

畜禽污水水质光谱方法检测研究

谢语晨, 龚杨勇, 蔡艳, 鲍国涵, 张微微*

滁州学院生物与食品工程学院, 安徽 滁州

收稿日期: 2024年6月4日; 录用日期: 2024年7月5日; 发布日期: 2024年7月16日

摘要

本研究利用三维荧光光谱技术和平行因子分析及相关性分析探讨畜禽污水的溶解性有机质(DOM)组成。通过PARAFAC得出畜禽污水主要含4种荧光组分分别为C1(微生物活动相关产物)、C2(类腐殖质酸)、C3(类色氨酸)、C4(类胡敏酸)。依据荧光组分占比,不同来源水体荧光组分及DOM物质来源清晰。结合测定溶解氧、化学需氧量(COD)、pH、电导率等指标建立畜禽污水水质相关性分析,得出C1、C2、C3与pH、COD呈显著正相关($P < 0.01$)。综合分析得出荧光组分可作为畜禽污水物质动态追踪,荧光光谱检测技术在一定程度上可替代常规理化分析,为水质监测及治理提供快速、有效的手段。

关键词

畜禽污水, 荧光光谱技术, 平行因子分析

Research on Spectral Method for Detection of Water Quality in Livestock and Poultry Wastewater

Yuchen Xie, Yangyong Gong, Yan Cai, Guohan Bao, Weiwei Zhang*

School of Biological Science and Food Engineering, Chuzhou University, Chuzhou Anhui

Received: Jun. 4th, 2024; accepted: Jul. 5th, 2024; published: Jul. 16th, 2024

Abstract

In this study, three-dimensional fluorescence spectroscopy, parallel factor analysis and correlation analysis were used to investigate the composition of dissolved organic matter (DOM) in livestock wastewater. The results of PARAFAC showed that the four main fluorescence components were C1 (microbial activity related product), C2 (humic acid-like), C3 (tryptophan-like) and C4

*通讯作者。

(humic acid-like). According to the proportion of fluorescence components, the source of fluorescence components and DOM substances in different water bodies was clear. Based on the determination of dissolved oxygen, Chemical oxygen demand (COD), pH and electrical conductivity, the correlation analysis of livestock and poultry wastewater quality was established. The results showed that C1, C2, C3 were positively correlated with pH and COD ($P < 0.01$). The fluorescence spectrum detection technology can replace the conventional physical and chemical analysis to a certain extent, and provide a rapid and effective means for water quality monitoring and treatment.

Keywords

Livestock and Poultry Wastewater, Fluorescence Spectroscopy Technology, Parallel Factor Analysis

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

随着我国畜禽养殖业规模化、集约化的发展[1], 畜禽粪便排放密度逐渐增加, 导致水生生物的大量丧失[2]。现阶段, 全国农村用于农业生产产生的畜禽粪便约 4.5×10^9 t [3] 畜禽养殖污染已成为我国环境污染急需解决的问题之一。因此, 建立一种快速检测畜禽污水方法可以更早地确保水质, 对附近居民和养殖户的生活和健康提供保障。

溶解性有机质(DOM)由分子大小各异、结构各异的有机物组成, 普遍存在于天然水体中, 对水生生态系统的结构和功能有重要影响[4]。它主要由色氨酸、腐殖酸和富里酸组成, 来源于陆地径流、大气沉降、人类活动和水生生物降解的内源性释放[5]。三维荧光光谱技术作为一种新型的光谱指纹技术, 通过其独特的光谱特征, 具有操作简单、选择性强和成本效益高的特点, 高效揭示了水体中 DOM 的荧光成分[6]。但由于该方法没有对检测出的荧光峰重叠部分进行完全扣除, 所得图谱不精准。因此, 利用化学计量学对三维荧光光谱数据进行特征组分提取, 才能更好解析 DOM。Ignatev 等[7]采用三维荧光光谱法对某污水处理厂废水中的 DOM 进行了观察, 发现酪氨酸样、色氨酸样、腐殖质样和富里酸样物质是污水中存在的主要荧光成分; 李晓洁等[8]采用平行因子分析和三维荧光光谱技术, 对浑河在沈阳市的支流西河的 DOM 组成及分布特征进行了分析; 黄廷林等[9]通过对周村水库夏季水样三维荧光光谱的检测, 对周村水库 DOM 组分特征进行了调查研究。而在畜禽污水中, 常规水质监测仍旧采用理化指标测定, 如化学需氧量、酸碱度等, 所得的结果片面性强, 因此这种方法往往要求对多个指标进行综合分析[10], 且测定步骤繁琐、耗时耗力, 无法及时有效地实时在线检测。

