

## 3DEEM 和 PARAFAC 的猪场废水 DOM 组成特征分析

李磊<sup>1,2</sup>, 李忠佩<sup>1,2\*</sup>, 刘明<sup>1,2</sup>, 马晓焉<sup>1,2</sup>, 唐晓雪<sup>1,2</sup>

1. 中国科学院南京土壤研究所土壤与农业可持续发展国家重点实验室, 江苏南京 210008
2. 中国科学院大学, 北京 100049

**摘要** 猪场废水中物质组成与其潜在的环境效应密切相关, 研究废水中有机物的组成特征将可为制订科学的资源管理措施提供理论依据。通过采集江西省余江县不同养殖规模(以年出栏量计)的吴杨高(WYG, 2 000头)、成林牧业(CL, 5 000头)、万谷(WG, 20 000头)和正邦(ZB, 24 000头)等猪场自然氧化塘内的养殖废水, 运用三维荧光(3DEEM)和平行因子分析(PARAFAC)模型研究废水中可溶性有机物(DOM)组成及其荧光特性。结果表明, 成林和吴杨高猪场废水中化学需氧量(COD)、全氮(TN)、氨氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)以及可溶性有机碳(DOC)浓度均显著高于万谷和正邦猪场。通过 3DEEM 和 PARAFAC 建模发现, 猪场废水中可溶性有机物(DOM)主要有三个组分, 其中包括两个类蛋白质组分(C1, C2)和一个类腐殖质组分(C3)。线性拟合结果表明, C1 分别与 C2, C3 组分荧光强度间呈极显著正相关, 表明不同组分间可能具有相同的物质来源或变化趋势。与养分浓度变化趋势一致, 成林和吴杨高猪场 DOM 组分的荧光强度显著高于万谷和正邦。此外, C1 和 C2 组分对猪场废水中 DOM 总的贡献率依次为成林(89.7%), 吴杨高(87.9%), 万谷(77.5%)和正邦(72.9%), 而 C3 所占比例分别为成林(10.3%), 吴杨高(12.1%), 万谷(22.5%)和正邦(27.1%)。可见, 废水中类蛋白质组分比例明显高于类腐殖质组分。与此同时, 荧光指数(FI<sub>370</sub>)和腐殖化指数(humification index, HIX)的变化趋势, 整体表现为正邦和万谷猪场显著高于成林和吴杨高猪场。Pearson 相关性分析表明, 不同的荧光指数受环境指标的影响存在一定差异, COD 与 DOC 浓度分别与 DOM 组分荧光强度间呈极显著相关性。综上, 不同的规模化猪场废水中养分水平在一定程度上影响着 DOM 组成和荧光特性的形成。

**关键词** 规模化猪场; 废水; 可溶性有机物; 三维荧光光谱; 平行因子分析

中图分类号: X502 文献标识码: A DOI: 10.3964/j.issn.1000-0593(2017)02-0577-07

### 引言

随着我国经济社会的不断发展, 人们对肉制品需求水平不断提高, 集约化的养殖模式得以迅速发展。据统计, 2008 年我国规模化生猪养殖比例达到 56%, 超过散养比重, 2015 年底这一比例将达到 65%。规模化猪场的不断增加, 大量养殖废水的无序排放和灌溉给周边水体和土壤环境造成严重的污染和破坏<sup>[1]</sup>, 极大地限制了农业的可持续发展。

通常, 猪场废水在经过厌氧发酵形成沼液后, 排入自然氧化塘, 最终直接进入周边水体或农田。经调查, 2011 年余江全县规模化猪场排放沼液中化学需氧量(COD), 总氮(TN)和总磷(TP)平均浓度远高于国家污水排放标准<sup>[1]</sup>, 且养殖废水已成为水体富营养化的主要原因。作为有效的处理

手段, 厌氧发酵被广泛地运用于猪场废水的脱氮除磷。研究指出, 改善废水中碳氮磷比, 能够显著提高发酵过程中 COD 和氮磷的去除效率<sup>[2-3]</sup>。然而, 不同猪场间废水物质组成差异较大<sup>[4]</sup>, 可能直接影响有机物的生物降解。据色谱/质谱分析发现, 猪场废水中有机物成分在厌氧发酵过程中发生明显变化, 以脂类和烷烃类为主<sup>[2]</sup>。可见, 自然氧化塘内有机物的组成特征为猪场废水生物降解作用的直接结果。

以往的研究集中于发酵过程中有机物的降解和脱氮除磷, 关于猪场自然氧化塘内废水中可溶性有机物(dissolved organic matter, DOM)组成特征并不清楚。本研究通过采集不同养殖规模的猪场自然氧化塘内废水, 运用三维荧光(3DEEM)和平行因子分析(PARAFAC)模型研究废水中 DOM 组成及荧光指数, 比较猪场间 DOM 特性的差异。此外, 通过分析废水中 DOM 特性与环境指标间的相关性, 试

收稿日期: 2015-08-26, 修订日期: 2015-12-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(41171233)和公益性行业(农业)科研专项(201203050)资助

