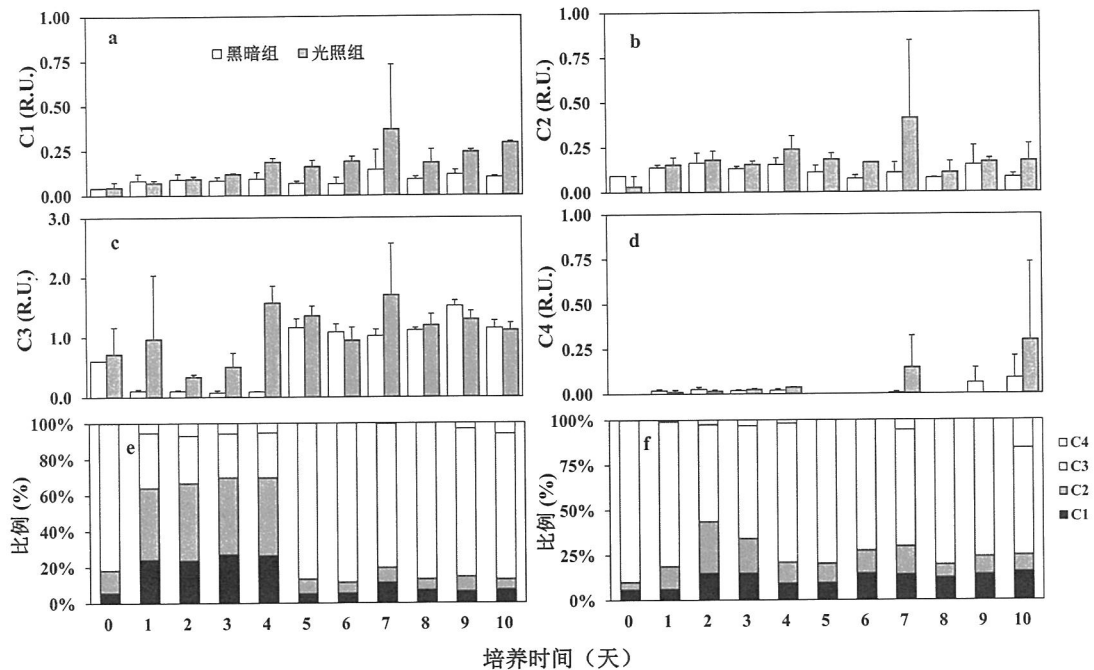


图 5.6 平行因子分析得到的四个荧光组分 C1-C4 相对丰度 (a、b、c 和 d) 和比例 (e: 黑暗组; f: 光照组) 随培养时间的变化

Figure 5.6 Temporal changes in the concentrations of the four PARAFAC components C1-C4 (a, b, c, and d, respectively) and their percentages under dark (e) and light (f) incubations

生物源指数 BIX 光照组和黑暗组随培养时间均未表现出线性变化趋势 ( $p > 0.05$ ), 而光照组和黑暗组组间表现出显著差异 (T Test,  $p < 0.01$ ,  $n = 10$ , 第 0 天因异常值未带入显著性检验) (图 5.7 a)。培养第 10 天, 光照组 BIX 显著低于黑暗控制组 (T Test,  $p < 0.01$ )。腐殖化指数 HIX 光照组和黑暗组随培养时间均未表现出线性变化趋势 ( $p > 0.05$ ), 光照组和黑暗组组间差异也不显著 (T Test,  $p > 0.05$ )。培养第 10 天, 腐殖化程度 HIX 高于黑控制暗组 (图 5.7 b)。

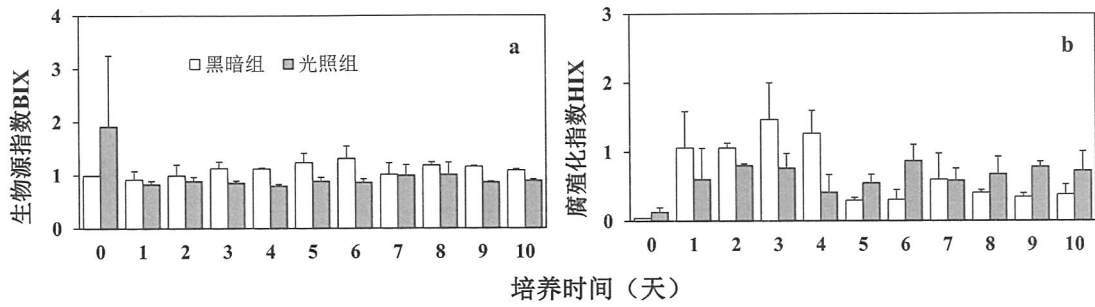


图 5.7 培养期间生物源指数 BIX (a) 和腐殖化指数 HIX (b) 随培养时间的变化

Figure 5.7 Temporal changes in the index of recent autochthonous contribution (BIX) and the humification index (HIX) during the incubation

### 5.4.3 超高分辨率质谱参数的变化

光照培养第 0、10 和 31 天时 DON 分子组成各参数变化如表 5.1 所示。N/C、DBE/C、DBE/H、DBE/O 在培养第 31 天增大，而 H/C 和 O/C 在第 31 天显著降低。双键当量 DBE、芳香性指数  $AI_{mod}$  及相对丰度权重下的各参数  $DBE_w$ 、 $AI_{mod-w}$ 、 $C_w$ 、 $O/C_w$ 、 $H/C_w$ 、 $N/C_w$  随培养时间逐渐增加。

表 5.1 光照培养第 0、10 和 31 天时 DON 分子组成各参数的变化

Table 5.1 Changes in the molecular composition of DON upon natural light exposure of 0, 10, and 31 days

DON 组成参数	0 天	10 天	31 天
DBE	10.29	10.88	12.07
H/C	1.26	1.25	1.14
O/C	0.46	0.46	0.4
N/C	0.066	0.065	0.072
$AI_{mod}$	0.27	0.27	0.36
DBE/C	0.45	0.45	0.51
DBE/H	0.42	0.42	0.52
DBE/O	1.04	1.06	1.63
Average m/z	497.87	521.52	450.55
$C_w$	4.95	6.25	6.55
$O/C_w$	0.11	0.14	0.15
$H/C_w$	0.29	0.37	0.41
$N/C_w$	0.017	0.023	0.029
$AI_{mod-w}$	0.07	0.09	0.12
$DBE_w$	2.25	2.91	3.35

光照培养第 0、10 和 31 天时 DON 分子组成的 Van Krevelen 图如图 5.8 所示。图中可见光照培养下，众多 DON 化合物消失的同时，伴随着众多新的 DON 化合物的产生。

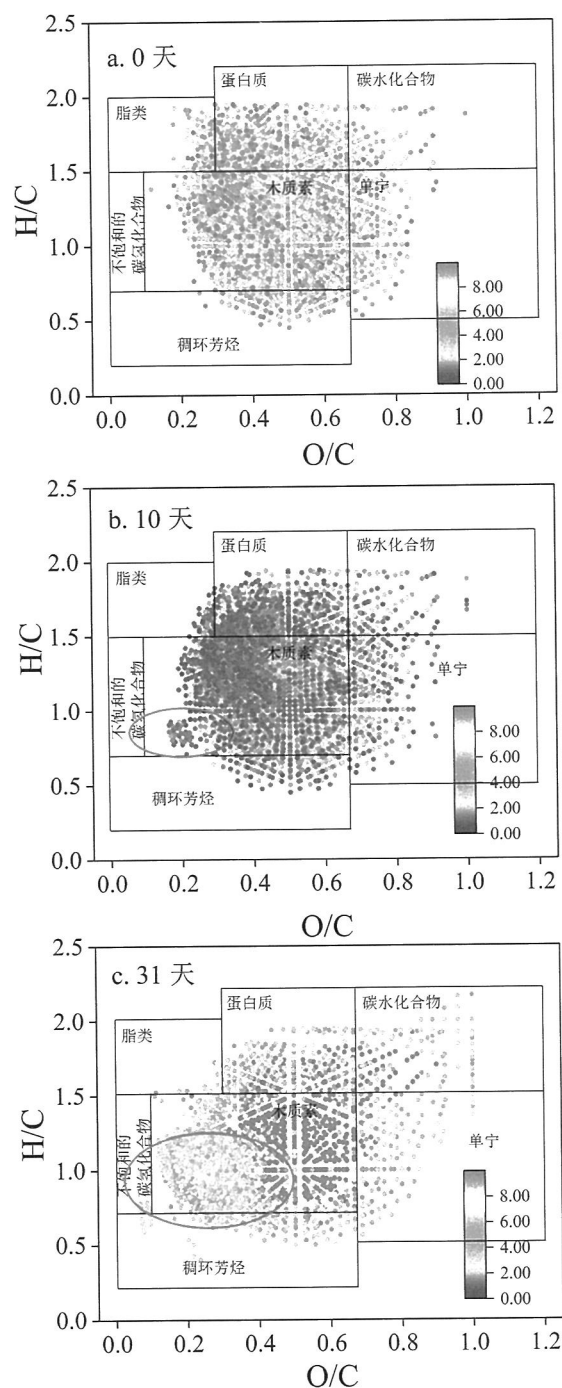


图 5.8 光照培养不同时间下 (a: 0 天; b: 10 天; c: 31 天) DON 组成的 Van Krevelen 图

Figure 5.8 Van Krevelen diagrams of DON components upon natural light exposure of 0 (a), 10 (b), and 31 (c) days

培养期间, DON 中的脂类、蛋白质和氨基酸组分分子式数量及比例逐渐降低, 而木质素、碳水化合物、单宁的比例在逐渐增加。脂类由 2% 降至 0, 蛋白质由 19% 降至 10%, 而木质素比例由 67% 增加至 75%, 碳水化合物比例由 1% 增加至 4%, 单宁由 4% 增加至 5%。van Krevelen 各组分的总相对丰度及其比例也表现出类似的趋势。此外, 培养第 31 天, 有少量不饱和碳氢化合物出现 (表 5.2)。

表 5.2 自然光照下第 0、10 和 31 天时 DON 各组分分子式数量、总相对丰度及其比例的变化

Table 5.2 Changes in the number and total relative abundance as well as the percentages of each class of N-containing formulas subcategorized by van Krevelen (VK) plots upon natural light exposure of 0, 10, and 31 days

含氮组分	含氮分子式数量 (比例%)			含氮分子式总相对丰度 (比例%)		
	0 天	10 天	31 天	0 天	10 天	31 天
脂类	96 (2)	52 (1)	13 (0)	249 (1)	83 (0)	50 (0)
蛋白质和氨基酸	841 (19)	811 (16)	275 (10)	3414 (17)	2328 (11)	2122 (9)
木质素	3014 (67)	3600 (71)	2124 (75)	14654 (73)	17207 (81)	17955 (80)
碳水化合物	61 (1)	87 (2)	119 (4)	168 (1)	196 (1)	722 (3)
不饱和碳氢化合物	0 (0)	0 (0)	9 (0)	0 (0)	0 (0)	20 (0)
稠环芳烃	161 (4)	154 (3)	117 (4)	554 (3)	342 (2)	413 (2)
单宁	195 (4)	237 (5)	133 (5)	602 (3)	648 (3)	689 (3)
其他	124 (3)	127 (3)	50 (2)	512 (3)	475 (2)	496 (2)

### 5.5 讨论

除了浮游生物的吸收和释放外, 水体 DON 的来源及归趋还包括光化学改变等非生物过程。本文的结果显示, 持续的光照最终导致 DOC 浓度、DON 浓度、N/C 和 N/C<sub>w</sub> 显著增加, 而 TDN、NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 浓度与黑暗控制组相比显著降低 (T tests,  $p < 0.01$ ), 表明与无机氮相比, 太湖沉积物的光溶解是 DOC 和 DON 相对更重要的来源。Riggsbee 等(2008)的研究也显示, 模拟光照下的沉积物悬浮液导致的 DOC 和 DON 的释放, 其速率分别为  $1.43 \pm 0.13 \text{ mg L}^{-1} \text{ day}^{-1}$  和  $0.024 \pm 0.007 \text{ mg L}^{-1} \text{ day}^{-1}$ , 而 DIN 和磷的释放不显著。本文中, DOC 和 DON 的释放速率较低 (分别为  $0.14 \text{ mg L}^{-1} \text{ day}^{-1}$  和  $0.017 \text{ mg L}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ), 可能由于受到的光照强度较其

模拟光照强度低。在太湖这样的大型浅水湖泊，风浪容易引起底部沉积物的再悬浮，在太阳辐射下再悬浮沉积物的光溶解过程可能成为 DON 的重要来源。此外， $\text{PO}_4^{3-}$ 的光化学释放比无机氮更为显著，表明相对无机氮而言，颗粒有机质的光溶解过程是无机磷更重要的来源(Southwell et al., 2011)。DON 和无机磷的释放都将加剧湖泊的富营养化的进程并促进蓝藻水华的暴发。

光溶解可能是光照和水体颗粒物之间直接的光化学过程，也可能包括了光解作用衍生的活性中间产物的次级光化学过程。本文平行因子分析的结果显示，光溶解主要导致类腐殖酸组分的产生，与 Shank 等(2011)的研究结果一致。FT-ICR MS 的结果进一步证实，光照导致 DON 的腐殖化程度 ( $\text{AI}_{\text{mod-w}}$  和  $\text{DBE}_w$ ) 增加，增加的 DON 组分主要是木质素、不饱和碳氢化合物及单宁等组分，而被降解的 DON 组分主要是脂类、蛋白质和氨基酸。并且，有研究表明腐殖酸组分在特定条件下能够结合水体中的  $\text{NH}_4^+$ ，如盐度降低、温度变化等(Bronk et al., 2010)。

尽管本文未涉及光溶解产生的 DON 进一步的光降解效应，已有研究表明，自然和人为来源里均有光易降解的 DON 化合物存在，同时光照会导致新的 DON 化合物产生。细菌主要降解利用占 DOM 库 < 20% 的小分子量化合物，而光降解则能够针对 DOM 的大量稳定组分腐殖酸进行降解，产生生物可利用的富含氮的有机化合物和氨(Bushaw et al., 1996)。太湖流域外源溶解态有机质的光漂白效应导致平均分子量降低(光谱斜率  $S_{275-295}$ 、光谱斜率比值  $S_R$ 、 $a(250):a(365)$  增加)，TDN 浓度降低，这与本文沉积物光溶解效应一致，然而 CDOM 的光漂白效应导致类腐殖酸组分浓度降低而类蛋白组分浓度有所增加(Zhang et al., 2013a)，与光溶解过程的结果相反。Mesfioui 等(2015)运用 FT-ICR MS 研究了约克河自然和人为来源 DON 的光化学改变，虽然自然来源的溶解态有机质 DON 光产生更为突出(即使在低氮环境)，但人为来源(如污水厂出水)的溶解态有机质发生光漂白效应向光腐殖化效应的转变，表现出 DBE 和平均分子量增加，其研究最终证实不管最初来源如何，光化学是水域系统 DON 性质的主要控制因素之一(Mesfioui et al., 2015)。Funkey 等(2015)发现自然光照 9 小时导致污水厂出水 7% 的 DON 转变为 DIN 和伯胺。Wang 等(2000)认为光照条件下存在光氨化机制，肽键中的酰胺键首先发生光化学裂解生成初级胺，接着被水解为氨，可见与本文光溶解过程的结果相反，相关机制需要未来进一步研究。

## 5.6 结论

通过对自然光辐射影响下太湖沉积物来源的颗粒态有机质向溶解态转变的研究发现:

(1) 持续的光照最终导致 DOC 和 DON 浓度显著增加, 然而并未导致 DIN 浓度显著增加, 表明与无机氮相比, 太湖沉积物的光溶解是 DON 相对更重要的来源。

(2) 在 DON 组成上, 持续光照导致类腐殖酸荧光组分的浓度增加, 并导致木质素、不饱和碳氢化合物、单宁等含氮组分的相对丰度增加, 而被降解的含氮组分主要是脂类、蛋白质和氨基酸, 最终 DON 化合物的  $AI_{\text{mod-w}}$ 、 $DBE_w$ 、 $N/C$  和  $N/C_w$  显著增加。