基于以上研究, 本项目以市内郊区某奶牛场、猪场、鸭鹅混合养殖场等畜禽污水和校园荷花池水作为研究对象, 通过检测水体三维荧光光谱, 结合平行因子分析方法获取 DOM 组分特征, 分析指标相关性, 提高水质监测能力。项目为畜禽规模化养殖场等水质品质快速预测及治理提供思路, 为推进宜居宜业和美乡村建设打下坚实基础。

2. 材料与方

2.1. 材料、试剂与仪器

水样来源: 奶牛场、猪场、鸭鹅混合养殖场、校园荷花池。

试剂：浓硫酸、0.01 mol/L 高锰酸钾溶液、0.02 mol/L 硫代硫酸钠标准溶液、1% 淀粉溶液、碱性碘化钾溶液、硫酸锰溶液、超纯水、无水乙醇、化学需氧量(COD)测定试剂盒。

仪器：紫外可见分光光度计(UV-1900; 岛津仪器有限公司)、荧光分光光度计(F97XP; 上海棱光技术有限公司)、ME104 型电子天平(Mettler toledo 公司)、水浴锅、pH 计、笔式电导率仪(DDB-12L)。

2.2. 试验样本

样本采集：采取奶牛场、猪场、鸭鹅混合养殖场、校区荷花池等不同样点水各三份装入 1.5 L 采样瓶中[11]，并分装进 100 mL 瓶中，依次加入 0.4 mL 硫酸锰溶液、0.8 mL 碱性碘化钾用以固定溶解氧，封瓶贴上标签写明样品、日期等。

样品处理：将样品用 0.22 μm 滤膜进行过滤。奶牛场原液和发酵液由于掺杂的杂质过多，需要预先进行纱布过滤，并稀释 10 倍处理。

2.3. 测定指标及方法

2.3.1. 三维荧光光谱测定

开启荧光分光光度计进行预热，约 5 分钟。预热完成后，设置激发波长(E_x)为 200~650 nm，发射波长(E_m)为 200~800 nm，激发采样间隔为 10 nm，扫描速度为 15,000 nm/min，扫描间隔 1 nm，激发带宽 10 nm，发射带宽 10 nm。一个样品进行 3 次扫描，完毕后导出原始数据表格。以娃哈哈超纯水为空白，后续采用 Delaunay 三角形内插值法扣除空白荧光光谱，消除拉曼散射对结果的影响；为了消除瑞利散射的影响，将其相关数据设置为 0 [12]。用 Matlab R2018b 软件畜禽养殖废水荧光光谱数据进行绘图并进行组分分析。

2.3.2. 理化指标的测定

(1) 溶解氧

加入 0.8 mL 浓硫酸至水样中，盖盖摇动均匀，使沉淀物溶解，把样品置于阴暗处避光 5 min，充分析出 I_2 。精确移取 50 mL 水样于锥形瓶内，用标准 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液滴定至浅黄色(接近滴定终点)，加入 2 mL 淀粉溶液，继续滴定，使蓝色变为无色且半分钟内不褪色。记下消耗 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 标准溶液的体积，平行测定三次[13]。

$$\bar{V}_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} (\text{ml}) = [V_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} (\text{I}) + V_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} (\text{II}) + V_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} (\text{III})]$$

$$\text{溶解氧} (\text{mg/L}) = \bar{C}_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} \times \bar{V}_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} \times 32/4 \times 1000/V_{\text{水}}$$