作者简介: 李磊, 1989 年生, 中国科学院南京土壤研究所土壤与农业可持续发展国家重点实验室博士研究生 e-mail: lilei@issas.ac.cn

\* 通讯联系人 e-mail: zpli@issas.ac.cn

图阐明 DOM 特性差异形成的主要因素, 从而为猪场废水资源的科学管理提供理论依据。

## 1 实验部分

### 1.1 研究区概况

余江县 (116°41′—117°09′ E, 28°04′—28°37′ N) 位于我国江西省东北部, 属亚热带湿润季风气候, 全县年均气温、降雨量和日照时数分别为 17.6 °C, 1 789 mm 和 1 739 h; 据调查, 猪场饲料配比分别为玉米粉 (63%~70%), 豆粕 (20%~30%) 和麦麸 (5%~20%), 且每头育肥猪平均每天约产生 2.0 kg 粪, 3.3 kg 尿和 8.0 kg 冲洗污水<sup>[1]</sup>。

### 1.2 研究方法

#### 1.2.1 样品采集

随机选取余江县四个规模化猪场作为研究对象, 其养殖规模 (以年出栏量计) 分别为: 吴杨高猪场 (WYG, 2 000 头), 成林牧业猪场 (CL, 5 000 头), 万谷猪场 (WG, 20 000 头) 和正邦猪场 (ZB, 24 000 头), 并于 2015 年 1 月在各猪场自然氧化塘内采集养殖废水。废水样品的具体采样方案为: 在距离氧化塘岸边 10 m, 采集表层约 50 cm 深处废水, 每个猪场四个重复, 共计 16 个样品。采集的废水样品保存在预先经过酸洗的 250 mL 聚乙烯瓶内, 放置冰盒内并于 24 h 内带回实验室。在分析废水中 DOM 组分前, 样品经过高温处理的 0.7 μm GF/F 滤膜 (Whatman), 所得滤液装入高温处理 (550 °C, 6 h) 的 50 mL 玻璃瓶内, 并置于 4 °C 冰箱保存以供光谱测定。

#### 1.2.2 三维荧光测定

光谱测定采用荧光分光光度计 (Hitachi F-7000), 以超纯水为空白; 激发和发射波长扫描范围分别为 200~450 和 250~600 nm, 测定间隔依次为 5 和 1 nm, 扫描速度为 2 400 nm·min<sup>-1</sup>, 激发和发射光谱通带均设置为 5 nm<sup>[6]</sup>。

通过减去超纯水, 从而消除样品 EEMs 矩阵数据中的 Raman 散射峰。为进一步消除内滤效应, 样品 EEMs 矩阵数据基于 200~600 nm 范围内吸光度值的校正。基于以下前提条件, 激发和发射光平均路径为 1/2 的比色皿长度, EEMs 数据校正公式如下所示

$$F_{Re} = F_{Obs} \times 10^{(A_{Ex} + A_{Em})/2} \quad (1)$$

式中,  $F_{Obs}$  和  $F_{Re}$  分别为校正前后的荧光强度,  $A_{Ex}$  和  $A_{Em}$  为特定激发和发射波长所分别对应的吸光度值。

样品荧光强度采用硫酸奎宁进行标准化 (QSU), 1 QSU 定义为 0.01 mg·L<sup>-1</sup> 的硫酸奎宁溶液在 350 nm 激发波长和 450 nm 发射波长下的最大荧光强度。此外, 通过移除以下两个范围的所有荧光数据 (发射波长 ≤ 激发波长 + 5 nm, 发射波长 ≥ 激发波长 + 300 nm), 并用 0 替代所有移除数据, 从而消除或降低样品 EEMs 中的 Rayleigh 散射效应<sup>[6]</sup>。

#### 1.2.3 平行因子分析

对组分数量和光谱特性不进行任何前提假设, 利用平行因子分析 (PARAFAC) 可实现复杂的 DOM 混合体系的组分分解<sup>[6]</sup>。与二线性分析方法相比, PARAFAC 将 EEMs 矩阵数据分解成一组三线性项和一个残差集, 当剩余残差和达到

最小时, 则模型的分解过程完成<sup>[7]</sup>

$$X_{ijk} = \sum_{f=1}^F a_{if} b_{jf} c_{kf} + \epsilon_{ijk} \quad (2)$$

式中,  $X_{ijk}$  表示第  $i$  个样品在发射波长  $j$  和激发波长  $k$  处的荧光强度,  $F$  为样品中 DOM 组分的数量。  $a_{if}$  与  $i$  样品中的  $f$  组分浓度存在直接的比例关系,  $b_{jf}$  和  $c_{kf}$  分别与  $f$  组分在发射波长  $j$  和激发波长  $k$  的荧光强度呈线性关系,  $\epsilon_{ijk}$  为残差, 即为模型未能解释的变异性。

根据前人的研究方法<sup>[8]</sup>, 利用 MATLAB 软件和 DOMFluor 软件包, 实现了规模化猪场废水中 DOM 组分的 PARAFAC 模型建立和验证。所有 DOM 组分的荧光图谱由 MATLAB 进行绘制和输出。

#### 1.2.4 荧光指数分析

荧光指数 (FI<sub>370</sub>) 被广泛用来区分水体中腐殖酸的主要来源, 定义为 370 nm 激发波长下, 450 nm 波长处的荧光强度与 500 nm 波长的荧光强度的比值大小; 当 FI<sub>370</sub> 指数 ≥ 1.9 表明水体中富里酸的主要来源为微生物来源, 即内源性, 而当指标 ≤ 1.4 表明水体中富里酸的主要来源表现为陆地性来源, 即外源性<sup>[6]</sup>。

$$FI_{370} = FI_{450 \text{ nm}} / FI_{500 \text{ nm}}, \lambda_{Ex} = 370 \text{ nm} \quad (3)$$