(3) 太湖再悬浮沉积物在经历光溶解效应后产生的 DON 的生物可利用性需要未来进一步研究。



## 第6章 太湖水体DON的浮游藻类光化学来源

### 6.1 引言

水体 DON 原地自生来源的关键过程主要包括生物过程和非生物过程, 其中生物过程主要是浮游藻类释放以及细菌介导的生物降解过程, 在过去几十年受到广泛关注(Bronk et al., 1994; Mccarthy et al., 1998)。浮游生物群落 DON 的释放速率占其对 DON 总吸收速率的 3.5%–85.7%, 不同环境因素影响下差异较大(Bronk and Ward, 2000)。日本霞浦湖 (Lake Kasumigaura) 的研究表明, 细菌降解贡献的氨基酸和中性糖占该湖 DOM 的 30%–50%(Kawasaki et al., 2013)。然而, 相对于 DON 的外源过程, DON 内源关键过程及其与环境的交互作用及其机制有待于深入研究(Slawyk and Raimbault, 1995)。

在浮游生物内源释放方面, 研究涉及较多的是运用稳定同位素  $^{15}\text{N}$ 、 $^{13}\text{C}$  示踪技术, 定量湖泊浮游植物和细菌群落对各形态氮素的释放或吸收速率, 并探究其与碳通量的关系(Bronk et al., 1998; Bronk et al., 2014; Baer et al., 2017)。通过不同尺寸分级、流式细胞仪分选等方法, 还能区分自养和异养浮游生物群落对 DON 的释放和吸收速率(Bronk et al., 1998)。然而, 同位素示踪方法不能够追踪 DON 组成的变化。随着 DON 表征技术手段的进步, 尤其是超高分辨率 FT-ICR MS 等技术的发展, 在分子水平追踪 DON 组成和来源变化过程的研究越来越多 (Mesfioui et al., 2012; Killberg-Thoreson et al., 2013; Osborne et al., 2013)。

在对太湖蓝藻水华暴发内在维持机制的讨论中, 藻自身的生长代谢、死亡降解以及藻与附生细菌的相互作用等过程使蓝藻细胞间存在氮磷营养盐循环, 被认为是太湖蓝藻水华的重要维持机制之一(Sun et al., 2017; 杨柳燕 等, 2019)。一方面, DON 可来源于水体浮游藻类释放或细菌降解等过程; 另一方面, DON 可作为微生物重要的营养物质。加之大型浅水湖泊中光照与黑暗交替, 光合与呼吸并存, 使得 DON 的这一内部转化过程非常复杂(何伟 等, 2016)。

本章旨在通过比较光照与黑暗条件下浮游藻类和细菌群落来源的 DON 浓度及组成变化间的差异, 揭示 DON 原地自生来源关键过程-光照驱动下的浮游藻类来源。研究结果证实浮游藻类和细菌群落代谢、降解导致的 DON 内循环是其生长的重要维持机制。

## 6.2 材料与方法

### 6.2.1 样品采集

2016年8月16日和8月27日傍晚于中国科学院太湖湖泊生态系统研究站栈桥(120.23691 E°, 31.50825 N°)使用浮游植物网(64 μm)采集浓缩的浮游藻类于10 L聚乙烯塑料桶中,当天带回南京湖泊与环境国家重点实验室并尽快开展室外培养试验。

### 6.2.2 室外培养及取样

浮游藻类自然光照培养试验培养方法与再悬浮沉积物培养试验类似,试验采用3个长方体玻璃缸(351×211×250 mm,长×宽×高)进行。采集回来的浮游藻类在培养前重新装入浮游植物网(阀门关闭)用超纯水冲洗。随后,每个玻璃缸(先后经10% HCl酸洗和去离子水洗净)内装入10 L蒸馏水和100 mL浓缩浮游藻类(培养体系叶绿素浓度约为550 mg L<sup>-1</sup>),置于光照条件较好的中国科学院南京地理与湖泊研究所教育楼楼顶的塑料箱(800×600×230 mm,长×宽×高)水浴内培养(水浴深度约20 cm),培养期间玻璃缸盖有2 mm厚的高透有机玻璃盖以防止大气沉降的干扰。光照培养在南京夏季高温季节开展(2016年8月18日至9月10日,共23天),水温日变化范围为25–38 °C,晴天日最大光强可达1900 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>。培养期间于特定时间(第0–11、13、16、18、23天)用120 mL棕色玻璃瓶(经10% HCl酸洗和去离子水洗净)于各玻璃缸中采集100 mL水样,带回湖泊与环境国家重点实验室过滤,–20°C冰箱冷冻保存。此外,为了得到DON分子组成的变化,采集了光照培养第0、23天样品用于超高分辨率FT-ICR MS分析。

考虑到还应有黑暗条件下藻源DON浓度和组成变化的对比,于2016年8月29日至9月26日增设了黑暗控制组,即3个被铝箔包裹的玻璃缸培养。除了黑暗条件,其他试验设置均与光照组相同。于特定时间(第0、3、4、5、7、9、12、22天)采集了黑暗控制组的水样,水样采集方法与光照组相同。与光照组相比,黑暗控制组试验期间水温日变化范围和光照强度可能发生一些变化,但本试验旨在对比光照和黑暗下DON浓度及组成变化差异,故除黑暗和光照控制组外,忽略了其他培养条件的差异。

### 6.2.3 样品分析

采集的样品经  $0.7\ \mu\text{m}$  GF/F 膜 (Whatman, GE Healthcare, USA, 预先在马弗炉  $450^\circ\text{C}$  灼烧 2 h) 过滤后, 部分样品 (约 50 mL) 用于分析水样的 TDN、TDP、DOC、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{NO}_2^-$  和  $\text{PO}_4^{3-}$  浓度。剩余样品经  $0.22\ \mu\text{m}$  纤维素滤膜 (MilliporeSigma, Darmstadt, Germany) 再次过滤, 用以紫外-可见吸收光谱、三维荧光光谱和超高分辨率 FT-ICR MS 质谱各参数分析。

样品各项指标的分析方法见章节 2.2 和 3.2。

## 6.3 结果

### 6.3.1 无机营养盐、DOC和DON的光化学产生

藻培养期间, 光照组 DOC 浓度随培养时间呈线性上升趋势 ( $R^2 = 0.98$ ,  $p < 0.01$ ), 上升速率为  $0.44\ \text{mg L}^{-1}\ \text{day}^{-1}$ , 黑暗控制组也呈现线性上升趋势 ( $R^2 = 0.82$ ,  $p < 0.01$ ), 上升速率较光照组低, 为  $0.23\ \text{mg L}^{-1}\ \text{day}^{-1}$  (图 6.1 a)。培养第 23 天, 光照组 DOC 浓度显著高于黑暗控制组 (T Test,  $p < 0.01$ )。光照培养下, DON 浓度随培养时间呈现初期 (0–3 天) 快速增加, 之后增速减缓的趋势, 整体上仍表现出线性上升趋势 ( $R^2 = 0.62$ ,  $p < 0.01$ ), 上升速率为  $0.063\ \text{mg L}^{-1}\ \text{day}^{-1}$ , 黑暗控制组则表现出更显著的线性增加趋势 ( $R^2 = 0.92$ ,  $p < 0.01$ ) (图 6.1 b)。光照培养第 23 天, DOC 浓度由  $1.66 \pm 0.05\ \text{mg L}^{-1}$  增加至  $12.91 \pm 0.99\ \text{mg L}^{-1}$ , 显著高于约为同时刻的黑暗控制组的浓度 (T Tests,  $p < 0.01$ )。光照培养第 18 天, DON 浓度由  $0.10 \pm 0.06\ \text{mg L}^{-1}$  增加至  $1.93 \pm 0.19\ \text{mg L}^{-1}$ , 却显著低于此时的黑暗控制组的 DON 浓度 (T Tests,  $p < 0.01$ )。

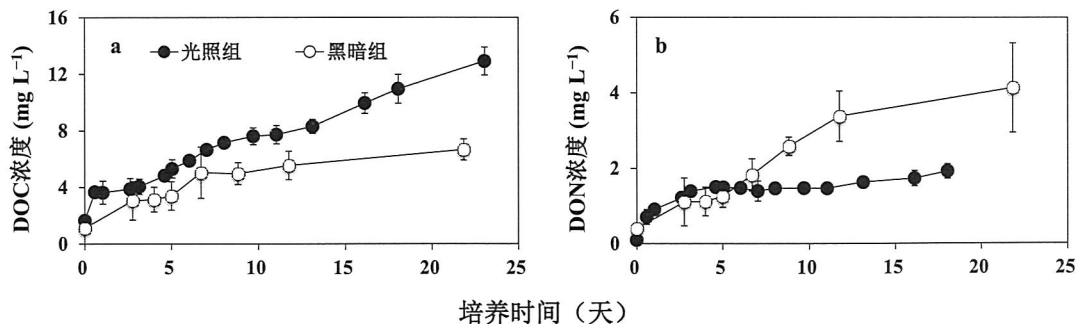


图 6.1 培养期间 DOC 和 DON 浓度随培养时间的变化

Figure 6.1 Temporal changes in the concentrations of DOC and DON during the algae incubation

培养期间,光照组浮游藻类经历了先死亡降解后复活生长的过程,TDN 浓度随着培养时间出现先增加(0-3 天)后降低而后(约第 10 天以后)趋于稳定的趋势,最终浓度约为  $2.15 \pm 0.38 \text{ mg L}^{-1}$ ;而黑暗控制组 TDN 浓度随培养时间呈线性上升趋势( $R^2 = 0.99$ ,  $p < 0.01$ ),上升速率为  $0.41 \text{ mg L}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ,浓度由最初的  $0.92 \pm 0.01 \text{ mg L}^{-1}$  上升至  $9.54 \pm 0.61 \text{ mg L}^{-1}$  (图 6.2 a)。

光照组 TDP 浓度出现与 TDN 类似的先增加(0-3 天)后降低而后趋于稳定(约第 5 天以后)的变化趋势,最终浓度约为  $108 \mu\text{g L}^{-1}$ ;黑暗控制组 TDP 浓度随培养时间呈线性上升趋势( $R^2 = 0.97$ ,  $p < 0.01$ ),上升速率为  $39 \mu\text{g L}^{-1} \text{ day}^{-1}$  (图 6.2 b),浓度由最初的约为 0 上升至  $800 \pm 26 \mu\text{g L}^{-1}$ 。

光照培养下, $\text{NO}_3^-$ 浓度在 0-3 天出现快速降低,之后呈近乎耗尽的状态,最终浓度约为  $0.01 \pm 0.01 \text{ mg L}^{-1}$  (图 6.2 c);而黑暗控制组  $\text{NO}_3^-$ 浓度随培养时间呈缓慢线性增加趋势( $R^2 = 0.65$ ,  $p < 0.05$ ),速率为  $0.01 \text{ mg L}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ,浓度由培养最初的  $0.48 \pm 0.02 \text{ mg L}^{-1}$  增加至  $0.70 \pm 0.44 \text{ mg L}^{-1}$ 。

光照组  $\text{NH}_4^+$ 浓度随培养时间呈先增加(0-3 天)后降低(第 3 天以后)的趋势,最终浓度为  $0.22 \pm 0.17 \text{ mg L}^{-1}$ ;而黑暗控制组  $\text{NH}_4^+$ 浓度随培养时间呈线性上升趋势( $R^2 = 0.97$ ,  $p < 0.01$ ),上升速率为  $0.19 \text{ mg L}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ,浓度由最初的  $0.03 \pm 0.01 \text{ mg L}^{-1}$  上升至  $3.92 \pm 0.57 \text{ mg L}^{-1}$  (图 6.2 d)。

光照组  $\text{PO}_4^{3-}$ 浓度也出现先增加(0-3 天)后快速降低而后趋于耗尽(约第 5 天以后)的变化趋势,最终浓度仅为  $2 \pm 1 \mu\text{g L}^{-1}$ ;黑暗控制组 TDP 浓度则随培养时间呈线性上升趋势( $R^2 = 0.95$ ,  $p < 0.01$ ),上升速率为  $22 \mu\text{g L}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ,最终浓度达到  $484 \pm 49 \mu\text{g L}^{-1}$  (图 6.2 e)。

光照组 TDN 与 TDP 的比值(TDN:TDP)随培养时间呈现先增加(第 0 天异常)而后呈对数降低的趋势(5-18 天,对数拟合( $y = a - b \cdot \ln(x + c)$ )), $R^2 = 0.92$ ,  $p < 0.01$ );黑暗组呈现类似的对数降低趋势(对数拟合, $R^2 = 0.74$ ,  $p < 0.01$ ) (图 6.2 f)。

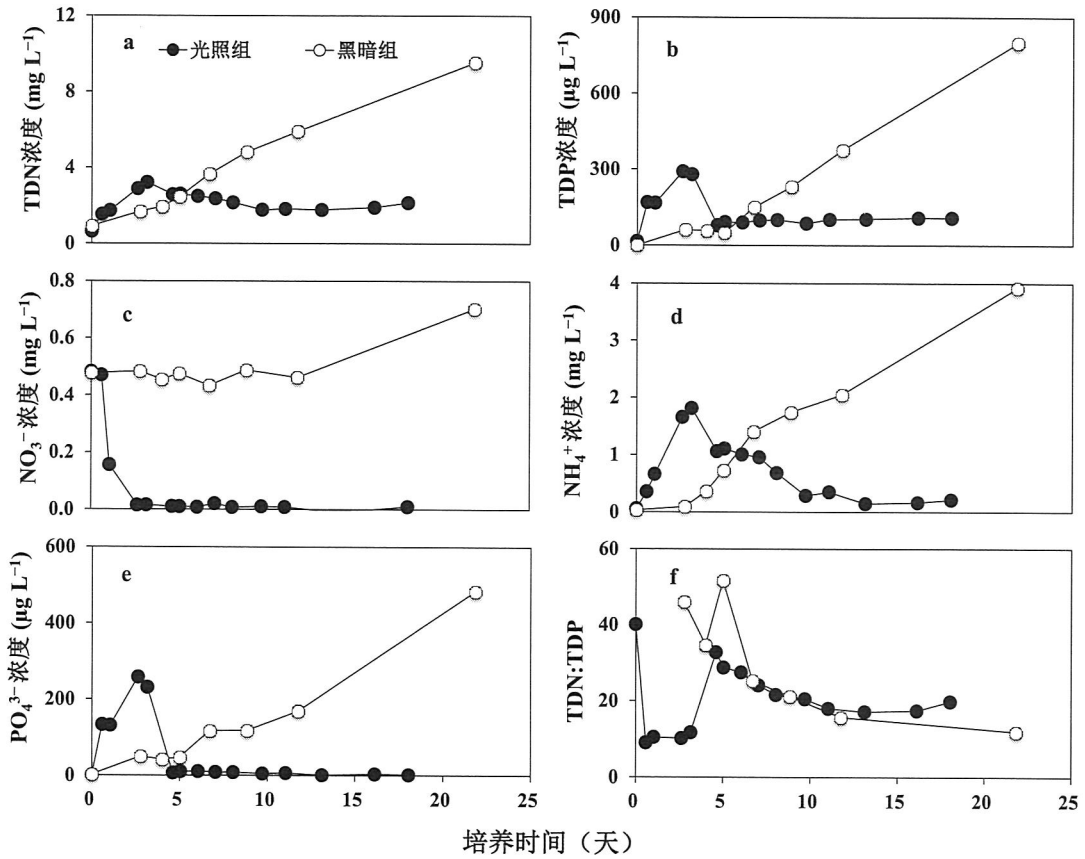


图 6.2 藻培养期间氮磷营养盐浓度及比值随培养时间的变化

Figure 6.2 Temporal changes in the concentrations of DOC and DON during the incubation