(2) 化学需氧量(COD)

精确量取水样和纯水各 5 mL 于比色管中，依次加入硫酸 5 mL、0.01 mol/L 高锰酸钾溶液 1.25 mL，置于 100°C 的水浴锅内加热消解 30 min。冷却至室温后，在波长 525 nm 处测定吸光度[14]。

(3) pH

将 pH 计校准后，分别测定 3 次水样和纯水的 pH 值。

(4) 电导率

将笔式电导率笔校准后，分别测定 3 次水样和纯水的电导率值。

2.4. 数据处理与方法

将所有记录的三维荧光光谱数据以“xlsx”数据导入并排列成三线性多路数据数组；在采用 MATLAB R2018b 进行 PARAFAC 分析之前，根据 Stedmon [15]等人描述的方法对数据集进行预处理、校正和归一

化; 采用 Origin 绘制相关性热图。

3. 结果与分析

3.1. 三维荧光光谱

3.1.1. 不同来源水体荧光特征

奶牛场、猪场、鸡鸭混合养殖场、校区荷花池等水体等高线见图 1。如图 1(a)显示了奶牛场畜禽污水的荧光主要存在于三个区域。在 400 nm/686 nm 附近存在荧光峰, 显示出最强的荧光(强度超过 10,000), 在 400 nm/423 nm 附近显示出荧光峰, 显示出中等的荧光水平(强度约为 7630), 600 nm/680 nm 附近没有明显的荧光峰, 只有具有弱荧光信号的峰带。图 1(b)的分析表明, 猪场畜禽污水原液荧光主要在单个区域显示荧光特性, 荧光峰以 340 nm/436 nm 为中心, 强度约为 8139。图 1(c)来自鸡、鸭和鹅混合养殖场