生物指数 (biological index, BIX) 与水体中原位微生物活性强度存在直接关系, 且被定义为在 310 nm 的激发波长下, 380 nm 波长的荧光强度与 420~435 nm 波长范围内最大荧光强度的比值大小<sup>[9]</sup>。当 BIX 值 > 1 时, 表明水体中具有较强的微生物活性, 而 BIX 值较低时 (0.6~0.7) 表明水体中微生物来源的 DOM 比例较低<sup>[6]</sup>。

$$BIX = FI_{380 \text{ nm}} / FI_{\max_{420-435 \text{ nm}}}, \lambda_{Ex} = 310 \text{ nm} \quad (4)$$

腐殖化指数 (humification index, HIX) 最初被用来测定土壤中 DOM 的成熟度。为进一步降低内滤效应, 将 HIX 定义为 255 nm 的激发波长下 435~480 nm 波长的荧光强度与 300~345 nm 波长范围和 435~480 nm 波长范围内荧光强度之和的比例, 且在 0~1 范围内, HIX 指数随着 DOM 芳香化程度的增加而不断增加<sup>[6]</sup>。

$$HIX = \sum FI_{435-480 \text{ nm}} / (\sum FI_{300-345 \text{ nm}} + \sum FI_{435-480 \text{ nm}}), \lambda_{Ex} = 255 \text{ nm} \quad (5)$$

#### 1.2.5 化学分析与数据统计

废水电导率 (EC) 和 pH 值分别采用 FE30 电导率仪和 pH 计 (Mettler Toledo) 进行测定, 吸光度值采用紫外-可见分光光度计 (Eppendorf) 测定; COD, TN, TP 和氨氮 (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) 分别采用国家标准方法进行测定<sup>[10]</sup>; 可溶性有机碳 (DOC) 采用 Multi N/C 3100 TOC 分析仪进行测定。数据统计 (包括平均值、标准差、方差分析以及 Person 相关系数) 采用 SPSS 20.0 软件完成。图形绘制均采用 OriginPro 9.1 完成。方差分析的显著性水平采用  $p < 0.05$ 。

## 2 结果与讨论

### 2.1 猪场废水中环境指标的变化

研究发现, 猪场废水 pH 和 EC 范围分别为 8.13~8.80 (CV=3.31%) 和 2.37~7.53 mS·cm<sup>-1</sup> (CV=45.87%), 即

猪场废水呈弱碱性，且具有较高的盐离子成分；废水中 COD、TN 和 TP 浓度范围依次为 233.8~1179.6，233.5~877.0 和 16.8~28.5 mg·L<sup>-1</sup>，NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 和 DOC 的浓度范围分别为 203.2~763.1 和 61.5~466.7 mg·L<sup>-1</sup> (表 1)。在所有环境指标中，以 DOC 浓度的变异性最大，其次是化学需氧量 COD。可见，规模化猪场废水具有较高的养分浓度，且不同猪场间存在一定差异。

通常，猪场废水中 pH 值一般处于 8~9 之间，且总的氨氮浓度与 pH 间存在一定的线性关系<sup>[11]</sup>。猪场废水中尿素和蛋白质经过水解作用产生 NH<sub>3</sub>，NH<sub>3</sub> 溶于水，形成 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>，导致废水 pH 呈碱性。此外，猪粪中较高浓度的金属离子有

利于 pH 的升高<sup>[12]</sup>。电导率 EC 主要用于测定猪场废水中的含盐量。研究发现，废水 EC 与 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 浓度间呈极显著正相关 [ $p < 0.001$ ，图 1(a)]，与前人的研究相一致<sup>[13]</sup>。此外，猪场废水中 TN 浓度与 COD 间呈显著正相关 [ $p < 0.001$ ，图 1(b)]，表明废水中大量的含氮有机物对 COD 具有一定的贡献。DOC 与 UV<sub>254</sub> 间也呈显著正相关 [ $p < 0.001$ ，图 1(c)]，与前人的研究结果相一致<sup>[14]</sup>。与万谷和正邦猪场相比，成林和吴杨高猪场废水中养分浓度显著更高。经调查，余江县有近 62% 的规模化养猪场未设置厌氧发酵处理设施，且以较小规模猪场为主<sup>[1]</sup>。可见，废水中养分浓度差异可能与猪场间废水处理方式的不同存在一定的关系。

表 1 规模化猪场废水的基本环境指标

Table 1 Environmental parameters in swine wastewater from different scale pig farms