### 6.3.2 光学参数的变化

#### 6.3.2.1 紫外可见-吸收光谱参数的变化

培养期间, 光照组光谱吸收系数  $a(350)$  随培养时间呈先增加 (0-3 天) 后降低 (5-10 天) 而后缓慢增加 (第 10 天以后) 的趋势; 而黑暗控制组  $a(350)$  随培养时间呈线性上升趋势 ( $R^2 = 0.94$ ,  $p < 0.01$ ), 上升速率为  $0.15 \text{ m}^{-1} \text{ day}^{-1}$ , 浓度由最初的  $0.09 \pm 0 \text{ m}^{-1}$  上升至  $3.32 \pm 0.29 \text{ m}^{-1}$  (图 6.3 a)。光照组  $a(250):a(365)$  前 3 天有所波动, 但整体随培养时间呈缓慢线性上升趋势 ( $R^2 = 0.77$ ,  $p < 0.01$ ), 上升速率为  $0.13 \text{ day}^{-1}$ ; 而黑暗控制组  $a(250):a(365)$  随培养时间呈现与 TDN:TDP 变化类似的指数下降趋势 (对数拟合 ( $y = a - b \cdot \ln(x + c)$ ),  $R^2 = 0.99$ ,  $p < 0.01$ ) (图 6.3 b)。光照组光谱斜率比值  $S_{275-295}$  前 3 天同样有所波动, 但整体上仍表现出缓慢线性上升的趋势 ( $R^2 = 0.37$ ,  $p < 0.05$ ), 上升速率为  $0.17 \text{ day}^{-1}$ 。光照组光谱斜率比值  $S_R$  与培养时间的线性关系不显著 ( $p > 0.05$ ); 黑暗控制组  $S_R$  值大于

1 且始终高于光照组，并且随培养时间整体出现先增加后降低的趋势，但随培养时间的线性变化不显著 ( $p > 0.05$ )。

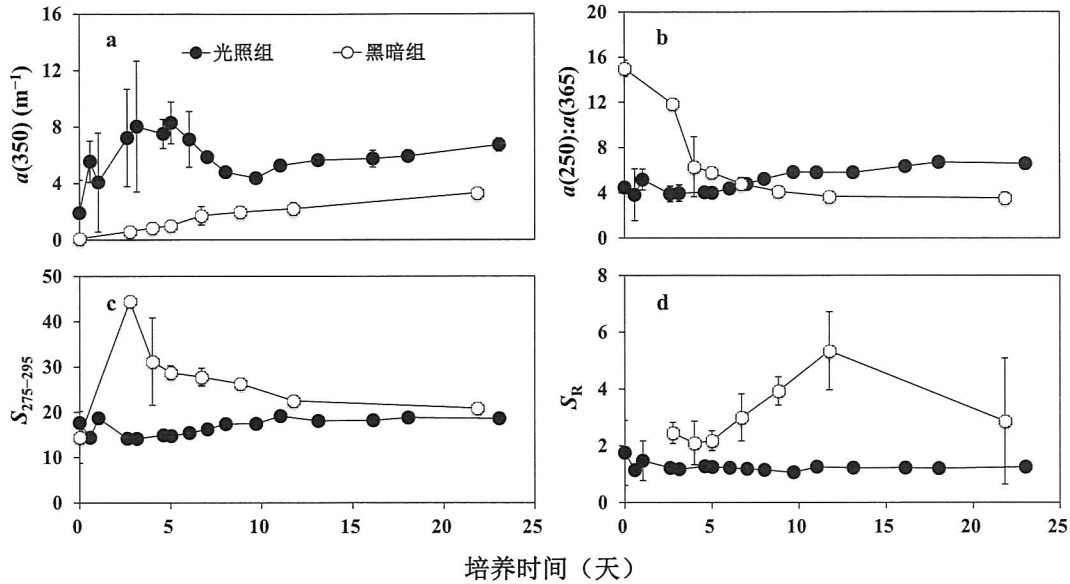


图 6.3 浮游藻类培养期间 CDOM/CDON 紫外-可见吸收光谱参数随培养时间的变化

**Figure 6.3** Temporal changes in UV-Vis absorption spectroscopy parameters during the incubation. Parameters include spectral absorption coefficients  $a(350)$  (a),  $SUVA_{254}$  (b), spectral slope ratio  $S_R$  (c), and molecular size  $a(250):a(365)$  of CDOM/CDON

### 6.3.2.2 三维荧光光谱参数的变化

平行因子分析得到 CDOM/CDON 的四个荧光组分与章节 5.4.2 中相同 (图 5.5): C1 (Ex/Em = 235 (355)/442) 为陆源类腐殖酸组分; C2 (Ex/Em = 275/340) 为类色氨酸组分; C3 和 C4 (Ex/Em = 275/310) 为类酪氨酸组分。

培养期间, 光照组荧光组分 C1 的浓度随培养时间经历了先增加 (0-3 天) 后快速降低又缓慢上升 (第 10 天以后) 的过程; 而黑暗控制组 C1 浓度 0-7 天呈逐渐上升趋势, 但整个培养期间未表现出显著的线性变化趋势 ( $p > 0.05$ ) (图 6.4 a)。光照组荧光组分 C2 浓度同样经历了三个阶段: 0-3 天浓度快速上升, 5-10 天逐渐降低, 第 10 天以后浓度又逐渐升高; 而黑暗控制组 C2 浓度表现出线性上升的趋势 ( $R^2 = 0.93$ ,  $p < 0.01$ ), 上升速率为  $0.03 \text{ R.U. day}^{-1}$ , 浓度由最初的  $0.06 \pm 0 \text{ R.U.}$  上升至  $0.89 \pm 0.19 \text{ R.U.}$  (图 6.4 b)。光照组荧光组分 C3 浓度在 0-3 天快速上升, 而后出现波动, 第 10 天以后逐渐降低; 而黑暗控制组 C3 浓度

随培养时间呈线性上升的趋势 ( $R^2 = 0.69$ ,  $p < 0.01$ ), 上升速率为  $0.02 \text{ R.U.}$ , 浓度由最初的  $0.06 \pm 0.03 \text{ m}^{-1}$  上升至  $0.51 \pm 0.09 \text{ mg L}^{-1}$  (图 6.4 c)。光照组和黑暗组荧光组分 C4 浓度随培养时间均未表现出线性变化趋势 ( $p > 0.05$ ) (图 6.4 d)。

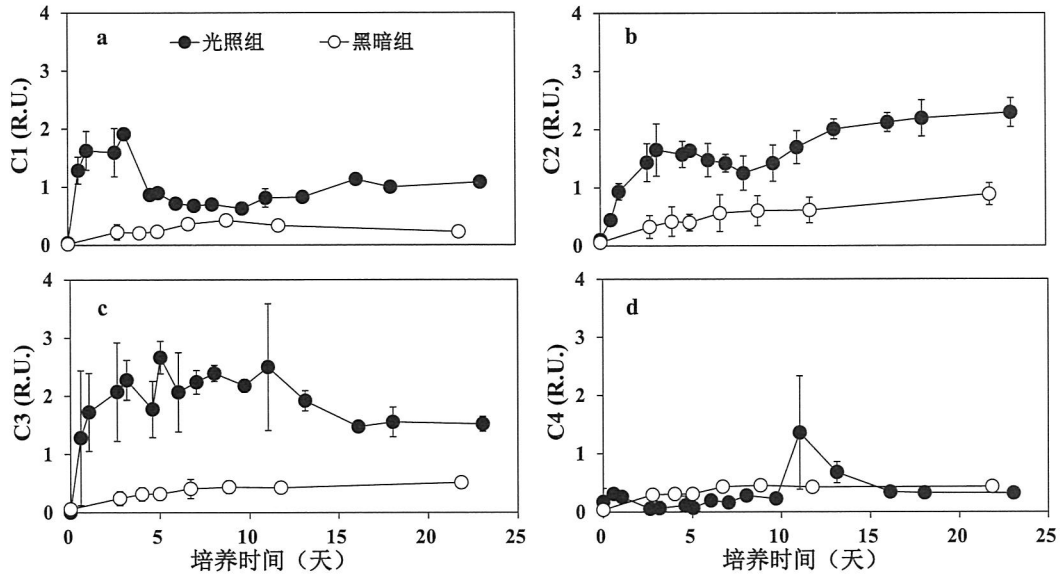


图 6.4 平行因子分析得到的四个组分浓度 (a、b、c 和 d) 随培养时间的变化

Figure 6.4 Temporal changes in the concentrations of the four PARAFAC components C1-C4 (a, b, c, and d, respectively) during the incubations

通过对荧光组分 C1-C4 各自比例随培养时间变化的分析发现 (图 6.5), 黑暗控制组各比例随培养时间变化较小, 而光照组变化较大。光照条件下, 陆源腐殖酸组分 C1 整体呈降低趋势 (第 0 天存在不充分的混合效应), 而类色氨酸组分比例整体呈线性增加趋势 ( $R^2 = 0.75$ ,  $p < 0.01$ ), 尤其在藻降解的 0-3 天其比例增加较快。类酪氨酸组分 C3 和 C4 比例整体变化趋势不显著, 经历了先降低后增加而后再降低的趋势。

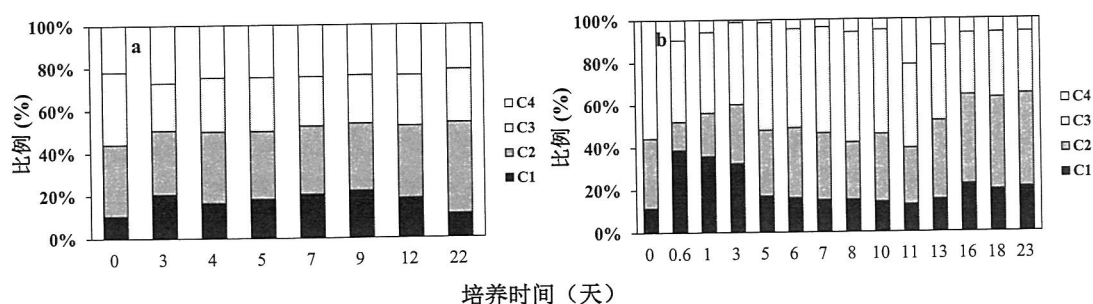


图 6.5 平行因子分析得到的四个组分 C1-C4 比例 (a: 黑暗组; b: 光照组) 随培养时间的变化

Figure 6.5 Temporal changes in the percentages of the four PARAFAC components C1-C4 under dark (a) and light (b) incubations

### 6.3.3 超高分辨率质谱参数的变化

光照培养第 0 和 23 天时 DON 分子组成各参数变化如表 6.1 所示。与第 0 天相比, DBE、DBE/C、DBE/H、DBE/O、 $AI_{mod}$  和  $AI_{mod-w}$  在培养第 23 天降低, 而其他各参数如 H/C、O/C、N/C、 $DBE_w$ 、 $C_w$ 、 $O/C_w$ 、 $H/C_w$ 、 $N/C_w$  增加。DON 的平均核质比由 475.4634 增加至 571.28, N/C 由 0.054 增加至 0.060,  $N/C_w$  由 0.01 增加至 0.03。

表 6.1 光照培养第 0 和 23 天时 DON 分子组成各参数的变化

Table 6.1 Changes in the molecular composition of DON upon natural light exposure of 0 and 23 days

DON 组成参数	第 0 天	第 23 天
DBE	16.02	11.52
H/C	0.93	1.29
O/C	0.25	0.44
N/C	0.054	0.060
$AI_{mod}$	0.55	0.25
DBE/C	0.60	0.43
DBE/H	0.71	0.38
DBE/O	2.72	1.09
Avg m/z	475.46	571.28
$C_w$	6.34	9.80
$O/C_w$	0.06	0.21
$H/C_w$	0.22	0.57
$N/C_w$	0.01	0.03
$AI_{mod-w}$	0.13	0.12
$DBE_w$	3.69	4.30

由于第 0 天取样时藻代谢刚刚开始，培养体系内 DON 以少量木质素、稠环芳香结构、不饱和碳氢化合物等为主要组分（由于 FT-ICR MS 数据未扣除纯水空白，部分可能为蒸馏水固有的有机物质）。培养第 23 天，藻的代谢导致大量新的含氮化合物的产生，如蛋白质和氨基酸、单宁等比例增加，而木质素、不饱和碳氢化合物、稠环芳烃等化合物比例降低（图 6.6 和表 6.2）。

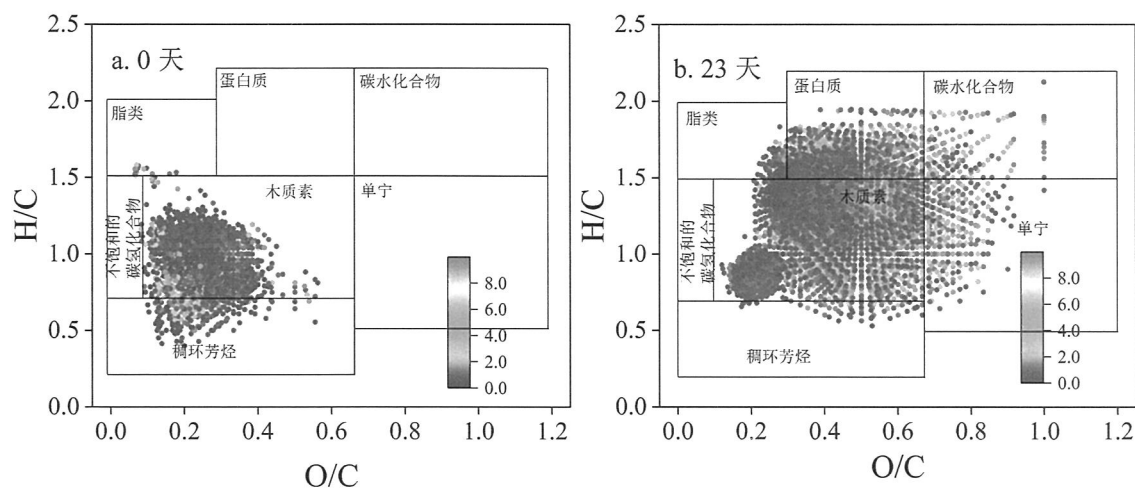


图 6.6 光照培养不同时间下 DON 组成的 Van Krevelen 图 (a: 0 天; b: 10 天; c: 31 天)

Figure 6.6 Van Krevelen diagrams of DON components upon natural light exposure of 0 (a) and 23 (c) days

表 6.2 自然光照下第 0、23 天时 DON 各含氮组分分子式数量的变化

Table 6.2 Changes in the number and total relative abundance as well as the percentages of each class of N-containing formulas subcategorized by van Krevelen (VK) plots upon natural light exposure of 0 and 23 days

含氮组分	含氮分子式数量 (比例%)		含氮分子式总相对丰度 (比例%)	
	第 0 天	第 23 天	第 0 天	第 23 天
脂肪	13 (1)	93 (1)	76 (4)	133 (0)
蛋白质和氨基酸	0 (0)	1083 (17)	0 (0)	3542 (12)
木质素	1235 (84)	4521 (71)	1732 (83)	24596 (81)
碳水化合物	0 (0)	118 (2)	0 (0)	257 (1)
不饱和碳氢化合物	11 (1)	0 (0)	15 (1)	0 (0)
稠环芳烃	200 (14)	72 (1)	252 (12)	102 (0)
单宁	0 (0)	281 (4)	0 (0)	920 (3)
其他	7 (0)	177 (3)	6 (0)	834 (3)

## 6.4 讨论

有研究显示,在光照度和温度较高时(如 $>4300\text{ lx}$ 和 $23\text{ }^{\circ}\text{C}$ ),浮游藻类(铜绿微囊藻)在灭活源水中呈生长趋势,而在低光照度下( $<2000\text{ lx}$ ),呈现衰亡趋势(陈雪初等,2007)。本文中,黑暗培养下浮游藻类同样呈衰亡趋势,而光照培养期间,藻经历了先死亡降解而后复活的过程。夏日高温高光照度条件下藻的初期衰亡可能由于蒸馏水培养而缺乏初期生长所需的营养物质,随着藻的自身降解及理想的光照温度条件,藻开始复活生长。

值得注意的是,光照培养下在藻复活期间 DOC 浓度仍保持线性增加趋势,速率为 $0.44\text{ mg L}^{-1}\text{ day}^{-1}$ ,而 DON 浓度在藻复活之后增速减缓,速率由 $0.35\text{ mg L}^{-1}\text{ day}^{-1}$ (0-3 天)降为 $0.03\text{ mg L}^{-1}\text{ day}^{-1}$ (第 3 天以后),表明藻的生长过程 DON 释放速率比降解过程要慢(约 12 倍)。平行因子分析的结果进一步表明,藻复活的一段时间(3-10 天),类腐殖酸组分 C1 和类色氨酸组分 C2 浓度降低,而此时无机氮已处于几乎耗尽的状态,表明在特定条件下蓝藻能够吸收利用类腐殖酸组分 C1 和类色氨酸组分 C2 维持自身生长,表现出顽强的生命力。Zhang 等(2015)指出夏季较低的 DON 浓度可能与浮游藻类和细菌对 DON 的吸收有关,而当浮游植物死亡降解、叶绿素  $a$  消失时, DON 浓度开始增加,本文的结果一定程度上支持了这一观点。Petroni 等(2009)对澳大利亚沿海河口 10 个子流域的 DOC 和 DON 的生物可利用性的研究发现, DON 降解的比例(4%-44%)高于 DOC(1%-17%), DOC 多为疏水(腐殖质)组分,而 DON 疏水与亲水组分二者均有。并且, DOC 降解与疏水组分含量正相关,而 DON 降解与亲水的 DON 组分含量呈正相关,与亲水 DOC/DON 呈负相关,暗示出不稳定 DON 组分的非腐殖质来源(Petroni et al., 2009)。因此,本文中浓度持续增加的 DOC 可能多为难以被浮游生物利用的疏水腐殖质组分。