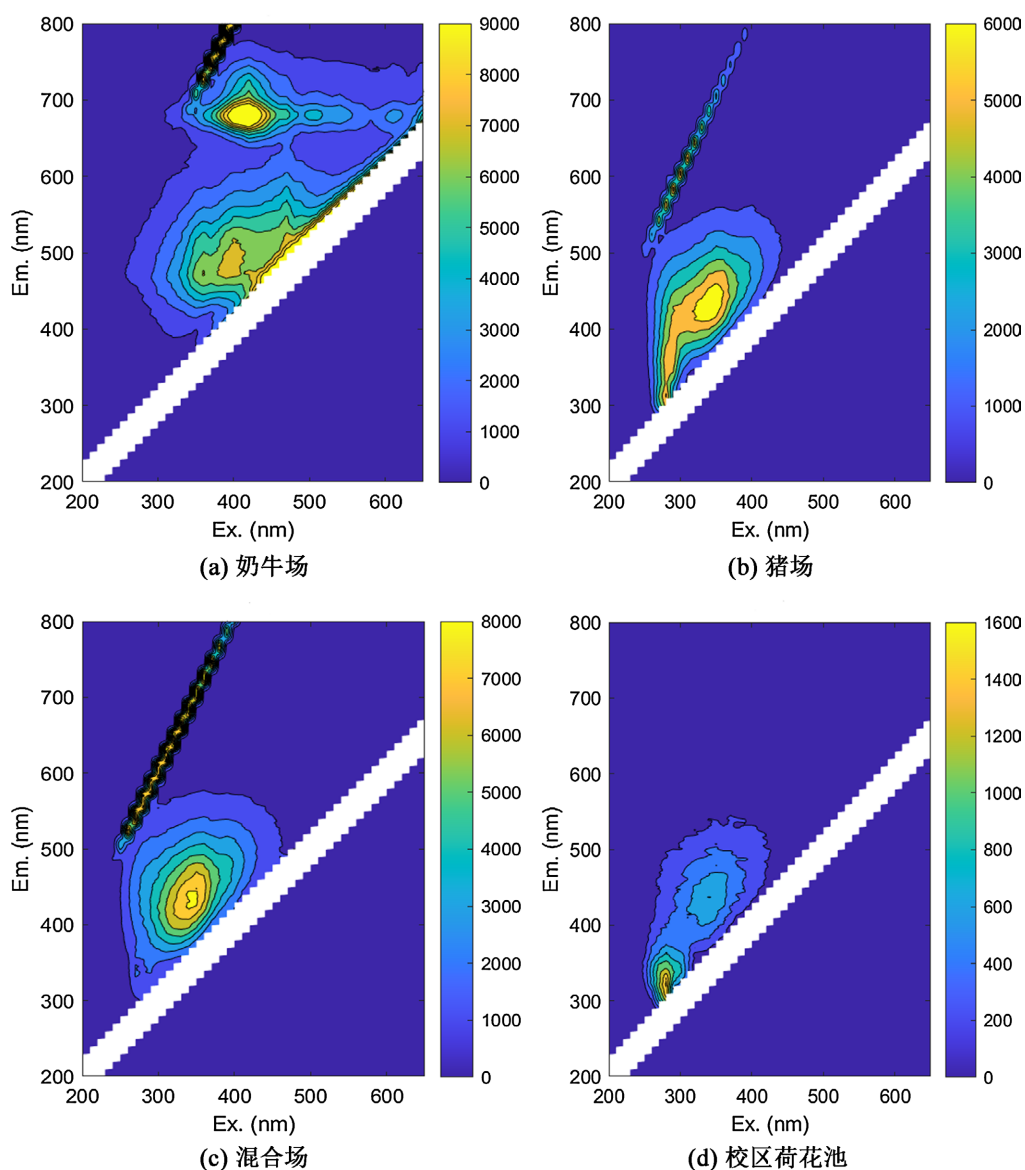


Figure 1. Contour maps of water bodies from different sources

图 1. 不同来源水体等高线图

的畜禽污水的荧光主要占据单个区域，荧光中心位于约 360 nm/434 nm 处，强度约为 8602。如图 1(d)，校区荷花池水样荧光在 290 nm/300 nm 附近，荧光强度为 1635。连续采集的水样在平行实验中得到的图谱数据都有相似的荧光峰，说明了畜禽污水原液样品中有机成分的稳定性保持不变，样品间具有一致性。

通过对目标分子的发射和激发波长范围的检查，可以确定每个荧光峰类型。250~330 nm/200~250 nm 范围内检测到酪氨酸物质、在 270~290 nm/320~370 nm 内检测到色氨酸物质、380~550 nm/220~250 nm 范围内含有富里酸物质、在 250~380 nm/250~600 nm 范围内包含微生物活动相关产物物质、250~440 nm/250~461 nm 范围内检测到含有类腐殖酸物质[16]。结果表明，奶牛场畜禽污水原液中含量最多的物质是类腐殖酸；猪厂原液中含量最多的物质为微生物活动相关产物。该结果与采样环境吻合度较高。图中清晰可见奶牛场的荧光物质与其他畜禽废水样品的显著不同，存在最大荧光峰值的偏移，即红移。归因于畜禽污水中溶解有机物(DOM)的腐殖化水平增加，导致金属阴离子和氧阳离子的电子吸收基团的浓度升高，以及芳烃的增加，从而提高了污染物大分子中链芳环和共轭不饱和键的数量。

3.1.2. PAPAFACT 模型分析

由于不同物质之间的荧光光谱重叠，因此无法很好的采用三维荧光光谱对特定物质进行准确分类，只能粗略地对特定荧光区域中主要贡献物质进行判断。因此，采用 PAPAFACT 模型[17]对畜禽养殖废水进行分离，以此更好解析各畜禽污水的荧光源。