猪场	成林	万谷	吴杨高	正邦	变异系数/%
pH	8.37±0.01 <sup>b</sup>	8.13±0.07 <sup>c</sup>	8.80±0.03 <sup>a</sup>	8.38±0.04 <sup>b</sup>	3.31
EC/(mS·cm <sup>-1</sup> , 25 °C)	7.53±0.03 <sup>a</sup>	2.37±0.03 <sup>d</sup>	4.41±0.02 <sup>b</sup>	4.26±0.04 <sup>c</sup>	45.87
COD/(mg·L <sup>-1</sup> )	1179.6±95.6 <sup>a</sup>	286.9±84.4 <sup>c</sup>	913.9±66.4 <sup>b</sup>	233.8±18.4 <sup>c</sup>	71.50
TN/(mg·L <sup>-1</sup> )	877.0±18.1 <sup>a</sup>	233.5±16.2 <sup>d</sup>	507.5±24.8 <sup>b</sup>	438.5±19.9 <sup>c</sup>	52.22
TP/(mg·L <sup>-1</sup> )	27.8±0.8 <sup>a</sup>	28.5±1.4 <sup>a</sup>	16.8±0.5 <sup>c</sup>	21.6±0.4 <sup>b</sup>	23.36
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> /(mg·L <sup>-1</sup> )	763.1±27.6 <sup>a</sup>	203.2±5.7 <sup>d</sup>	429.0±4.1 <sup>b</sup>	397.2±7.3 <sup>c</sup>	51.88
DOC/(mg·L <sup>-1</sup> )	466.7±20.9 <sup>a</sup>	111.5±13.1 <sup>c</sup>	267.5±16.5 <sup>b</sup>	61.5±16.5 <sup>d</sup>	80.44
UV <sub>254</sub> /cm <sup>-1</sup>	3.97±0.11 <sup>a</sup>	1.01±0.15 <sup>d</sup>	3.55±0.07 <sup>b</sup>	1.23±0.04 <sup>c</sup>	63.01

注：EC：电导率；COD：化学需氧量；TN：全氮；TP：全磷；DOC：可溶性有机碳；同一行中不同小写字母表示处理间差异显著 ( $p < 0.05$ )

Note: EC: Electrical conductivity; COD: Chemical oxygen demand; TN: Total nitrogen; TP: Total phosphorus; DOC: Dissolved organic carbon; lowercases within the same column indicate the significant at the level of  $p < 0.05$

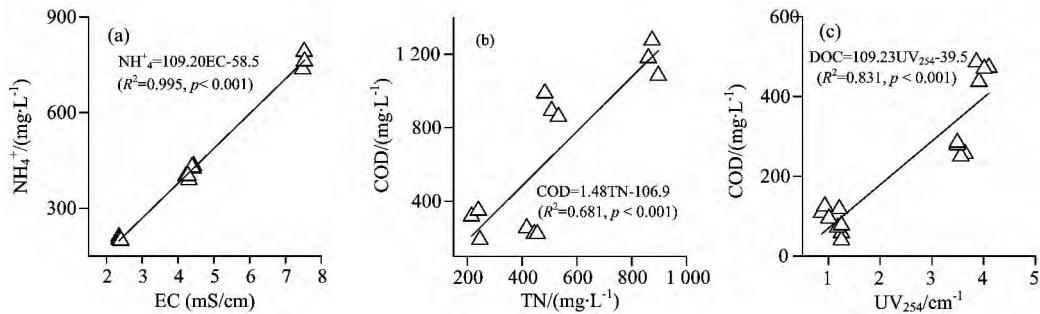


图 1 猪场废水环境指标间的线性相关性

Fig 1 Linear correlations between environmental parameters in swine wastewater

2.2 猪场废水中 DOM 的组成

目前，水体中的 DOM 主要是腐殖质组分(蓝色荧光)和蛋白质组分(紫外荧光)两大类<sup>[15]</sup>。猪场废水中被识别的 DOM 组分主要有三个，包括两个类蛋白质组分和一个类腐殖质组分。图 2 为 DOM 组分荧光光谱图以及各组分折半法(split-half)的验证结果。其中，组分 1(C1)的主次峰(Ex/Em)分别为(225/350 nm)和(275/350 nm)[图 2(a)]，组分 2(C2)的主次峰依次为(225/300 nm)和(275/300 nm)[图 2(b)]，组分 3(C3)的主次峰分别为(350/435 nm)和(300/435 nm)[图 2(c)]。同时，根据解的唯一性，Split1, Split2 与完整数据所得到 DOM 组分的载荷谱图几乎一致，表明猪场废水中 PARAFAC 模型的有效性得以验证[图 2(d)–(f)]。

根据前人的研究，C1 属于游离态或蛋白质内的结合态氨基酸，其荧光特性与游离的色氨酸相类似，广泛存在于海洋和陆地水体中，且主要来源于原位微生物的生命代谢活动，能够指示水体中完整的蛋白质或降解程度相对较低的缩氨酸，一般被定义为 T 峰<sup>[5-6, 15]</sup>；C2 也属于游离或结合在蛋白质内的氨基酸，其荧光特性类似于游离的酪氨酸，且广泛存在于水体环境中，其来源也主要与原位生物的生命活动有关，可指示降解程度相对较高的缩氨酸，通常被定义为 B 峰<sup>[6, 15]</sup>；C3 的荧光特性表现为典型的由 A/C 峰组分的类腐殖质组分，分子量相对较小，在海洋中较为普遍，与生物活动密切相关，但在农业环境和污水中也有发现，其主要来源于陆生性和微生物性有机物<sup>[5, 7, 15]</sup>。可见，类蛋白质组分主