浮游生物群落对 DON 的吸收和释放往往同时存在。运用稳定氮同位素( $^{15}\text{N}$ )标记的 DON ( $\text{DO}^{15}\text{N}$ )和  $\text{NH}_4^+$  ( $^{15}\text{NH}_4^+$ )对沿海水体浮游生物和桡足类浮游动物 DON 吸收和释放的研究发现,叶绿素  $a$  浓度高时桡足类浮游动物促进了  $\text{DO}^{15}\text{N}$  的释放,并且有时  $^{15}\text{N}$  标记的 DON 释放量多于  $^{15}\text{N}$  同化吸收量(Hasegawa et al., 2000a)。微小浮游动物以及与浮游植物的组合( $<94\text{ }\mu\text{m}$ )对  $\text{DO}^{15}\text{N}$  的释放均具有重要的影响(Hasegawa et al., 2000a, b)。本试验因采用太湖浮游藻类模拟自然光照下的生长过程,培养体系内可能有微小浮游动物存在,一定程度上促进了 DON

的释放。

本文的结果证实太湖蓝藻对 DON 吸收与释放是其维持生长重要机制。从第 23 天 FT-ICR MS 的分析结果可以看出,蛋白质和氨基酸、碳水化合物在 DON 中的比例显著提升,而这两个组分被认为比其他组分有更高的生物可利用性(Lusk and Toor, 2016b; Li et al., 2018)。因此,太湖蓝藻在自然光照下代谢产生的 DON 还可能被藻自身再次利用。研究表明,太湖水体溶解态有机质的类色氨酸组分的主要来源是内源自生而非来自周边河流输入(Yao et al., 2011)。在海洋生态系统中,藻类和细菌群落对新产生的 DON 的吸收速率甚至与 DON 释放速率相当(Bronk and Glibert, 1993; Bronk et al., 1994)。太湖北部湖区每年夏季和秋季期间氮限制状况加剧(Xu et al., 2010b),因此,可以推断藻自身降解再生的 DON 可能在支撑和维持藻生长中扮演着重要的角色,尤其是在其即将消亡之前的一段时期。

## 6.5 结论

自然光辐射下太湖浮游藻类的模拟培养表明:

(1) 藻经历先死亡降解又复活生长的过程。降解过程 DON 的释放速率比生长过程快(约 12 倍),培养第 18 天,培养体系内 DIN 和  $\text{PO}_4^{3-}$  浓度呈几乎耗尽的状态,而 DON 浓度增加到培养开始时的 271%,但显著低于此时的黑暗控制组的 DON 浓度。

(2) 藻降解期间(0-3 天),荧光组分 C1-C3 浓度均逐渐增加,而藻复活及生长期间,类腐殖酸 C1 和类色氨酸 C2 组分先降低后缓慢增加,证明藻自身降解产生的 DON 在特定情况下能够维持藻的生长。光照下藻代谢最终还导致 DON 双键当量与腐殖化指数降低,蛋白组分比例增加。



## 第7章 太湖典型自然和人为来源DON的生物可利用性

### 7.1 引言

近年来,许多研究涉及了不同来源 DON 的生物可利用性,对揭示湖泊等自然水体 DON 的生态环境效应及其影响机制具有重要意义。Seitzinger 等(2002)研究了典型自然来源(森林)和人为来源(动物牧草、城市暴雨径流) DON 的河口浮游生物可利用性,结果表明城市径流 DON 的生物可利用性最高( $59 \pm 11\%$ ),森林( $30 \pm 14\%$ )和动物牧草( $23 \pm 19\%$ )较低。Killberg-Thoreson 等(2013)运用生物测试法研究了城市径流、土壤径流和工业废水 3 种人为来源 DON 的生物可利用性,其结果显示,培养第 5-7 天,这些不同来源 DON 添加组叶绿素 *a* 浓度均显著高于空白添加组。Hounshell 等(2017)比较了鸡排泄物、火鸡排泄物、污水处理厂出水、富集的河流 DOM 对浮游植物生长的促进情况,发现鸡排泄物对浮游植物生长的促进作用显著高于无机氮磷控制组,而其他来源 DOM 添加组与无机氮磷控制组差异不显著。其研究进一步显示,鸡排泄物中生物易降解的非腐殖含氮荧光组分(氮峰)可能是促进浮游植物生长的主要原因。Sun 等(2017)的研究发现动物饲养场废水和绵羊废水储存泻湖中的生物可利用 DON (ABDON) 分别占总 DON 的 45%-79%和 36%-79%,并指出在考虑畜禽废水的富营养化潜力时,除了明显的罪魁祸首  $\text{NH}_4^+$ 和  $\text{NO}_3^-$ 外,还应包括 DON。此外,有研究证实污水厂出水及沉积物释放的 DON 中亲水组分占主导,其生物可利用性比疏水组分更高(Qin et al., 2015; 翟天恩, 2017; Feng et al., 2019)。这些研究均表明人类活动如城市生活、农业生产、动物养殖等及沉积物释放等内源过程会增加生物可利用性较高的 DON 向湖泊水体的输出。

位于经济高度发达、人口密集区域的大型富营养化浅水湖泊太湖,由于高度的空间异质性和强烈的人类活动干扰, DON 来源众多,各种内外源交织混合。总体而言,太湖氮的主要来源为周边工农业生产废水和城镇农村的生活污水,此外,藻型生态系统氮磷营养盐的内源循环使其存在自我强化机制(杨柳燕 等, 2019)。近年来,随着太湖水体富营养化治理力度不断加大,控源截污、湖泊生态修复和流域管理力度的不断增强,湖泊水体总氮和无机氮水平得到有效削减,然而 DON 的浓度却反而呈现增加的趋势。流域外源和湖泊自生来源的 DON 能否

作为可利用的氮素促进浮游植物生长,哪些组分在促进浮游植物生长等问题亟待研究。

前文第 3 章提到,受人类活动影响下的外部来源(如农业径流、生活污水)以及自生来源中的藻和水草降解含有较高比例的易降解 DON 组分。此外,太湖流域内大量工业生产活动产生的化工污水中的 DON 对浮游藻类生长促进情况仍然未知。开展农业、工业、生活以及藻降解、水草降解五种典型来源 DON 的生物可利用性研究对揭示 DON 在太湖富营养化中的潜在贡献具有重要意义。

## 7.2 材料与方法

### 7.2.1 点位描述与样品采集

采集太湖 DON 典型自然来源和人为来源水样,其中自然来源包括藻降解、水草降解,人为来源包括农业径流以及污水处理厂处理过的生活污水、化工污水。2018 年 9 月使用 5 L 高密度聚乙烯(HDPE)塑料桶采集城市污水处理厂处理过的生活污水、化工园区污水以及雨后稻田的农业径流,采样点描述见表 7.1。样品采集后带回实验室先后使用 0.7  $\mu\text{m}$  Whatman GF/F 滤膜(GE Healthcare, USA, 预先在马弗炉 450 $^{\circ}\text{C}$ 灼烧 2 h)和 0.22  $\mu\text{m}$  Millipore (MilliporeSigma, Burlington, USA)滤膜过滤, - 20 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存,用于 DON 添加培养试验。藻降解和水草降解水样与章节 3.2.1 中相同,不同来源水样的基本理化性质见表 7.2。

2018 年 9 月 27 日采集中国科学院太湖湖泊生态系统研究站栈桥附近太湖表层(< 0.5 m)水样 20 L,水样经 150  $\mu\text{m}$  Nitex 尼龙网预过滤去除大型的浮游动物和漂浮物后,装于酸洗(10% 盐酸)后的 HDPE 塑料桶,带回南京湖泊与环境国家重点实验室 24 小时内开展生物培养实验。

表 7.1 采样点描述

Table 7.1 Sampling sites and descriptions

DON 来源	采样日期	经度 (E°)	纬度 (N°)	描述
化工污水	2018/09	119.94203	32.12556	经泰兴滨江污水处理厂处理过的化工园区废水
农业径流	2018/09	120.50333	31.57556	稻田流出水
生活污水	2018/09	118.80501	31.95937	经南京大厂污水处理厂处理过的生活污水
藻降解	2016/10/24	120.21383	31.41933	浮游藻类采自太湖站栈桥
水草降解	2016/10/15	120.21578	31.41962	水草 ( <i>Myriophyllum aquaticum</i> ) 降解水
太湖	2018/09/27	120.21383	31.41933	太湖站栈桥水样

### 7.2.2 DON添加下的生物培养试验

采用生物测试法测定不同来源 DON 的生物可利用性, 试验流程图如图 6.1 所示。培养设置太湖梅梁湾原水的各不同来源 DON 添加组、与各来源 DON 添加组对应的等量无机氮磷控制组以及空白添加组, 添加后培养体系 DON 浓度统一为  $0.8 \text{ mg L}^{-1}$ , 约为太湖此时 DON 浓度 ( $0.21 \text{ mg L}^{-1}$ ) 的 4 倍。培养使用系列 1 L 高密度聚乙烯 (HDPE) 方形培养瓶于光照培养箱 (GZX-300BSH-III, CIMO, 上海) 中进行, 根据太湖原水 DON 浓度、各不同来源水样 DON 浓度以及最终培养体积 600 mL 计算体积配比。培养温度为  $25^{\circ}\text{C}$ , 与采样时太湖水温接近, 光照黑暗循环为 16: 8 h。各添加组及控制组均设置三个平行。培养第 0、1、2、3、5 天每天取出 100 mL 水样, Whatman GF/F 滤膜 (预先在马弗炉  $450^{\circ}\text{C}$  灼烧 2 h) 过滤,  $-20^{\circ}\text{C}$  冷冻保存, 三个月内完成样品分析。

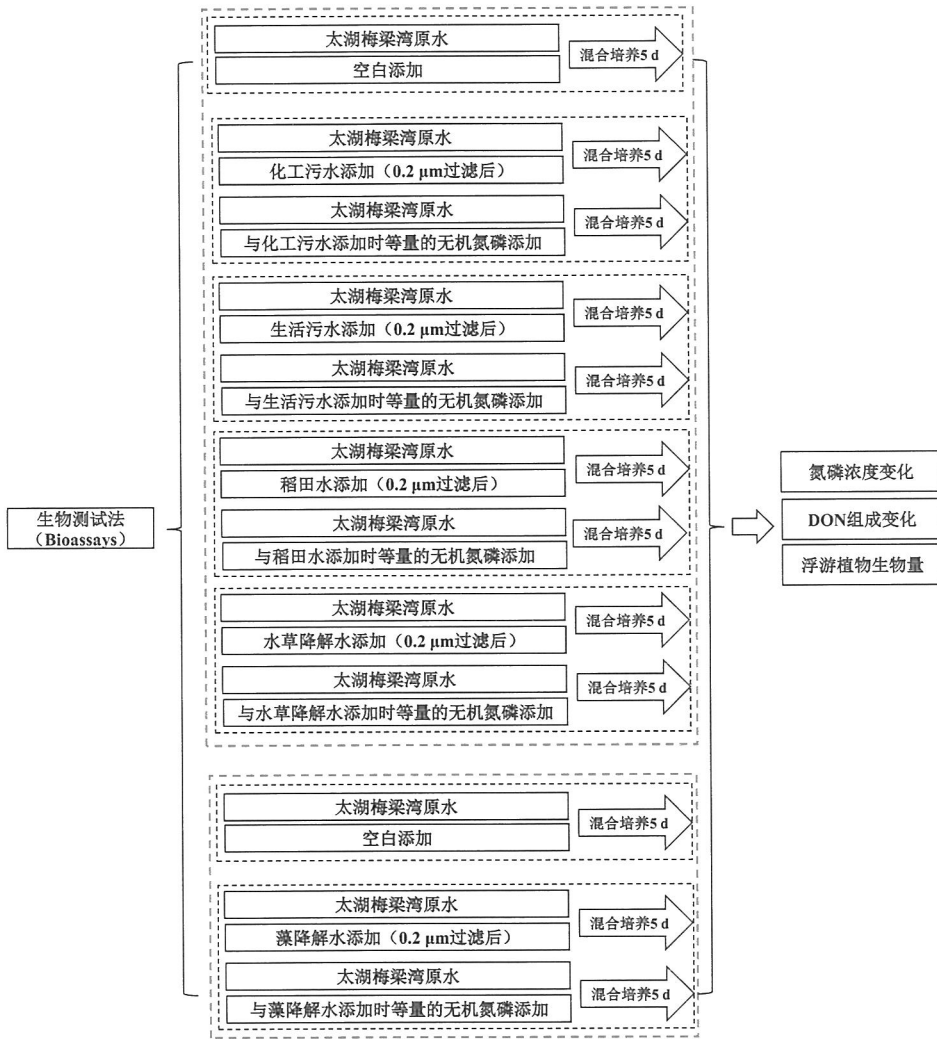


图 7.1 生物培养试验流程图

Figure 7.1 A flow chart of the experiment design

### 7.2.3 营养盐和叶绿素浓度测定

测定培养第 0、1、2、3、5 天样品的 DOC、TDN、TDP、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{NO}_2^-$ 、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$  及 Chl *a* 浓度，测定方法参见章节 2.2.2。采用差减法确定培养不同时间的 DON 浓度(Bronk et al., 2010)。

### 7.2.4 紫外-可见吸收光谱、三维荧光光谱参数测定

经  $0.7 \mu\text{m}$  Whatman GF/F 膜过滤后的样品一部分 (约 30 mL) 经  $0.22 \mu\text{m}$  纤维素滤膜 (MilliporeSigma, Darmstadt, Germany) 再次过滤，用以紫外-可见吸收光谱、三维荧光光谱测定培养过程中 DON 光学特性及分子组成的变化，测定及数据分析方法参见章节 3.2。

表 7.2 生物培养试验中不同来源水样及太湖水样的营养盐浓度

Table 7.2 Nutrient concentrations in the five source waters of DON and in Lake Taihu

DON 来源	TDN (mg L <sup>-1</sup> )	TDP (mg L <sup>-1</sup> )	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (μg L <sup>-1</sup> )	DON (mg L <sup>-1</sup> )	DON:TDN (%)
化工污水	36.75 ± 4.63	0.09 ± 0	0.22 ± 0.02	14.65 ± 0.31	0.01 ± 0	107 ± 1	21.87 ± 4.81	59 ± 6
农业径流	1.96 ± 0.14	0.04 ± 0.01	0.27 ± 0.01	0.27 ± 0.01	0.02 ± 0	38 ± 0	1.39 ± 0.16	71 ± 3
生活污水	8.76 ± 0.15	0.11 ± 0	2.93 ± 0.04	2.84 ± 0.07	0.31 ± 0	144 ± 2	2.68 ± 0.16	31 ± 1
藻降解	32.00 ± 1.45	5.41 ± 1.17	16.90 ± 2.94	0.36 ± 0.11	0.14 ± 0.04	4273 ± 465	14.60 ± 2.66	46 ± 9
水草降解	47.70 ± 0.71	6.56 ± 0.13	15.50 ± 2.77	1.75 ± 0.09	0.15 ± 0.01	4974 ± 1569	30.30 ± 3.49	63 ± 6
太湖	0.49 ± 0.05	0.03 ± 0	0.10 ± 0.02	0.20 ± 0	0 ± 0	17 ± 5	0.21 ± 0.01	42 ± 1