畜禽污水样品各成分荧光光谱，经解析得到 4 种组分，见图 2。组分 1 在 330 nm 处有单个激发峰，组分 2 分别在 270 nm 和 360 nm 处有共计两个激发峰。组分 3 在 280 nm 处有单个激发峰，组分 4 在 410 nm 处存在单个激发峰。结合资料(表 1)，综合分析得，C1 是微生物活动相关产物，主要是由于浮游生物的活动，由于浮游生物的相互作用导致荧光物质分子结构不稳定[18]；C2 是类腐殖质酸，常见于农业和家庭污水，它具有复杂的分子结构和比富里酸更强的芳香性质，在人类活动区和农田附近的水体中普遍存在。它与有机肥料的使用有关，并且对微生物分解或光降解具有抵抗力[19]；C3 是类色氨酸，通常来源为水中浮游植物和微生物分解产生的溶解物质。它通常以游离形式存在或与大分子蛋白质结合，存在于垃圾填埋场的渗滤液中，并受到通过生活污水和废水排放引入的微生物的影响[20]；C4 为类胡敏酸，主要来源于生活污水[21]。

利用 PARAFAC 获得的 F_{max} 参数进行评估各种水体中溶解有机物(DOM)的比例，结果如图 3。由图 3 可知畜禽养殖场水样的 F_{max} 值显著高于校区，表明污染严重。这可归因于水循环有限、沉积物堆积时间长、畜禽养殖场的废水直接排放以及生活污水等因素。来自学校场地的水样的 F_{max} 相对较低，水质较好，主要为水池水源，造成污染主要是由于水循环有限、枯草覆盖以及沉积物沉积造成的。每个采样点的 DOM 荧光光谱均呈现出图 3 所示的 4 种荧光物质。这表明畜禽污水和校区水体中的荧光成分在类别和来源上是一致的，DOM 荧光成分的组成没有显著差异。其中，牛场畜禽污水水样类胡敏酸质量相对占比最大，为 58%，类色氨酸的质量相对占比最小，为 4%；猪场水样类胡敏酸质量相对占比最小，为

Table 1. Characteristics of fluorescence components of DOM in livestock and poultry sewage samples

表 1. 畜禽污水样品 DOM 荧光组分特征

组分	Ex/Em/nm	物质	文献中的波长(nm)
C1	330, 410	微生物活动相关产物	250~380, 250~600
C2	360, 450	类腐殖质酸	250~440, 250~461
C3	280, 360	类色氨酸	270~290, 320~370
C4	410, 500 (620)	类胡敏酸	350~440, 430~620