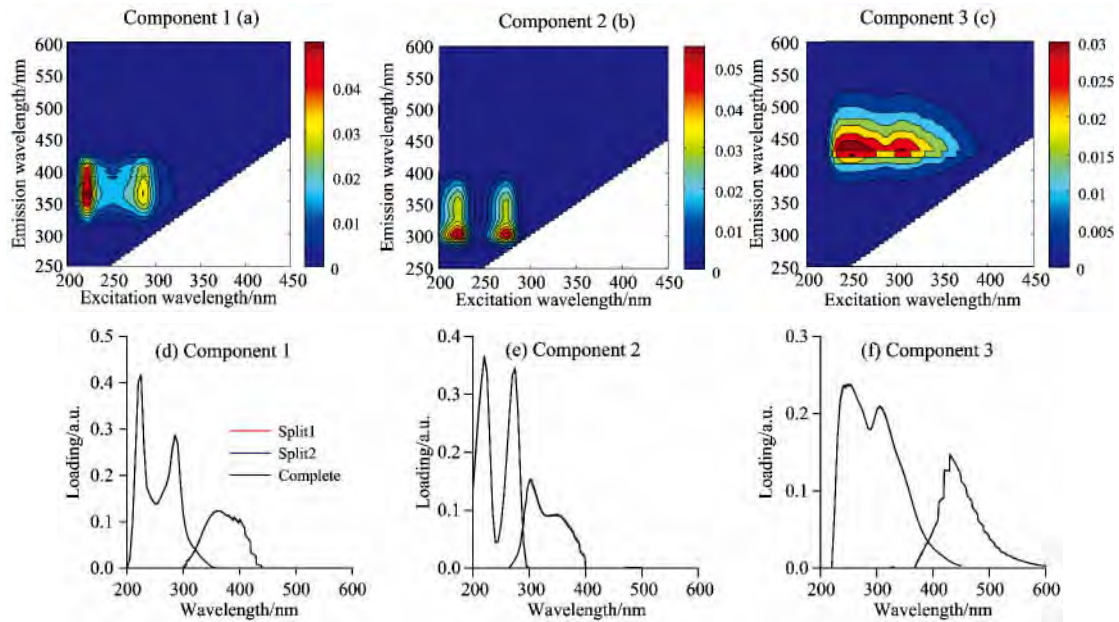


图 2 DOM 组分荧光光谱图的 PARAFAC 模型输出(a—c)及其验证结果(d—f, 左峰: 激发波长载荷谱, 右峰: 发射波长载荷谱; 红色: Split1 验证结果, 蓝色: Split2 验证结果, 黑色: 完整数据的验证结果)

Fig 2 PARAFAC model output showing fluorescence signatures of three fluorescence components (a—c), and split-half validation results of the three components (d—f); excitation (left) and emission (right) loading spectra were estimated from two random halves of data set (Split1: red lines, Split2: blue lines), and the complete data set (black lines)

要来源于微生物代谢活动, 而类腐殖质组分主要由陆生性有机物的输入以及原位微生物性有机物所产生。

### 2.3 DOM 组分的荧光强度

PARAFAC 分析不仅能够将猪场废水中主要的 DOM 组分识别出来, 而且还能对样品中各组分含量进行定量。在本研究中, 以废水中各组分的最大荧光强度(QSU)来指示其相对含量。C1 的荧光强度范围为 137.6~715.6 QSU, C2 的强度范围为 67.3~735.0 QSU, C3 的强度范围为 76.2~172.5 QSU。整体而言, 各组分荧光强度呈现由小规模猪场(成林、吴杨高)向大规模猪场(万谷、正邦)递减的趋势, 这与养分浓度的变化较一致[图 3(a)]。

然而, 各 DOM 组分含量在猪场间的相对比例存在一定差异。研究发现, C1 以万谷的比例最高(48.9%), 而以成林的比例最低(44.3%), 正邦和吴杨高间差异不显著, 依次为 47.0% 和 46.2%; C2 比例在猪场间的差异达到显著水平, 以成林的比例最高(45.4%), 而以正邦最低(23.9%), 吴杨高和万谷分别为 30.5% 和 41.6%; 与 C1 趋势一致, C3 以正邦比例最高(27.1%), 而成林比例最低(10.3%), 吴杨高和万谷猪场间差异显著, 依次为 22.5% 和 12.1% [图 3(b)]。与成林和吴杨高猪场相比, 万谷和正邦猪场废水中类腐殖质组分(C3)比例相对更高, 而易降解的类酪氨酸组分(C2)比例相对更低, 这可能与微生物的降解作用密切相关<sup>[5]</sup>。研究发现, 微生物对氨基酸的降解, 有利于腐殖酸组分荧光强度的增加<sup>[16]</sup>。线性拟合结果表明, 废水中 C1 分别与 C2 和 C3 组分间呈显著正相关, 表明各组分间具有相同的来源或变化趋势[图 3(c)—(d)]。而且, 作为一种可能的作用机制, 有机

物经微生物的分解作用后, 有利于分子量较大的腐殖酸类物质的合成<sup>[16]</sup>。

### 2.4 猪场废水中各荧光指数

不同于荧光强度, 各荧光指数( $FI_{370}$ , BIX 和 HIX)可以较全面的指示废水中 DOM 组分的其他特性(比如物质来源和腐殖化程度等)。结果发现,  $FI_{370}$  指数的变化范围为 1.14~1.57, 即猪场废水中 DOM 主要来源于陆生性有机物的输入; BIX 和 HIX 的变化范围依次 0.71~0.90 和 0.28~0.61 [图 4(a)]。在不同规模的猪场间, 万谷和正邦废水中  $FI_{370}$  显著高于成林和吴杨高, 表明微生物来源的 DOM 贡献率有所提高, 而且正邦猪场 BIX 的值也显著高于成林和吴杨高。与类腐殖质组分比例的变化趋势一致, 万谷和正邦猪场废水中 HIX 显著高于成林和吴杨高, 且与 C3 比例间呈极显著正相关( $p < 0.001$ , 数据未列出)。