### 7.3 结果

#### 7.3.1 叶绿素和DON浓度变化

尽管各 DON 添加组叶绿素 *a* 浓度在整个培养期间与无机氮磷控制组和空白添加组差异均不显著 ( $p > 0.05$ ), 在培养第 5 天, 各 DON 添加组 Chl *a* 浓度均增加并且显著高于此时的空白添加组 (T tests,  $p < 0.01$ ), 增加值为 22.58–92.37 μg L<sup>-1</sup> (图 7.2 abcde)。经过 5 天的培养, 自然来源中, 藻降解 DON 添加组叶绿素 *a* 浓度增加值最大, 为 86.49 μg L<sup>-1</sup>, 水草降解次之, 为 76.83 μg L<sup>-1</sup>; 人为来源中, 生活污水 DON 添加组叶绿素 *a* 浓度增加值最大, 为 92.37 μg L<sup>-1</sup>, 化工污水和农业径流添加组次之, 分别为 51.55 和 22.58 μg L<sup>-1</sup>。

培养期间, 仅有稻田水 DON 添加组的 DON 浓度与无机氮磷控制组差异显著 ( $p < 0.05$ ), 稻田水和水草降解 DON 添加组的 DON 浓度与空白添加组存在显著差异 ( $p < 0.05$ )。培养第 5 天, 与空白添加组相比, DON 浓度均没有出现显著的降低 (T tests,  $p > 0.05$ ) (图 7.2 fghij)。

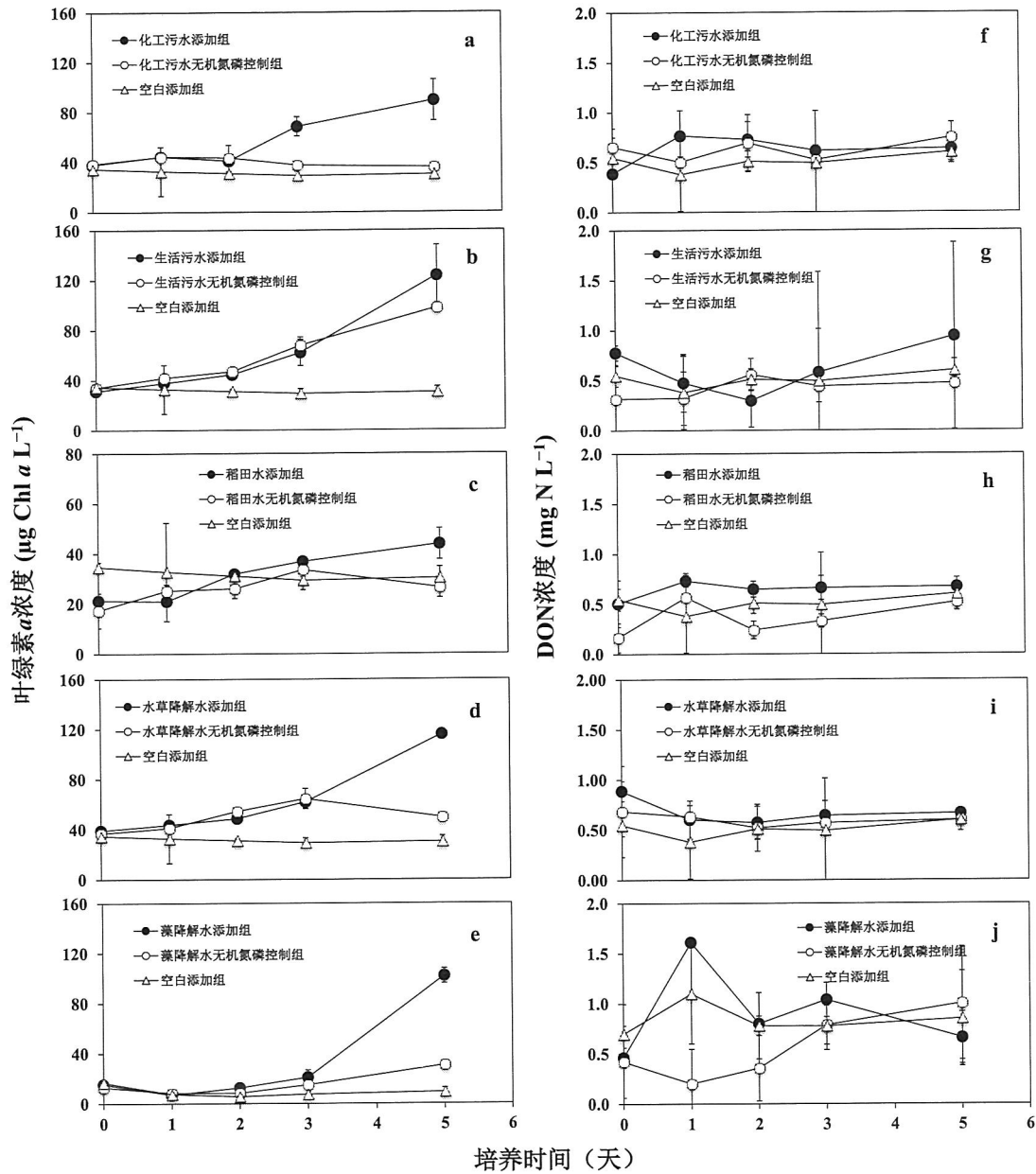


图 7.2 培养期间叶绿素 *a* 和 DON 浓度变化

Figure 7.2 Temporal changes in the Chl *a* and DON concentrations during the bioassays

### 7.3.2 TDN、TDP和无机氮磷浓度变化

培养期间,生活污水和稻田水 DON 添加组的 TDN 浓度与无机氮磷控制组差异显著 ( $p < 0.01$ ),生活污水和水草降解 DON 添加组与空白添加组差异显著 ( $p < 0.05$ )。培养第 5 天,各 DON 添加组的 TDN 浓度均降低 ( $0.06-0.44 \text{ mg L}^{-1}$ ),但与此时的空白添加组差异不显著 (T tests,  $p > 0.05$ ) (图 7.3 abcde)。生活污水、稻田水和藻降解 DON 添加组的 TDP 浓度与对应的无机氮磷控制组差异显

著 ( $p < 0.05$ ), 生活污水和水草降解 DON 添加组与空白添加组差异显著 ( $p < 0.05$ ), 培养第 5 天, TDP 浓度均降低, 降低值 ( $12.7\text{--}78.3 \mu\text{g L}^{-1}$ ) 高于无机氮磷控制组和空白添加组 (藻降解空白添加组除外) 降低值 (图 7.3 fghij)。

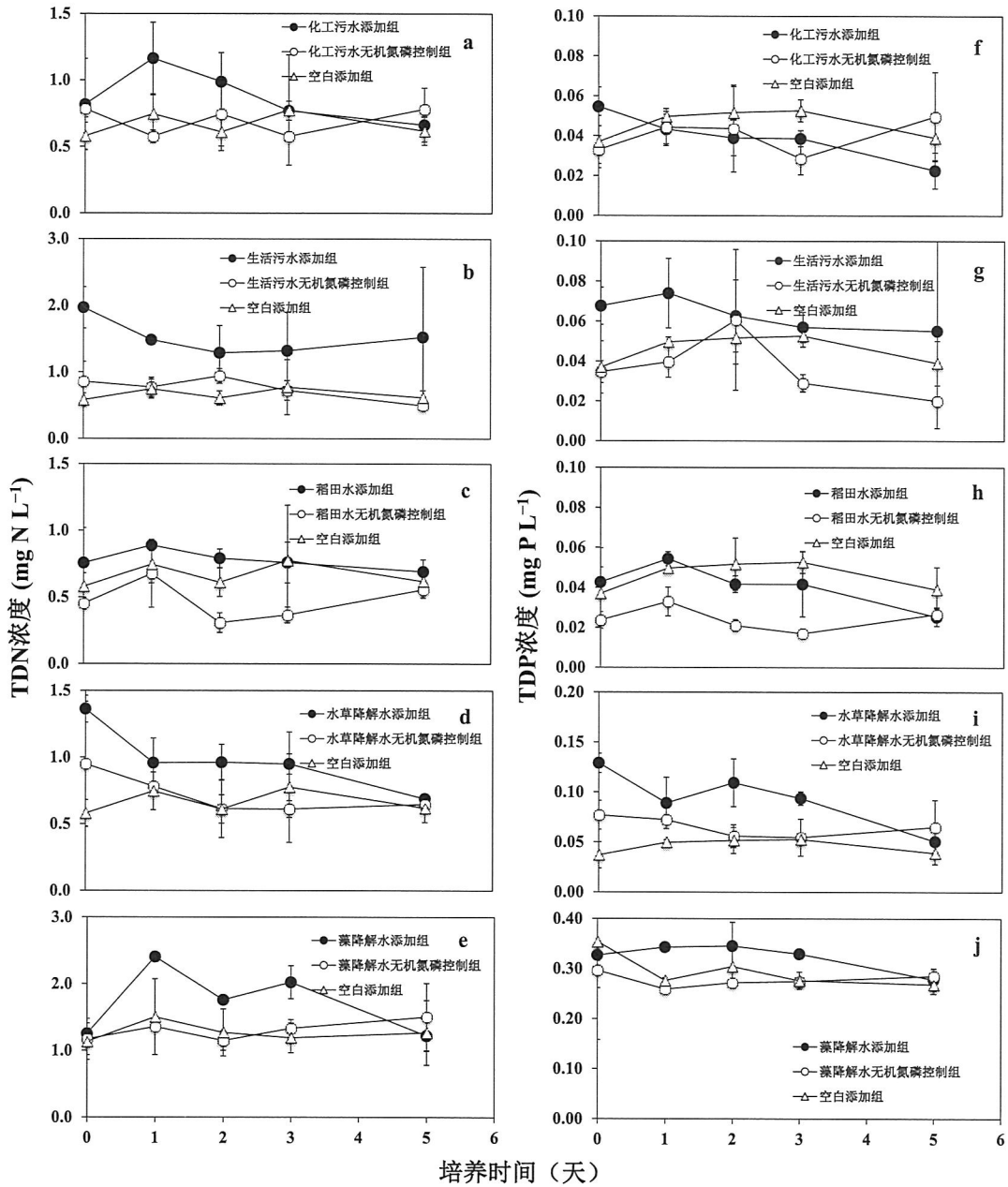


图 7.3 培养期间 TDN 和 TDP 浓度变化

Figure 7.3 Temporal changes in the TDN and TDP concentrations during the bioassays

各 DON 添加组中, 仅有藻降解水 DON 添加组的  $\text{NH}_4^+$  浓度与无机氮磷控制组差异显著 ( $p < 0.05$ ), 生活污水、藻降解和水草降解 DON 添加组的  $\text{NH}_4^+$  浓度与空白添加组差异显著 ( $p < 0.05$ )。培养第 5 天 (表 7.3), 各 DON 添加组  $\text{NH}_4^+$  浓度均降低 (降低值  $0.02\text{--}0.60 \text{ mg L}^{-1}$ ), 除化工污水添加组外, 降低值均高于对应的无机氮磷控制组 (图 7.4 abcde)。仅有生活污水 DON 添加组的  $\text{NO}_3^-$  浓度与无机氮磷控制组和空白添加组差异显著 ( $p < 0.01$ ) (图 7.4 fghij)。培养第 5 天, 化工污水 DON 添加组  $\text{NO}_3^-$  浓度降低值最大, 为  $0.38 \text{ mg L}^{-1}$ 。

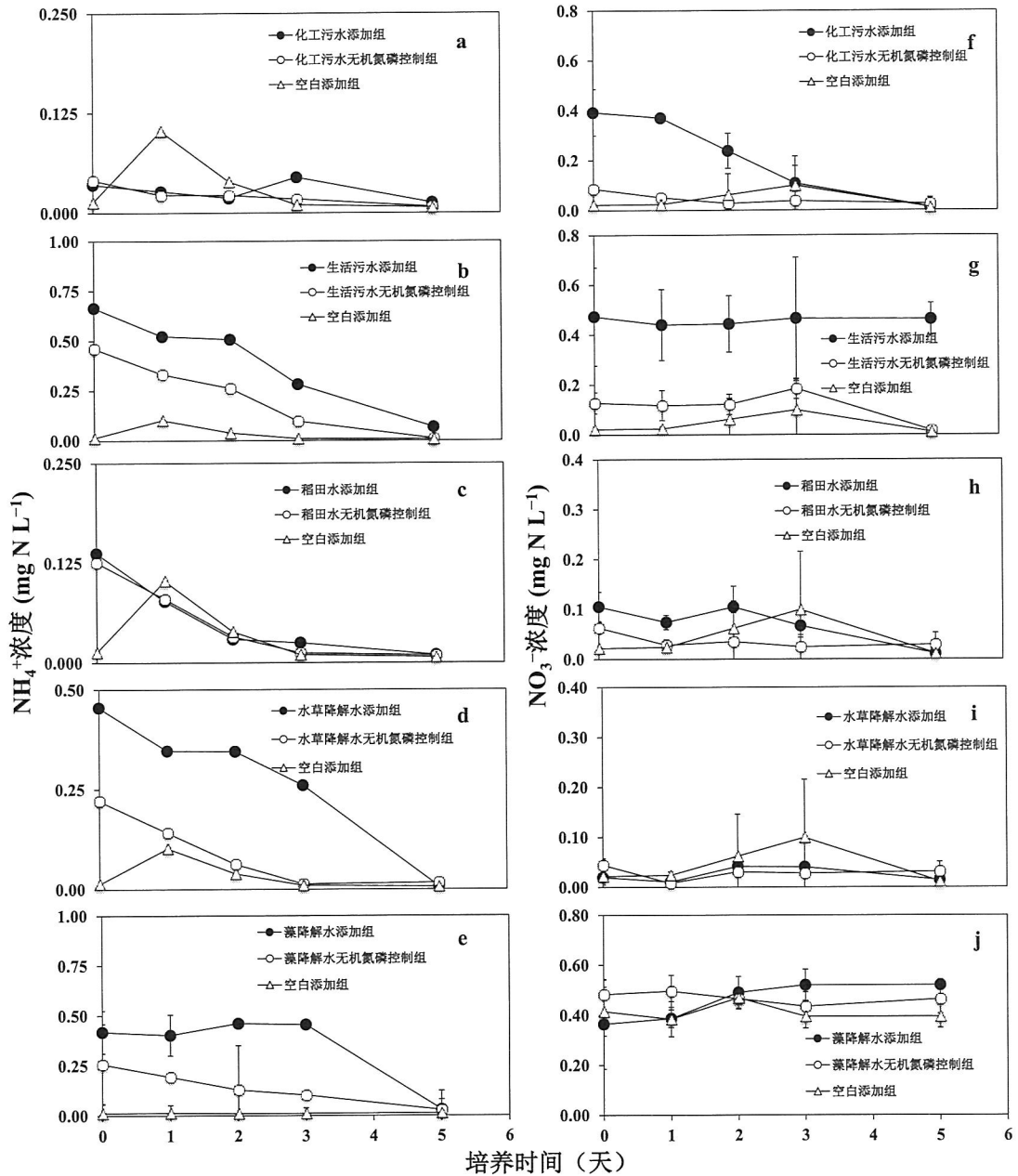


图 7.4 培养期间  $\text{NH}_4^+$  和  $\text{NO}_3^-$  浓度变化

Figure 7.4 Temporal changes in the  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_3^-$  concentrations

各 DON 添加组中, 生活污水和稻田水 DON 添加组的  $\text{NO}_2^-$  浓度与无机氮磷控制组 ( $p < 0.01$ ) 差异显著, 仅有生活污水 DON 添加组与空白添加组差异显著 ( $p < 0.01$ ) (图 7.5 abcde)。水草降解和藻降解 DON 添加组的  $\text{PO}_4^{3-}$  浓度与无机氮磷控制组 ( $p < 0.05$ ) 和空白添加组 ( $p < 0.01$ ) 差异显著。培养第 5 天 (表 7.3), 各 DON 添加组的  $\text{PO}_4^{3-}$  浓度均降低, 降低值 ( $31.56\text{--}79.22 \mu\text{g L}^{-1}$ ) 高于无机氮磷控制组 ( $13.02\text{--}34.03 \mu\text{g L}^{-1}$ ) 和空白添加组 ( $1.20\text{--}16.80 \mu\text{g L}^{-1}$ ) (图 7.5 fghij)。