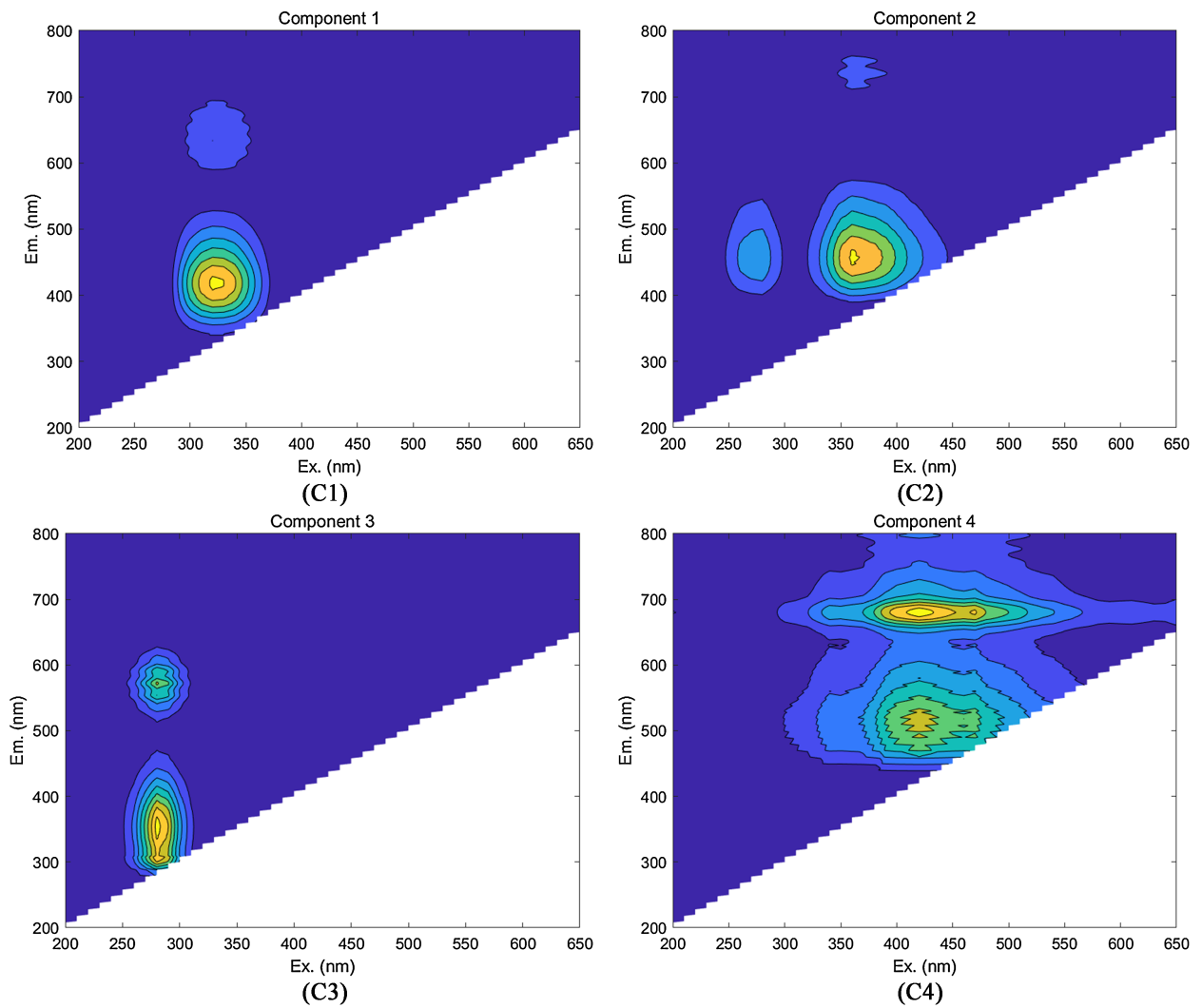


Figure 2. PARAFAC analysis of DOM fluorescence components in livestock and poultry sewage