线性回归分析表明, 废水中  $FI_{370}$  指数与 BIX 间呈显著负相关 [ $p < 0.05$ , 图 4(b)], 而与 HIX 间呈极显著正相关 [ $p < 0.001$ , 图 4(c)]。通常,  $FI_{370}$  指数随陆生性腐殖酸的合成而降低, 而随微生物来源腐殖酸的合成而升高。目前, 对于 BIX 和  $FI_{370}$  指数间相关性的结果不尽一致。Guo 等<sup>[5]</sup>研究发现, 新鲜猪粪有机物的输入导致  $FI_{370}$  指数增加的同时, 降低了 BIX; 然而, Zhang 等<sup>[6]</sup>对于云贵高原湖泊中的研究发现, 水体中 BIX 与  $FI_{370}$  指数间呈正相关。除高浓度的养分外, 猪场废水中一般具有较高的微生物群落水平; 因此, 微生物活性的降低和微生物残体的增加有利于  $FI_{370}$  指数的增加。然而对于养分水平较低的水体中, 研究发现微生物通过不断消耗水体中的陆生性 DOM, 从而维持其生命的稳定<sup>[17]</sup>。可见,

在一定程度上，陆生性有机物的生物消耗也有利用  $FI_{370}$  指数的增加。综上，水体中荧光指数的变化受养分水平高低和微

生物活性的综合影响。

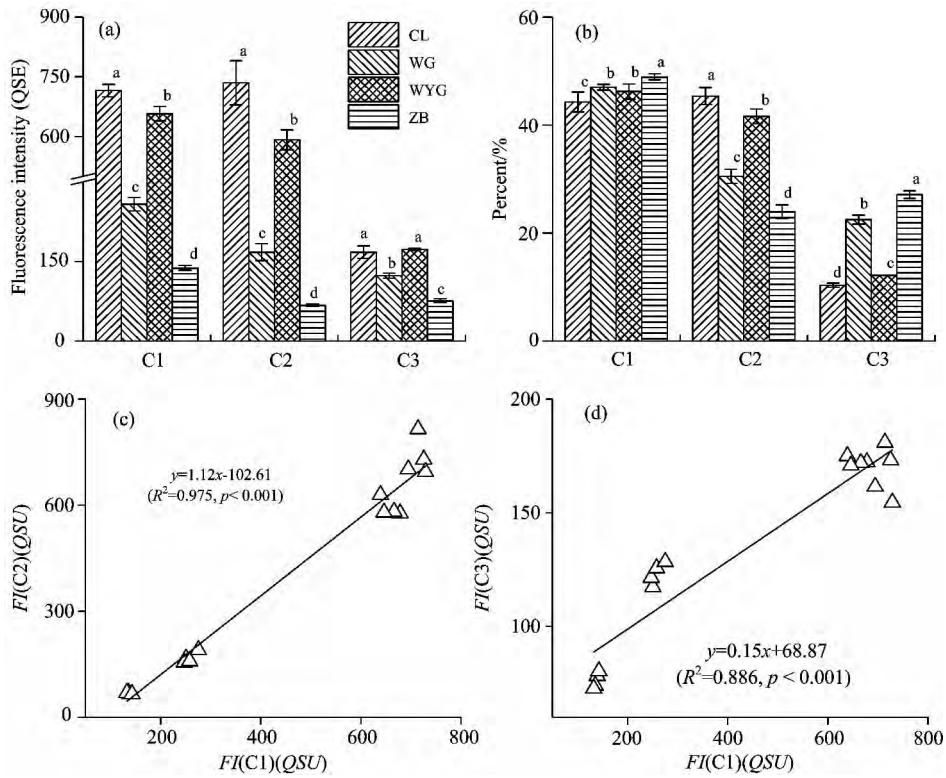


图 3 猪场废水中 DOM 组分荧光强度与比例 (a—b)，及各组分强度间的线性相关性 (c—d)  
C1: 类色氨酸; C2: 类酪氨酸; C3: 类腐殖质

Fig 3 Bar plots represent the fluorescence intensities and percentage calculated from the three components (a—b), and the linear correlations between each other (c—d)

C1: Tryptophan-like component; C2: Tyrosine-like component; C3: Humic-like component

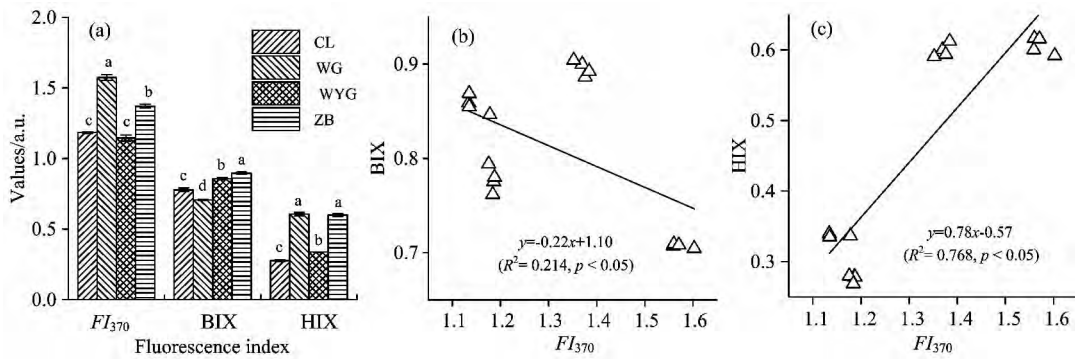


图 4 猪场废水的荧光指数值 (a)，以及相关指数间的线性相关性 (b—c)