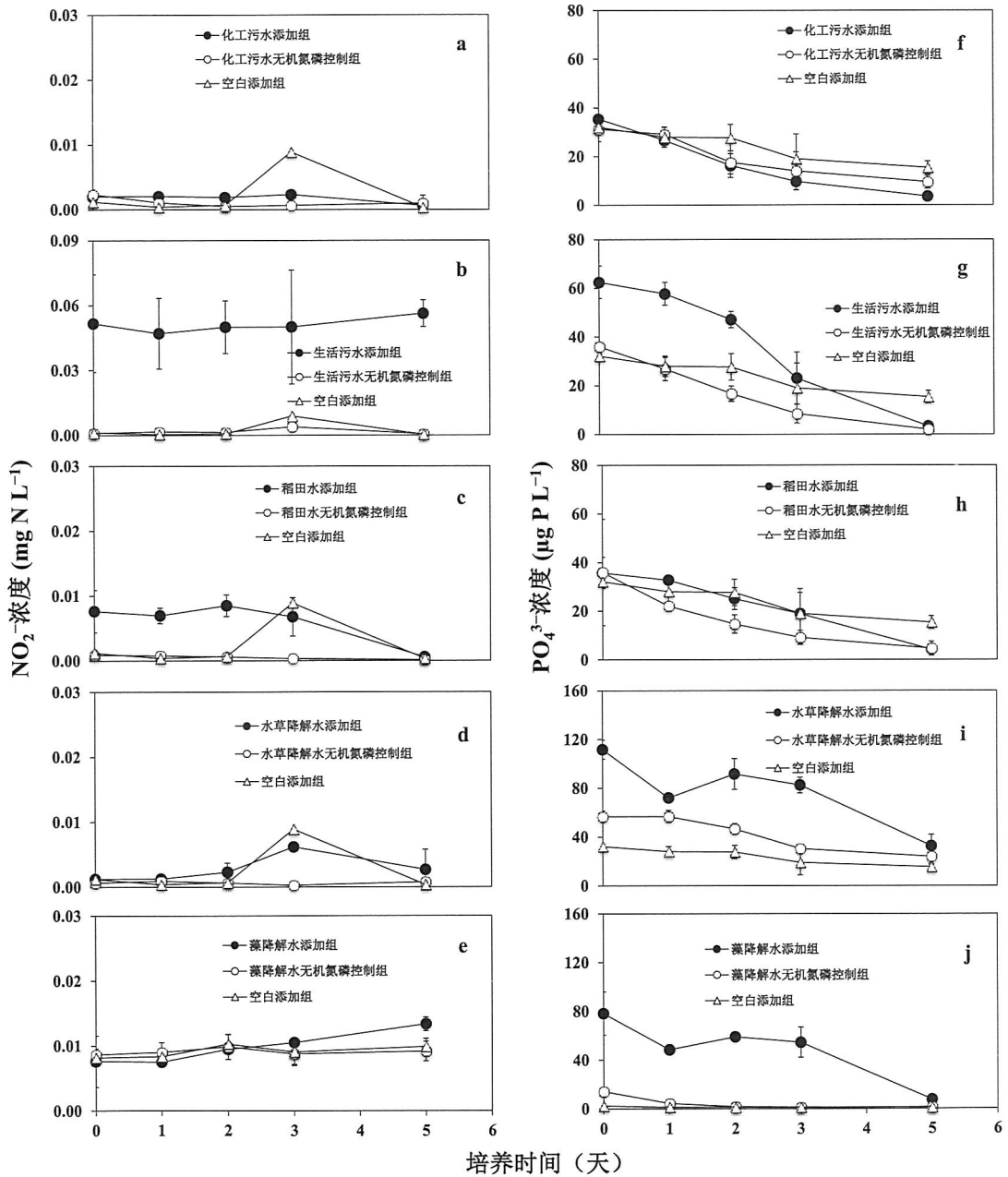


图 7.5 培养期间和  $\text{NO}_2^-$  和  $\text{PO}_4^{3-}$  浓度变化

Figure 7.5 Temporal changes in the  $\text{NO}_2^-$  and  $\text{PO}_4^{3-}$  concentrations during the bioassays

表 7.3 培养前后叶绿素 *a* 和营养盐浓度变化Table 7.3 Difference values ( $\Delta$ ) between 0 and 5 days during the bioassays for the concentrations of Chl *a* and nutrients

	Chl <i>a</i> (mg L <sup>-1</sup> )	DON (mg L <sup>-1</sup> )	TDN (mg L <sup>-1</sup> )	TDP (mg L <sup>-1</sup> )	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (μg L <sup>-1</sup> )
化工污水 添加组	51.55	0.25	-0.15	-0.03	-0.38	-0.02	-31.86
水草降解 水添加组	76.83	-0.22	-0.67	-0.08	-0.01	-0.45	-79.22
生活污水 添加组	92.37	0.17	-0.44	-0.01	-0.01	-0.60	-59.15
稻田水添 加组	22.58	0.16	-0.06	-0.02	-0.09	-0.13	-31.56
藻降解水 添加组	86.49	0.20	-0.03	-0.05	0.16	-0.39	-70.70

### 7.3.3 DOC浓度和光学参数的变化

#### 7.3.3.1 DOC浓度和紫外可见-吸收光谱参数的变化

培养期间, 稻田水、水草降解和藻降解 DON 添加组的 DOC 浓度与对应的无机氮磷控制组差异显著 ( $p < 0.05$ ), 仅有藻降解 DON 添加组的 DOC 浓度与空白添加组差异显著 ( $p < 0.01$ )。培养第 5 天, 除藻降解 DON 添加组外, 各 DON 添加组的 DOC 浓度均增加, 增加值为 0.54–0.95 mg L<sup>-1</sup>, 均低于空白添加组 DOC 的增加值 (1.42 mg L<sup>-1</sup>) (图 7.6 abcde)。生活污水、稻田水和水草降解 DON 添加组的  $a(250):a(365)$ 与无机氮磷控制组差异显著 ( $p < 0.01$ ), 稻田水和水草降解 DON 添加组的  $a(250):a(365)$ 与空白添加组差异显著 ( $p < 0.05$ )。培养第 5 天, 除藻降解 DON 添加组外, 各 DON 添加组  $a(250):a(365)$ 值均升高, 升高值除化工污水添加组外 (0.23–0.56) 均低于对应的空白添加组 (1.31) (图 7.6 fghij)。

各 DON 添加组中, 生活污水、稻田水和水草降解 DON 添加组的  $S_{275-295}$ 与无机氮磷控制组和空白添加组差异显著 ( $p < 0.01$ )。培养第 5 天 (表 7.4), 除化工污水 DON 添加组增加外, 各 DON 添加组  $S_{275-295}$ 均降低 (图 7.7 abcde)。稻田水和水草降解 DON 添加组的  $SUVA_{254}$ 与无机氮磷控制组以及空白添加组差异显著 ( $p < 0.01$ )。培养第 5 天, 除藻降解 DON 添加组外, 各 DON 添加组  $SUVA_{254}$ 均降低 (0.03–0.15 L mg<sup>-1</sup> m<sup>-1</sup>), 降低值低于空白添加组 (0.3 L mg<sup>-1</sup> m<sup>-1</sup>) (图 7.7 fghij)。

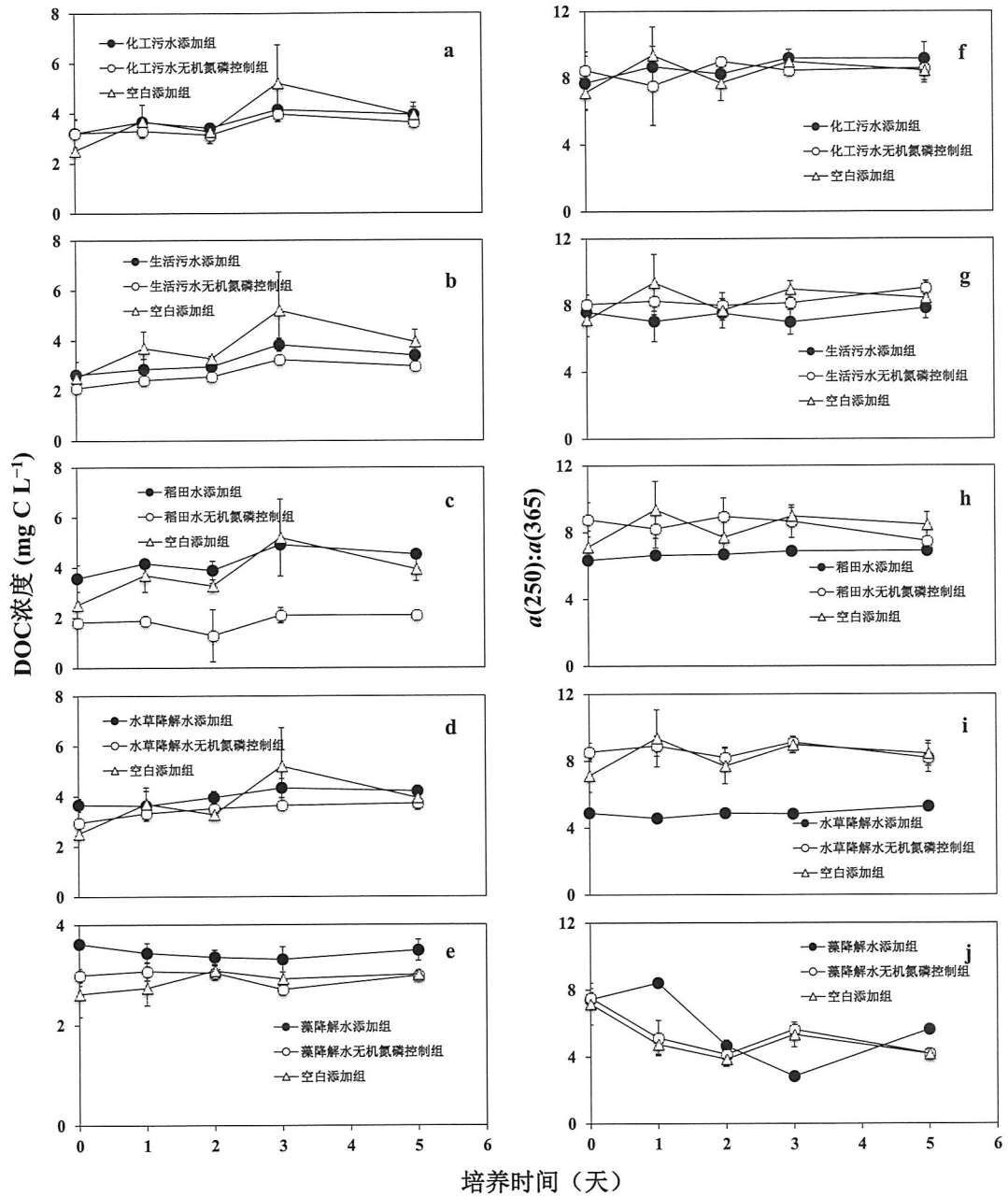
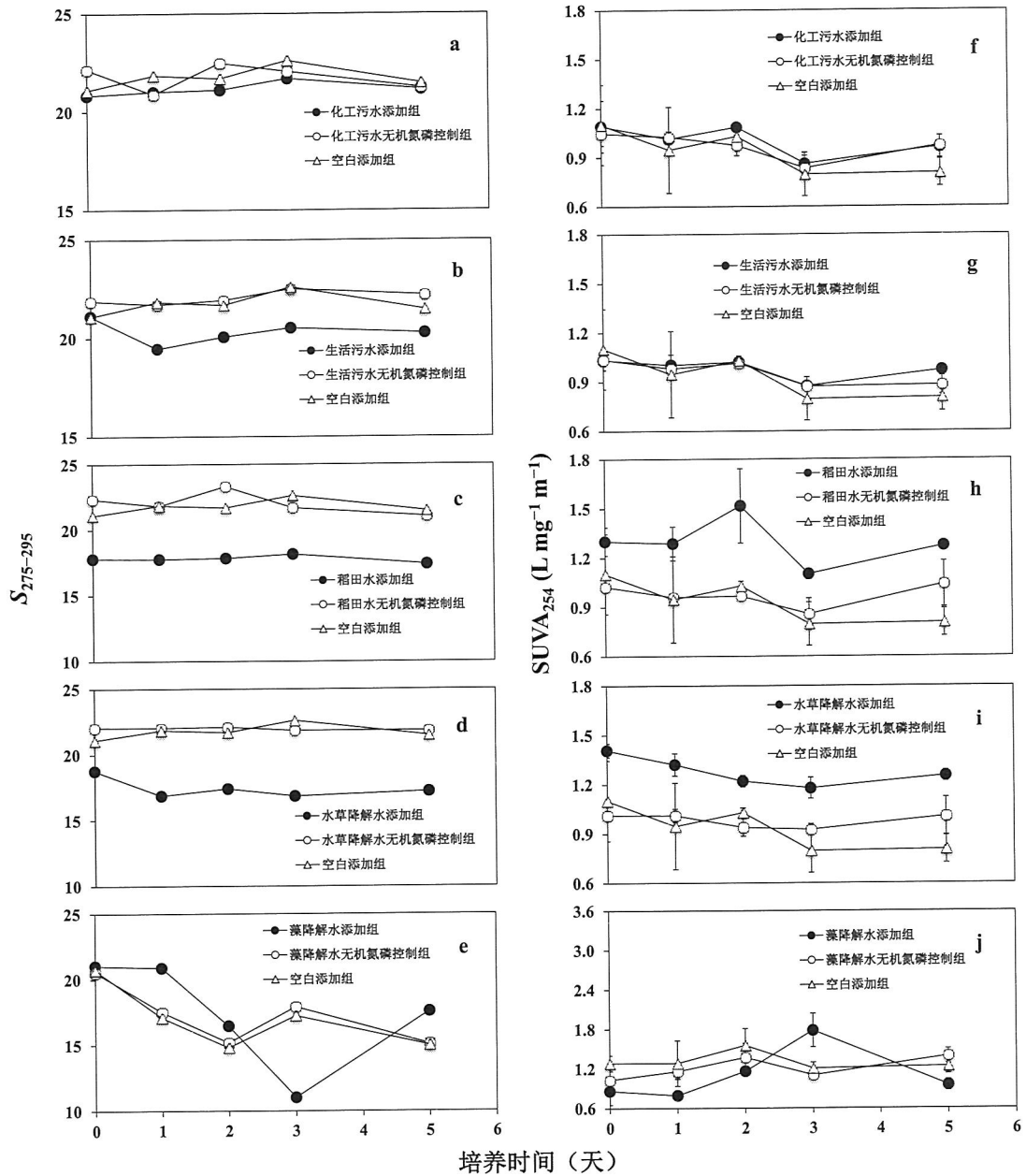


图 7.6 培养期间各培养组 DOC 浓度和  $a(250):a(365)$  的变化

Figure 7.6 Temporal changes in the concentrations of DOC and  $a(250):a(365)$  during the bioassays

图 7.7 培养期间  $S_{275-295}$  和  $SUVA_{254}$  变化Figure 7.7 Temporal changes in the  $S_{275-295}$  and  $SUVA_{254}$  during the bioassays

## 7.3.3.2 三维荧光光谱参数的变化

通过平行因子分析得到 CDOM/CDON 的四个荧光组分与章节 5.4.2 中相同 (图 5.5): C1 (Ex/Em = 235 (355)/442) 为陆源类腐殖酸组分; C2 (Ex/Em = 275/340) 为类色氨酸组分; C3 和 C4 (Ex/Em = 275/310) 为类酪氨酸组分。

培养期间, 除化工污水 DON 添加组外, 各 DON 添加组的 C1 组分浓度与无机氮磷控制组差异显著 ( $p < 0.01$ ); 水草降解、稻田水、以及藻降解 DON 添加

组与空白添加组差异显著 ( $p < 0.05$ )。培养第 5 天 (表 7.4), 除藻降解 DON 添加组降低外, 各 DON 添加组的 C1 组分浓度均增加 (图 7.8 abcde)。水草降解、稻田水 DON 添加组的 C2 组分浓度与无机氮磷控制组差异显著 ( $p < 0.05$ ), 仅有水草降解 DON 添加组与空白添加组的 C2 浓度差异显著 ( $p < 0.05$ ) (图 7.8 fghij)。