图 2. PARAFAC 解析畜禽污水 DOM 荧光组分

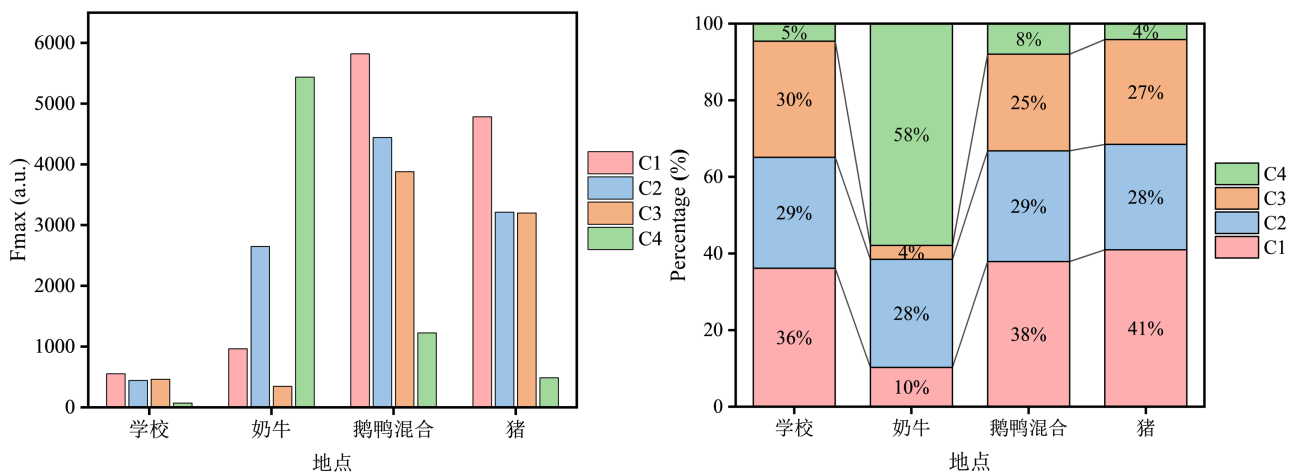


Figure 3. F_{max} value and proportion of fluorescence components of DOM in each water sample

图 3. 各水样 DOM 的荧光组分 F_{max} 值及其占比

4%，而类色氨酸、类腐殖质酸、微生物活动相关产物的质量相对占比相当。

3.1.3. 相关性分析

为进一步确定畜禽污水水样 DOM 的来源，对畜禽污水水样基于水质参数(COD、电导率、pH、溶解氧)及三维荧光光谱参数指标进行了相关性分析，热力图结果如图 4。由图结果表明，C4 与水质参数溶解氧、电导率均显著正相关($P < 0.01$)，C1、C2、C3 与水质参数 COD、pH 均显著正相关($P < 0.01$)。其中，C3 与 COD、pH 的相关性最强($r = 1.0, P < 0.01$)，同时，C1、C2、C3 各组分之间也均具有显著的相关性($r = 1.0, P < 0.05$)。因此，利用水样 DOM 特征参数和水质参数对水样溶解有机质(DOM)组分进行相关性分析，有助于评估畜禽废水的有机质性质，更有效地评估和管理控制有机污染物。



Figure 4. Correlation heatmap of water quality parameters and three-dimensional fluorescence parameters of sewage samples

图 4. 污水水样水质参数及三维荧光参数指标的相关性热图

4. 结论

(1) 畜禽污水进行三维荧光指纹特征分析，具有明显优势，对畜禽污水的监管和水质监测具有重要的参考价值。

(2) 通过 PARAFAC 得出畜禽污水 4 组分荧光光谱模型，组分 C1 为微生物活动相关产物，组分 C2 为类腐殖质酸，组分 C3 为类色氨酸，组分 C4 为类胡敏酸。

(3) 相关性分析显示，DOM 中的组 C1、C2、C3 与 pH、COD 呈显著正相关($P < 0.01$)，组分特征结果可作为畜禽污水物质动态追踪，也给畜禽污水水质变化提供了快速、有效的检测手段。

基金项目

安徽省教育厅重大基金项目(No. 2022AH040154)、滁州市科技局指导性计划(No. 2021ZD025)、校级重点研究项目(No. 2022XJZD22)。