$FI_{370}$ : 腐殖质来源指数; BIX: 生物活性指数; HIX: 腐殖化指数

Fig 4 Bar plots represent values of fluorescence indices (a), line plots represent the linear correlations between fluorescence indices (b—c)

$FI_{370}$ : The index of the sources of isolated humic substances; BIX: Biological index; HIX: Humification index

### 2.5 环境指标与 DOM 特性的相关性分析

研究发现,  $FI_{370}$  和 HIX 分别与废水 pH, COD, TN,  $NH_4^+$  和 DOC 间呈极显著负相关, 而 BIX 分别与 pH 和 TP 浓度间呈极显著正相关; C1 荧光强度与 COD 浓度间呈极显

著负相关, 而与 DOC 呈极显著正相关, C2 分别与 COD, TN,  $NH_4^+$  及 DOC 呈显著或极显著正相关, C3 分别与 COD, TN 及  $NH_4^+$  呈显著或极显著负相关, 而与 DOC 呈极显著正相关(表 2)。可见, 猪场废水中不同的荧光指数受环

境指标的影响存在一定差异；同时，猪场废水中 COD 和 DOC 的浓度与 DOM 组分含量间均存在极显著的相关关系。

表 2 环境指标与 DOM 组分荧光强度间的 Pearson 相关性  
Table 2 Pearson correlations between environmental parameters and fluorescence intensities of DOM components

	pH	COD	TN	TP	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	DOC
FI <sub>370</sub>	-0.804**	-0.817**	-0.776**	0.539	-0.757**	-0.715**
BIX	0.639*	-0.065	0.121	-0.807**	0.132	-0.178
HIX	-0.581*	-0.987**	-0.838**	0.160	-0.812**	-0.934**
FI(C1)	-0.006	-0.719**	-0.572	-0.445	-0.538	0.922**
FI(C2)	0.429	0.948**	0.704*	0.027	0.669*	0.948**
FI(C3)	-0.504	-0.963**	-0.707*	0.063	-0.63*	0.813**

注：\*表示在 0.05 显著水平下显著相关；

\*\*表示在 0.01 显著水平下极显著相关

Note: \* indicate the correlations were significant at the level of  $p < 0.05$ ;

\*\* indicate the correlations were significant at the level of  $p < 0.01$

与 TP 相比，猪场废水中 COD, TN, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 和 DOC 对 FI<sub>370</sub> 和 HIX 指数的影响更为显著。由于猪场废水中有机物以饲料残余物为主，较高浓度的生物易降解有机物的存在不利于 FI<sub>370</sub> 指数的增加；同时，微生物对有机物的降解程度较低，也不利于废水中 HIX 值数的增加。区别于 FI<sub>370</sub> 和 HIX 指数，BIX 与 TP 浓度间呈显著负相关关系。研究证实，水体中较低的 N/P 比不利于养分循环和微生物生物量的累积<sup>[18]</sup>。可见，万谷猪场废水中较低的 BIX 可能与较低的 N/P

比存在一定关系。所有环境指标中，以 pH 值的变异性最小，且对 DOM 组分荧光强度的影响不显著。DOM 荧光强度与 COD, TN 及 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 间的相关性较一致。水体中类酪氨酸组分荧光强度与氨基酸浓度呈显著正相关；且与腐殖质组分相比，蛋白质组分相对更容易被微生物所分解利用<sup>[16]</sup>。因此，较高浓度的类蛋白质组分有利于微生物活性的增加。此外，废水中 DOC 浓度与各组分荧光强度间呈显著正相关，与前人研究相一致<sup>[19]</sup>。

### 3 结 论

不同规模猪场废水中 DOM 组成特性存在一定差异。利用 3DEEM 和 PARAFAC 分析方法，研究了余江县不同养殖规模猪场废水中 DOM 的组成及荧光特性。在猪场废水中，DOM 主要有三个组分，包括两个类蛋白质组分和一个类腐殖质组分。猪场间各组分荧光强度与废水中养分浓度的变化趋势一致，并表现为陆生性来源。然而，与规模较小的猪场相比，规模较大的猪场废水中类腐殖质组分所占比例显著更高；而且，类腐殖质组分所占比例与 HIX 指标间呈显著正相关。可见，HIX 指标能够较好地指示猪场废水中类腐殖质组分的相对含量。Pearson 相关性分析表明，猪场废水中不同的荧光指数受环境指标的影响存在一定差异，COD 和 DOC 浓度分别与 DOM 各组分含量间存在极显著相关关系。综上，规模化猪场废水中 DOM 组成差异的形成受养分浓度水平和微生物利用的综合影响。