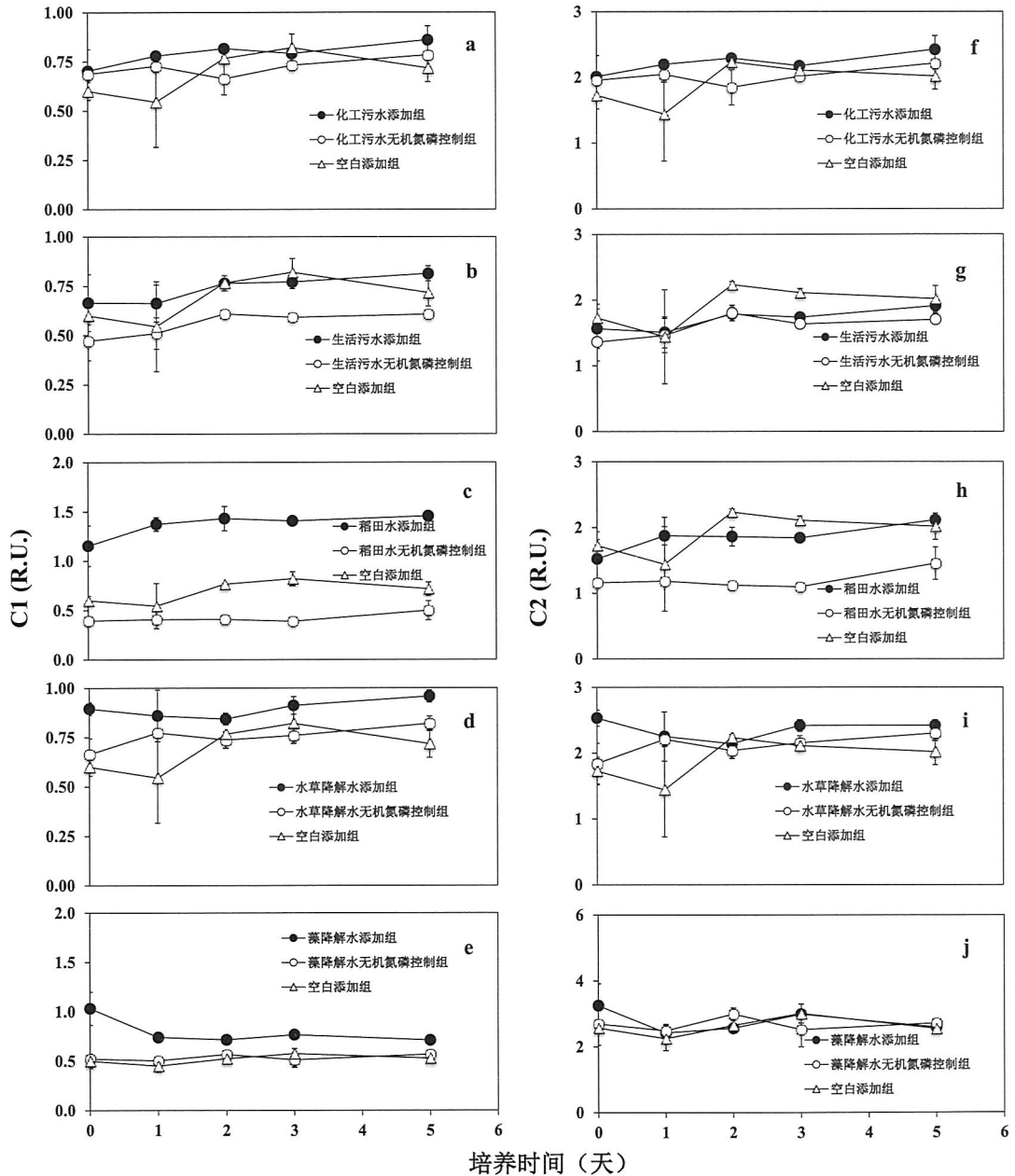


图 7.8 平行因子分析得到的两个荧光组分 C1 和 C2 随培养时间的变化

Figure 7.8 Temporal changes in the concentrations of the PARAFAC components C1 and C2 during the bioassays

培养期间, 仅有稻田水 DON 添加组的 C3 和 C4 组分浓度与无机氮磷控制组差异显著 ( $p < 0.05$ ), 各 DON 添加组的 C3 和 C4 组分浓度与空白添加组差异均不显著 ( $p > 0.05$ ) (图 7.9)。

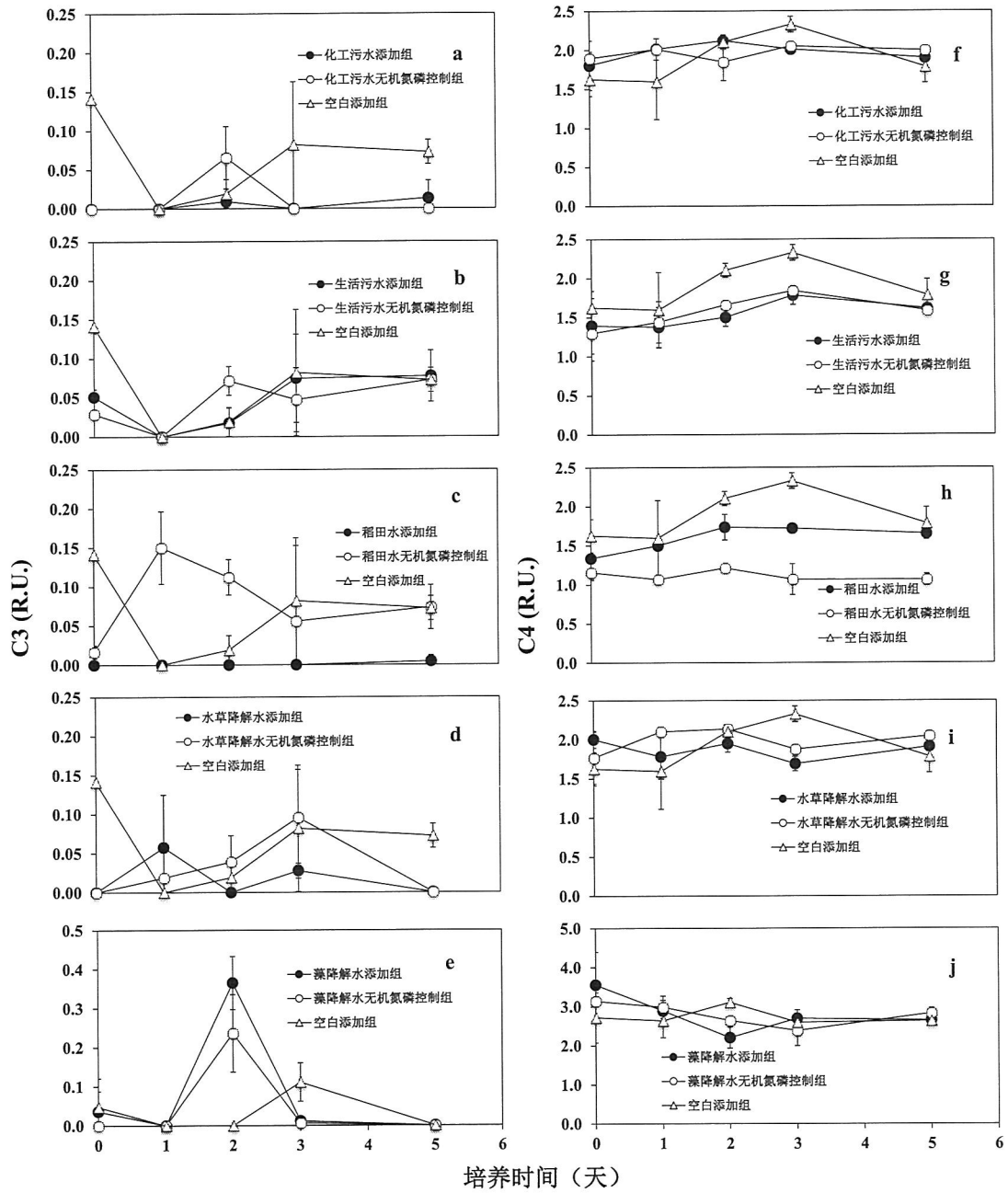


图 7.9 平行因子分析得到的两个荧光组分 C3 和 C4 随培养时间的变化

Figure 7.9 Temporal changes in the concentrations of the PARAFAC components C3 and C4 during the bioassays

表 7.4 培养前后紫外-可见吸收和三维荧光光谱各参数差值 ( $\Delta$ )Table 7.4 Difference values ( $\Delta$ ) between 0 and 5 days during the bioassays for the UV-Vis absorbance and 3D-EEMs fluorescence spectroscopy parameters

	DOC (mg L <sup>-1</sup> )	$a(350)$ (m <sup>-1</sup> )	$a(250):a(365)$	$S_{275-295}$	SUVA <sub>254</sub> (L mg <sup>-1</sup> m <sup>-1</sup> )	C1 (R.U.)	C2 (R.U.)	C3 (R.U.)	C4 (R.U.)
化工污水 添加组	0.72	-0.03	1.45	0.32	-0.13	0.16	0.41	0.01	0.09
水草降解 水添加组	0.54	-0.01	0.39	-1.56	-0.15	0.06	-0.11	0.00	-0.09
生活污水 添加组	0.76	0.08	0.23	-0.85	-0.06	0.15	0.35	0.03	0.22
稻田水添 加组	0.95	0.17	0.56	-0.40	-0.03	0.30	0.59	0.00	0.32
藻降解水 添加组	-0.13	0.22	-1.81	-3.44	0.09	-0.32	-0.66	-0.04	-0.91

#### 7.4 讨论

浮游植物可以利用包括有机氮磷在内的多种氮磷形态作为自身的营养物质维持生长, 并且其对氮的吸收受浮游植物群落组成以及周围可利用的氮形态的浓度综合控制。研究表明, 在季节性蓝藻水华为主导富营养化浅水湖泊中,  $\text{NH}_4^+$  和  $\text{PO}_4^{3-}$  通常首先被浮游植物利用(吴丰昌 等, 2010), 但能被直接利用的  $\text{NH}_4^+$  仅占水体总氮的一小部分, DON 成为水体  $\text{NH}_4^+$  的重要补偿途径之一(黄丽娟 等, 2005; 吴丰昌 等, 2010)。本研究中, 各来源 DON 添加组叶绿素  $a$  浓度在培养第 5 天均显著高于对应的无机氮磷控制组, 表明各来源中溶解态有机质组分的存在显著促进了浮游植物生长, 并且  $\text{NH}_4^+$  和  $\text{PO}_4^{3-}$  在 0-3 天被浮游植物快速利用, 在第 3-5 天处于几乎耗尽的状态, 而 DON 在第 3-5 天可能发挥了更重要的作用, 作为浮游植物营养物质的重要补充。

DON 中含有众多的不稳定含氮组分, 尤其是受人类影响下的外部来源(如生活污水和农业径流)以及自生来源(如藻降解和水草降解)中不稳定含氮组分的比例较高(详见第 3 章)。在 10 种不同来源的 DON 中(详见第 3 章), 生活污水 DON 的  $H/C_w$  最高,  $AI_{\text{mod-w}}$ 、分子质量和  $DBE_w$  较低, 表明不稳定 DON 组分比例较高。 $AI_{\text{mod}}$  较低的 DON 组分通常被浮游生物首先利用, 留下  $AI_{\text{mod}}$  较高的组分(Li et al., 2018), 因而人为来源中的生活污水表现出最强的生物可利用性

(图 7.2 b)。此外,太湖藻降解和水草降解来源的溶解态有机质在以往的研究中表现出很强的生物可利用性(Zhang et al., 2013b)。本研究表明,藻降解 DON 的平均分子质量、DBE 和  $AI_{mod}$  最低,而  $N/C$ 、 $N/C_w$  和丰度权重下的含氮分子式比例最高,暗示藻降解来源的溶解态有机质中 DON 的比例及不稳定性也较高(详见第 3 章),本节证实了前述的推测,即藻降解 DON 具有较高的生物可利用性(图 7.2 e)。

研究表明,经过 24 小时的生物测试法培养,很大比例的一类脂肪族和类蛋白的含氮化合物被去除,而类木质素化合物组分被保留,同时又有一些其他化合物的产生(Mesfioui et al., 2012; Osborne et al., 2013)。本研究中,藻降解 DON 添加组各荧光组分(C1-C4)浓度至培养第 5 天均降低,且类腐殖酸组分 C1、类色氨酸组分 C2、类酪氨酸组分 C4 的降低值高于空白添加组,表明太湖浮游植物能够利用藻降解产生的多种有机质组分维持自身生长。太湖梅梁湾等区域每年夏秋季节蓝藻水华的维持受到氮水平的限制,而本研究的结果暗示浮游藻类自身降解产生的 DON 可能是蓝藻水华维持的重要原因。此外,水草降解 DON 添加组类色氨酸组分 C2 及类酪氨酸组分 C4 浓度降低值也显著高于空白添加组( $p < 0.05$ ),表明水草降解 DON 中的一些含氮荧光组分也能够被浮游植物吸收利用。而培养第 5 天,人为来源 DON 添加组的荧光组分 C1-C4 浓度均未表现出显著的降低。翟天恩等(2017)的研究表明工业废水在促进藻的生长时除现代电镀废水外,平行因子分析各荧光组分丰度增加,与本文的结果一致。虽然浮游植物能够以与吸收无机氮相当的速率吸收利用不稳定 DON(Bronk and Glibert, 1993),浮游植物代谢导致的 DON 释放也同时存在,并且释放速率与 DON 的吸收速率接近,有时甚至比吸收速率更高(Bronk et al., 1994),因此可能出现本文中浮游植物生长而 CDOM/CDON 各荧光组分相对丰度增加的情况,这往往也会导致 DON 浓度在培养前后甚至没有显著的变化(图 7.2 fghij)。此外,考虑到荧光含氮组分仅仅是 DON 库的一小部分,人为来源 DON 中其他众多不稳定含氮组分可能充当了浮游植物生长重要的营养物质。

DOM(如腐殖酸)的众多阳离子结合位点能够吸附不稳定的  $NH_4^+$ ,当环境条件改变(如混合效应、光照强度改变、盐度增加等),这些结合态- $NH_4^+$ 会被重新释放到周围环境中被浮游生物吸收利用(Bronk et al., 2007)。尽管 DON 通过水样过滤来获得,DON 中仍含有一些胶体物质会吸附- $NH_4^+$ (Bronk et al., 2010)。有

研究显示,自然水体中的化学添加会与水体已经存在复杂溶解态和颗粒态有机物质产生交互作用,发生有机质构象改变等物理或化学的变化,进而影响化学添加的反应活性(Filippino et al., 2011)。此外,持续的光照会促进 DON 中吸附态的-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>释放到周围环境中(Bronk et al., 2010; Mesfioui et al., 2015)。本研究中,当向太湖原水添加各来源 DON 后, DON 中的结合态-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>可能因混合效应被快速释放和再生,因而在培养第 0 天某些 DON 添加组的 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>浓度便高于无机氮磷控制组和空白组(图 7.4 bde),培养过程中的累积光照强度也可能一定程度上促进了 DON 的 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>释放。

## 7.5 结论

本研究通过生物测试法测定了太湖典型自然(藻和水草降解)和人为来源(生活污水、化工污水、农业径流) DON 对太湖浮游藻类生长的促进作用,即生物可利用性。结果表明:

(1) 自然来源中藻降解和水草降解 DON 的生物可利用性均较高,培养期间主要含氮荧光组分浓度降低(如类色氨酸组分)。因此,内源循环过程可能是太湖梅梁湾等区域每年夏秋季节蓝藻水华的维持的重要原因。

(2) 人为来源中生活污水 DON 的生物可利用性较高,化工废水和农业径流也具有一定的生物可利用性。因此,人为来源 DON(或其中某些特定组分)的排放控制与排放标准建立对改善湖泊富营养化会起到一定作用,但需要环境、经济、社会等方面的综合考量。

(3) 由于紫外-可见吸收和三维荧光光谱方法得到的 DON 组成变化信息有限,未来需结合更先进的手段测定这些来源中的生物可利用性组分,如 FT-ICR MS。此外,未来仍需对更多不同来源 DON 以及 DON 某些不稳定组分的生物可利用性展开系统研究。



## 第8章 总结与展望

### 8.1 总结

DON 作为水生生态系统中氮循环动力学重要的参与者，其中的众多组分可以被浮游植物直接或者间接吸收利用，然而 DON 在水体富营养化中的角色长期被严重忽略。到目前为止，关于水体特别是湖泊中 DON 动力学的研究相对匮乏并且面临众多难点。本文以太湖为研究对象，深入揭示了太湖水体 DON 的来源、组成和生物可利用性，取得主要成果包括：