参考文献

- [1] 庄夕栋, 陈明生. 畜禽养殖用水污染的危害[J]. 中国畜牧兽医文摘, 2018, 34(5): 7.
- [2] 严祝东. 规模化畜禽养殖废水处理技术现状探析[J]. 中国畜牧业, 2022(16): 83-84.
- [3] 裴廷权, 程家贵, 成晓阳, 等. 畜禽养殖废水处理工艺分析研究[J]. 皮革制作与环保科技, 2022, 3(16): 100-102.
- [4] 靳百川, 蒋梦云, 白文荣, 等. 三维荧光光谱-平行因子法解析再生水补给人工湿地 DOM 的光谱特征[J]. 光谱学与光谱分析, 2021, 41(4): 1240-1245.
- [5] 张博, 高建文, 范绍锦, 等. 南湖水系溶解性有机质来源及时空分布特征[J]. 环境工程技术学报, 2020, 10(6): 912-919.
- [6] 程澄, 钱玉亭, 黄振荣, 等. 江苏江阴污水处理厂排水的三维荧光光谱特征[J]. 光谱学与光谱分析, 2021, 41(12): 3791-3796.
- [7] Dubber, D., Knappe, J. and Gill, L.W. (2021) Characterisation of Organic Matter and Its Transformation Processes in On-Site Wastewater Effluent Percolating through Soil Using Fluorescence Spectroscopic Methods and Parallel Factor Analysis (PARAFAC). *Water*, **13**, Article No. 2627. <https://doi.org/10.3390/w13192627>
- [8] 李晓洁, 高红杰, 郭冀峰, 等. 三维荧光与平行因子研究黑臭河流 DOM[J]. 中国环境科学, 2018, 38(1): 311-319.
- [9] 黄廷林, 方开凯, 张春华, 等. 荧光光谱结合平行因子分析研究夏季周村水库溶解性有机物的分布与来源[J]. 环境科学, 2016, 37(9): 3394-3401.
- [10] 夏鹏田. 基于三维荧光光谱的海水荧光溶解有机物光谱特征与检测方法研究[D]: [硕士学位论文]. 杭州: 浙江大学, 2022.
- [11] 张晓亮, 王洪波, 杨芳, 等. 山东省平度市农村黑臭水体 DOM 三维荧光光谱的平行因子分析[J]. 环境工程技术学报, 2022, 12(3): 651-659.
- [12] 高贝贝, 王欣, 胡术刚, 等. 畜禽养殖废水的三维荧光特征[J]. 环境监测管理与技术, 2022, 34(1): 60-63.
- [13] 车光兰. 测定水中溶解氧的方法探究[J]. 中国市场, 2015(2): 35-36.
- [14] 范海啸. 水中高锰酸钾指数的测定方案设计[J]. 盐科学与化工, 2020, 49(7): 9-13.
- [15] Stedmon, C.A. and Bro, R. (2008) Characterizing Dissolved Organic Matter Fluorescence with Parallel Factor Analysis: A Tutorial. *Limnology and Oceanography: Methods*, **6**, 572-579. <https://doi.org/10.4319/lom.2008.6.572b>
- [16] Dartnell, L.R., Roberts, T.A., Moore, G., et al. (2013) Fluorescence Characterization of Clinically-Important Bacteria. *PLOS ONE*, **8**, 752-770. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075270>
- [17] 祝鹏, 刘成林, 祝飞. 平行因子法分解成分分析在三维荧光光谱数据中的实现[J]. 光谱学与光谱分析, 2015, 35(6): 1611-1617.
- [18] 黄昌春, 李云梅, 王桥, 等. 基于三维荧光和平行因子分析法的太湖水体 CDOM 组分光学特征[J]. 湖泊科学, 2010, 22(3): 375-382.
- [19] 张春华, 黄廷林, 方开凯, 等. 同温混合初期主库区沉积物间隙水 DOM 的光谱特征——以周村水库为例[J]. 中国环境科学, 2016, 36(10): 3048-3055.
- [20] 闫晓寒, 韩璐, 文威, 等. 辽河保护区水体溶解性有机质空间分布与来源解析[J]. 环境科学学报, 2021, 41(4): 1419-1427.
- [21] Ballesteros, S.G., Costante, M., Vicente, R., Mora, M., Amat, A.M., Arques, A., et al. (2017) Humic-Like Substances from Urban Waste as Auxiliaries for Photo-Fenton Treatment: A Fluorescence EEM-PARAFAC Study. *Photochemical & Photobiological Sciences*, **16**, 38-45. <https://doi.org/10.1039/c6pp00236f>