### References

- [1] ZHOU Zhi-gao, LI Zhong-pei, HE Yuan-qiu, et al(周志高, 李忠佩, 何园球, 等). Acta Pedologica Sinica(土壤学报), 2013, 50(4): 703.
- [2] WANG Huan, PEI Wei-zheng, LI Xu-dong, et al(王欢, 裴伟征, 李旭东, 等). Environmental Science(环境科学), 2009, 30(3): 815.
- [3] Mielcarek A, Rodziewicz J, Janczukowicz W, et al. Journal of Environmental Sciences, 2015, 38(12): 119.
- [4] WEI Dan, WAN Mei, LIU Rui, et al(卫丹, 万梅, 刘锐, 等). Environmental Science(环境科学), 2014, 35(7): 2650.
- [5] Guo X J, He X S, Zhang H, et al. Microchemical Journal, 2012, 102: 115.
- [6] Zhang Y L, Zhang E L, Yin Y, et al. Limnology and Oceanography, 2010, 55(6): 2645.
- [7] Stedmon C A, Markager S, Bro R, et al. Marine Chemistry, 2003, 82: 239.
- [8] Stedmon C A, Bro R. Limnol. Oceanogr.: Methods, 2008, 6: 572.
- [9] Huguet A, Vacher L, Relexans S, et al. Organic Geochemistry, 2009, 40: 706.
- [10] State Environmental Protection Administration(国家环境保护总局). Determination Methods for Examination of Water and Wastewater(水和废水监测分析方法). Beijing: China Environmental Science Press(北京: 中国环境科学出版社), 2002.
- [11] Cortus E L, Lemay S P, Barber E M, et al. Canadian Biosystems Engineering, 2009, 51: 6.9.
- [12] Zhang Y, He Y. Bioresource Technology, 2006, 97: 2024.
- [13] Suresh A, Choi H L. Bioresource Technology, 2011, 102: 8848.
- [14] Musikavong C, Wattanachira S. Environ. Monit. Assess., 2007, 134: 489.
- [15] Coble P G. Marine Chemistry, 1996, 51(4): 325.
- [16] Yamashita Y, Tanoue E. Marine Chemistry, 2003, 82(3): 255.
- [17] Fasching C, Behounek B, Singer G A, et al. Scientific Reports, 2014, 4(2): 4981.
- [18] Hall E K, Maixner F, Franklin O, et al. Ecosystems, 2011, 14(2): 261.
- [19] Wu F C, Kothawala D N, Evans R D, et al. Applied Geochemistry, 2007, 22: 1659.

# Characterizing Dissolved Organic Matter (DOM) in Wastewater from Scale Pig Farms Using Three-Dimensional Excitation-Emission Matrices (3DEEM)

LI Lei<sup>1, 2</sup>, LI Zhong-pei<sup>1, 2\*</sup>, LIU Ming<sup>1, 2</sup>, MA Xiao-yan<sup>1, 2</sup>, TANG Xiao-xue<sup>1, 2</sup>

1. State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China
2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

**Abstract** The properties of material composition in swine wastewater are closely related to its potential environmental effects, and it could provide theoretical bases for formulating scientific resource management measures to study the composition of organic matter in wastewater. In the present study, swine wastewater was directly collected from waste-retention basins in various scale pig farms with a different farming scale (based on the annual pig slaughter), namely Cheng Lin (CL, 5 000), Wu Yang-gao (WYG, 2 000), Wan Gu (WG, 20 000), and Zhang Bang (ZB, 24 000), located in Yujiang County of Jiangxi Province. The main purpose of this study was to characterize dissolved organic matter (DOM) in swine wastewater using three-dimensional excitation-emission matrices (3DEEM) and parallel factor analysis (PARAFAC). Results of all samples examined showed, with respect to CL and WYG farm, chemical oxygen demand (COD), total nitrogen (TN), ammonium nitrogen ( $\text{NH}_4^+$ ), and dissolved organic carbon (DOC) concentration in swine wastewater was significantly higher than WG and ZB farm. Three DOM components, including two protein-like components (C1, C2) and one humic-like component (C3), were identified in wastewater using 3DEEM and PARAFAC. Results of linear regression showed, the fluorescence intensity of C1 linked significantly with C2 ( $p < 0.001$ ) and C3 ( $p < 0.001$ ), respectively, suggesting a same source or similar variation trend existed possibly between different DOM components. Furthermore, consistent with the variation trend of nutrient concentration in wastewater, fluorescence intensity of each DOM component in CL and WYG farm was significantly higher than WG and ZB farm. The total contribution of C1 and C2 to DOM in swine wastewater was CL (89.7%), WG (77.5%), WYG (87.9%), and ZB (72.9%), respectively, and the percentage of C3 was CL (10.3%), WG (22.5%), WYG (12.1%), and ZB (27.1%), respectively. Thus, the percentage of two protein-like components was significantly higher than humic-like in swine wastewater. Meanwhile, the fluorescence indices FI370 and humification index (HIX) of WG and ZB farm were higher than CL and WYG. In addition, Pearson correlation analysis showed that the effects of environmental parameters on fluorescence indices were different, and COD and DOC concentrations were significantly correlated with the fluorescence intensities of DOM components in swine wastewater. In summary, to a certain degree, the nutrient levels affected formation of fluorescence characteristics and DOM compositions in swine wastewater between different scale pig farms.

**Keywords** Scale pig farm; Wastewater; Dissolved organic matter; Three-dimensional excitation-emission matrices (3DEEM); Parallel factor analysis (PARAFAC)

(Received Aug. 26, 2015; accepted Dec. 20, 2015)

\* Corresponding author