(1) 发现太湖水体 DON 浓度存在显著时空格局，深入分析了 DON 浓度的影响因子。2008 至 2016 年间，太湖水体 TN、TDN、 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NO}_3^-$  浓度年均值 ( $n=240$ ) 呈线性降低趋势，TN 和 TDN 降低约  $1 \text{ mg L}^{-1}$ ， $\text{NH}_4^+$  和  $\text{NO}_3^-$  降低约  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$ 。然而，太湖水体 DON 浓度却呈增加趋势，尤其是自 2013 年以来线性增加，浓度由  $0.65 \text{ mg L}^{-1}$  增加至  $0.91 \text{ mg L}^{-1}$ ，DON 占 TDN 的比例由 30% 增加到 56%。季节上，春季水体 DON 浓度最高，冬季和夏季次之，秋季浓度最低。空间上，太湖竺山湾、西南沿岸和梅梁湾 DON 浓度较高，开敞湖区、贡湖湾、胥口湾及东太湖湾次之，五里湖浓度最低。多元逐步回归分析的结果表明，太湖水体 DON 浓度主要受水温、pH、电导率影响，三者贡献了 DON 浓度变化的 58.8%。与溶解氧、碱度、电导率、硫酸盐、溶解性总碳和溶解性总无机碳均呈现显著正相关 ( $p < 0.01$ )，与水体 pH、水温呈显著负相关 ( $p < 0.01$ )。近年来太湖不断增加的 DON 浓度及其在 TDN 中的比例暗示 DON 作为氮素营养可能在太湖的富营养化进程中发挥越来越重要的作用。

(2) 解析了太湖水体多种典型来源 DON 的分子组成。各不同来源水样中的 DON 均表现出类木质素/单宁组分的分子式数量最多。外部来源中的沉积物间隙水、农业径流、土壤淋溶水和地下水中 DON 分子式种类最为丰富，而在含氮分子式数量占溶解态有机质总分子式数量的比例上，雨水和藻降解水最高，草降解水和太湖水样较低。受人类影响下的外部来源（如生活污水和农业径流）不稳定含氮组分的分子式数量丰富，而雨水和溪流源头水含有更多的稳定难降解的 DON 分子，从而证实人类活动会增加易降解 DON 向太湖的输入。

(3) 对太湖水体 DON 各不同来源的贡献进行了定量。太湖 DON 不同来

源里土壤淋溶水权重最高，其次为溪流源头水、沉积物间隙水、农业径流水、藻降解水、地下水和生活污水，水草降解最低，从而证实外部非点源为太湖 DON 的主要来源。

(4) 深入揭示了太湖水体 DON 的再悬浮沉积物光溶解来源。与无机氮的来源相比，太湖再悬浮沉积物的光溶解过程是 DON 相对更重要的来源。在 DON 组成上，持续光照导致类腐殖酸荧光组分的浓度增加，并且导致木质素、不饱和碳氢化合物、单宁等含氮组分的相对丰度增加，而被降解的含氮组分主要是脂类、蛋白质和氨基酸。

(5) 深入揭示了太湖水体 DON 的浮游藻类光化学来源。自然光照培养期间藻经历了先死亡降解又复活生长的过程，降解过程 DON 浓度的增加速率比生长过程中快。培养后期，DIN 和  $\text{PO}_4^{3-}$  浓度呈几乎耗尽的状态，而 DON 浓度却增加，但显著低于黑暗控制组。研究还证实浮游藻类能够在特殊情况下利用自身降解产生的某些 DON 组分(如类腐殖酸和类色氨酸荧光组分)维持自身的生长。

(6) 明晰了太湖典型自然和人为来源 DON 的生物可利用性。太湖藻和水草降解以及生活污水中的 DON 比稻田径流和化工污水来源的 DON 具有更高的生物可利用性。除化工污水添加组 DON 芳香性降低外，其他来源添加组 DON 的芳香性均增加(光谱斜率  $S_{275-295}$  减小)，从而证实了太湖自然来源和一些人为来源(如生活污水)的 DON 具有很强的生物可利用性，可能是导致湖泊富营养化的重要营养因子。

## 8.2 研究不足

虽然本文对太湖水体 DON 浓度、来源、组成及生物可利用性开展了较为系统的研究，然而，本文仍有一些不足之处，主要包括以下几个方面：

(1) 在太湖 DON 浓度时空格局及其与环境因子关系方面，未能综合太湖多年的水质监测数据建立更准确的 DON 浓度预测模型，未对模型结果进行验证。除多元线性逐步回归模型外，未尝试其他非线性模型预测 DON 浓度。DON 浓度与 CDOM/CDON 平行因子分析各荧光组分丰度的关系也可综合多年数据进行建模，未来需进一步整理相关数据进行分析和建模。

(2) 在太湖水体典型来源 DON 的组成表征及各来源权重定量方面，由于水体 DON 来源广泛，组成众多，典型来源的选取上存在困难，主要基于文献报

导的一些 DON 的重要来源。此外,太湖水体 DON 每个典型来源仅包括较小区域的三个平行样,给预测模型结果的准确性和代表区域带来一定争议,流域内不同区域的典型来源样品数量越多,模型结果越准确。来源识别方法上仍需完善,例如三维荧光数据的哪些表征参数适合带入 MixSIAR 模型,需要通过一定的算法去甄别。因此,对太湖水体 DON 各来源的进行可靠识别仍是一项复杂的工作。

(3) 在太湖水体 DON 的光化学来源方面,本研究可能综合了藻和细菌的代谢过程。对再悬浮沉积物或浮游藻类进行灭活处理能够单纯揭示光化学过程和机理,而采用新鲜沉积物和活的浮游藻类进行培养更贴近太湖的实际过程,通过设置黑暗控制组仍能够阐明光照影响下的 DON 来源机制。

(4) 在太湖自然和人为来源 DON 的生物可利用性方面,基于平行因子分析未能鉴定出一些来源中促进藻类生长的主要 DON 荧光组分。未来需要结合超高分辨率 FT-ICR MS 质谱等技术手段,识别出不同来源生物可利用性高的 DON 组分。

### 8.3 展望

DON 作为水生生态系统中氮循环动力学的重要参与者,对富营养化的贡献开始受到越来越多的关注。虽然本文对太湖水体 DON 浓度、来源、组成及生物可利用性开展了较为系统的研究,然而,湖泊水体 DON 来源广泛,组成众多,未来可以在现有基础上继续开展大量的工作,主要包括以下几个方面:

(1) DON 研究方法上的探索与突破。方法探索往往需要耗费大量时间并且进展较慢,但将对湖泊 DON 动力学的研究起到极大的促进。例如, DON 浓度测定方法的比较与优化、DON 分离和表征技术手段的进步、DON 中同位素  $^{15}\text{N}$  丰度 ( $\delta\text{DO}^{15}\text{N}$ ) 测定方法的优化等。本文中用到的 FT-ICR MS 是截至目前最先进的超高分辨率质谱,是唯一能够在分子组成水平上表征 DON 并揭示环境过程中 DON 分子组成随时间变化的手段,广泛应用于 DON 组成表征及其光降解特性和生物可利用性等相关的研究中。本文作者在利用 FT-ICR MS 表征太湖 DON 组分上投入了大量时间,然而,由于 FT-ICR MS 测定结果包含了海量分子组成信息,需要借助数学解析和统计分析方法客观、准确辨析 DON 分子结构。

(2) 湖泊中 DON 浓度及分子组成表征数据的积累与分析。对 DON 浓度的测定及组分的表征是进一步研究 DON 动力学的基础。在湖泊 DON 浓度表征上,

一方面需要通过积累湖泊中 DON 浓度时空变化数据揭示其时空格局, 另一方面需要尝试通过分析 DON 浓度与环境因子以及平行因子分析各荧光组分等的关系, 建立 DON 浓度的预测模型估算得到水体 DON 浓度。在 DON 组成表征方面, DON 中大部分化合物组成仍未被鉴别, 并且受到 DON 分离与表征方法的限制。随着技术手段的发展, 尤其是在分子水平上表征 DON 组成相关技术及方法的进步 (如 FT-ICR MS), 使 DON 组成这一黑箱逐渐被揭开, 结合紫外-可见吸收光谱、三维荧光光谱等传统表征手段, 能够实现对 DON 光谱特性和众多分子组成的联合表征。进一步地, 通过分析 DON 浓度组成数据与环境变量及生物数据 (如浮游植物、异养或自养细菌丰度等) 间的相关关系, 可揭示 DON 浓度及组成的影响机制。此外, 对 DON 浓度和组成数据的积累将对湖泊 DON 动力学特别是其源汇过程研究起到极大的促进作用。

(3) 对 DON 来源关键过程的揭示。对于湖泊等内陆水体而言, 由于高度空间异质性和强烈的人类活动干扰, DON 来源和组成非常复杂, 各种内外源交织混合, DON 溯源和精准辨析异常艰难。同时, 流域土壤植被类型、土地利用结构、湖泊流域水文过程、湖泊周边城市化发展、湖泊营养水平及生态系统类型往往成为内陆水体 DON 来源和组成变化的关键驱动因素。这些驱动因素影响下 DON 组成如何变化, 其对湖泊 DON 的贡献如何, 需要进一步揭示。以湖泊中 DON 组成表征为基础, 结合碳、氮稳定同位素自然丰度测定等, 多方法联合定量 DON 各来源的贡献权重。可通过测定湖泊水体及流域内众多不同来源水样溶解态有机质的三维荧光光谱、超高分辨率 FT-ICR MS 和稳定碳氮同位素  $\delta\text{DO}^{13}\text{C}$  及  $\delta\text{DO}^{15}\text{N}$  特征, 利用基于平行因子分析的 FluorMod、基于稳定同位素混合模型的 MixSIAR 等方法多手段联合识别 DON 的来源, 对不同来源进行权重量化。本文虽然对此部分有所涉及, 但 DON 来源广泛, 不同来源水样 DON 的表征数据需要扩充, 来源识别方法上仍需探索。例如, DON 组成表征有着众多参数, 如何甄选出最佳的参数带入预测模型等问题需要进一步探索。

(4) DON 的生物及非生物转化过程及其生态环境效应。DON 库往往处于动态平衡, 其产生和消耗过程紧密耦合, 因而对不同物理、化学和生物条件下 DON 的转化机制的研究是揭开水体 DON 动力学这一黑箱的关键。物理过程包括光照、温度、盐度、水文水动力变化等, 化学过程包括 pH、溶解氧、重金属浓度的变化等, 生物过程包括浮游植物吸收释放、细菌降解、病毒裂解等。利用

FT-ICR MS 结合传统的吸收、三维荧光光谱方法可在分子水平揭示 DON 的转化过程。例如,通过对典型来源水样进行不同处理下的原位或室内培养,追溯培养前后及培养过程中 DON 浓度及分子水平上组成的变化。同时,测定微生物的丰度、种群组成、功能基因,分析微生物特征与 DON 浓度、吸收及荧光光谱、分子组成参数间关系。进一步地,围绕湖泊中浮游植物和细菌群落对不同处理后的 DON 的吸收过程开展研究,利用元素分析仪测定浮游生物吸收 DON 后颗粒态有机氮的变化,揭示转化后的 DON 的生物可利用性。不同的处理可包括不同强度太阳辐射(特别是紫外辐射)照射、不同温度或盐度梯度等。又如,运用稳定同位素  $^{15}\text{N}$ 、 $^{13}\text{C}$  示踪技术和原位或室内培养试验,可定量湖泊浮游植物和细菌群落对各形态氮素的吸收及释放速率,并探究其与碳通量的关系。通过不同尺寸分级、流式细胞仪分选等方法,区分自养和异养浮游生物群落对各形态氮素的吸收速率,其中氮素的形态既可包括硝态氮、亚硝态氮、氨氮等无机氮还可以包括 DON 中的活跃组分如尿素、氨基酸、肌酸等,探究与无机氮相比 DON 作为浮游植物氮素营养的相对重要性。DON 生物可利用性的研究是一项庞大的工程,未来仍需要不断积累分子水平上 DON 生物可利用性相关数据,最终建立 DON 生物可利用性的相关数据库,阐明 DON 动力学与湖泊富营养化间的关系。

综合起来,对湖泊 DON 生物地球化学循环的研究需宏观与微观并重,并与微生物生理、浮游植物生态等学科交叉起来研究,最终还应该在水体 DON 组成及源汇过程研究的基础上,对 DON 中某些生物可利用性高的组分的排放管理及相关标准建立进行可行性分析,提出环境、社会、经济上合理的解决方案,为湖泊管理与修复提供科学决策。

## 附录 非标准首字母缩写词的术语表

- DOM: Dissolved Organic Matter, 溶解态有机质;
- CDOM: Chromophoric Dissolved Organic Matter, 有色可溶性有机物;
- UDOM: Ultrafiltered Dissolved Organic Matter, 超滤溶解态有机质;
- PARAFAC: Parallel Factor Analysis, 平行因子分析;
- TOC: Total Organic Carbon, 总有机碳;
- DOC: Dissolved Organic Carbon, 溶解态有机碳;
- DIC: Dissolved Inorganic Carbon, 溶解态无机碳;
- CDON: Chromophoric Dissolved Organic Nitrogen, 有色可溶解态有机氮;
- PON: Particulate Organic Nitrogen, 颗粒态有机氮;
- TN: Total Nitrogen, 总氮;
- TDN: Total Dissolved Nitrogen, 溶解态总氮;
- DIN: Dissolved Inorganic Nitrogen, 溶解态无机氮;
- DON: Dissolved Organic Nitrogen, 溶解态有机氮;
- TP: Total Phosphorus, 总磷;
- TDP: Total Dissolved Phosphorus, 溶解态总磷;
- LMW: Low Molecular Weight, 低分子量;
- HMW: High Molecular Weight, HMW, 高分子量;
- $\text{NO}_3^-$ : nitrate, 硝态氮;
- $\text{NO}_2^-$ : nitrite, 亚硝态氮;
- $\text{NH}_4^+$ : ammonium, 铵态氮;
- $\text{PO}_4^{3-}$ : phosphate, 磷酸盐;
- 3D-EEMs: Three-Dimensional Excitation-Emission Matrices, 三维激发-发射矩阵;
- UV-Vis: Ultraviolet-Visible, 紫外-可见;
- CSIA: Compound-Specific Isotope Analysis, 特定化合物同位素分析;
- $\alpha(254)$ : 254 nm 处的光谱吸收系数;
- $\alpha(350)$ : 350 nm 处的光谱吸收系数;
- $S_{275-295}$  或  $S_{350-400}$ : 光谱斜率, 通过 275–295 nm 或 350–400 nm 范围内 CDOM 光

谱吸收系数的非线性拟合得到;

$S_R$ : 光谱斜率比值, 即  $S_{275-295}$  和  $S_{350-400}$  的比值;

$a(250):a(365)$ : 250 nm 和 365 nm 处吸收系数比值;

$SUVA_{254}$ : DOC 在 254 nm 处的特征紫外吸收, 通过计算滤后水样在 254 nm 处的吸收系数与 DOC 浓度的比值得到;

BIX: 生物源指数, 即近期自生来源贡献指数;

HIX: 腐殖化指数;

DBE: 双键当量;

DBE/C: 某个化合物中双键当量与 C 原子数目的比值, 该比值大于 0.7 通常暗示化合物中稠环芳烃的存在(Koch and Dittmar, 2006);

DBE/H: 某个化合物中双键当量与氢原子数目的比值;

DBE/O: 某个化合物中双键当量与氧原子数目的比值;

$AI_{mod}$ : 芳香性指数, 计算时仅考虑溶解态有机质中羰基官能团氧原子数目的一半;

$C_w$ : FT-ICR MS 相对信号丰度权重下的碳原子数量;

$O/C_w$ 、 $H/C_w$  或  $N/C_w$ : FT-ICR MS 相对信号丰度权重下的 O/C、H/C 或 N/C 摩尔比值;

$DBE_w$ : FT-ICR MS 相对信号丰度权重下的双键当量;

$AI_{mod-w}$ : FT-ICR MS 相对信号丰度权重下的芳香性指数, 计算时仅考虑溶解态有机质中羰基官能团氧原子数目的一半;

CRAM: 富含羧基的脂环族分子结构。