

活体浮游植物同步荧光光谱特征分析研究

唐晓静¹, 张前前^{1*}, 类淑河², 苏荣国¹, 祝陈坚¹, 王修林¹

1. 中国海洋大学化学化工学院, 山东 青岛 266003
2. 中国海洋大学数学系, 山东 青岛 266071

摘要 测量了东海五种常见浮游植物在3个温度(25, 20, 15 °C)、3个光照(7 000, 4 100, 1 100 Lx)下的不同生长期的同步扫描荧光光谱, 对其进行了多项式平滑和归一化处理, 考察了同种藻的光谱相似性, 并用主成分分析确立了其标准谱。分析结果表明, 中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*, Sk)、等鞭金藻(*Isochrysis galbana*, Is)、岛国大扁藻(*Platymonas helgolandica*, Pl)的特征光谱相似度高, 塔玛亚历山大藻(*Alexandrium tamarense*)和裸甲藻(*Gymnodinium stein*)的光谱相似度稍差。实验所用的硅藻中肋骨条藻与甲藻塔玛亚历山大藻、裸甲藻的标准光谱明显不同。

关键词 浮游植物; 同步荧光光谱; 主成分分析; 特征谱

中图分类号: O657.3, Q949.2 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-0593(2007)03-0556-04

引言

浮游植物的种类和数量是海洋环境监测的常规内容, 赤潮灾害促使人们研究开发能够直接、快速进行浮游植物定性定量分析的方法^[1,2]。海洋浮游植物含有不同组成的色素, 表现出不同特征的荧光光谱。利用荧光光谱鉴定浮游植物色素种类的研究开始于20世纪80年代, Yentsch^[3]等根据叶绿素/辅助色素比率, 将不同海域主要海洋浮游植物分为四大类, 但无法区分硅藻和甲藻。Seppälä(芬兰)等^[4,5]利用三维荧光光谱, 检测了浮游植物群落结构的变化。近年来我们课题组对中国东海优势藻和典型赤潮藻的三维荧光光谱进行了特征提取和判别分析的研究^[6-8], 并且测量了其同步扫描荧光光谱。

同步扫描技术是由Lloyd^[9]首先提出, 即固定激发波长和发射波长波长差扫描所得的荧光光谱图^[10]。与三维荧光光谱相比, 测量时间短; 与常规荧光分析法相比, 同步荧光光谱具有谱图简化, 光散射干扰减少, 灵敏度高等特点, 在对多组分混合物的分析中得到了广泛的应用^[11-14]。鉴于直接测定浮游植物活体的同步荧光光谱不同于测定均匀体系, 而且同一物种不同情形下的光谱特征可能有变化, 我们测量了3个温度、3个光照条件下不同生长期的浮游植物的同步荧光光谱, 研究了同步荧光光谱特征提取的方法, 运用主成分分析得到其标准谱, 扩充了中国东海赤潮多发区主要浮游

植物的荧光光谱谱库, 为实现浮游植物的快速识别和定量分析奠定了基础。

1 实验与数据

1.1 浮游植物荧光光谱测量

表1列出了实验选用的五种浮游植物, 样品由赤潮973项目组提供, 为东海赤潮种或优势种, 由生物专家鉴定纯化藻种。在光照培养箱中, 固定光照周期为12 h/12 h, 分别进行3个温度(25, 20, 15 °C)、3个光照(7 000, 4 100, 1 100 Lx)的培养, 在整个生长周期1~8 d中, 每天定时在光照之前取样测量。采用Hitachi F4500荧光分光光度计, 1 cm石英比色池。同步荧光光谱扫描条件为: 激发波长200~600 nm, 波长差为10 nm, 激发狭缝5 nm, 发射狭缝10 nm, 扫描速度1 200 nm·min⁻¹, 间隔0.2 nm。每个样品平行测量2次。

1.2 数据分析

光谱实验得到五种浮游植物在3个温度、3个光照条件, 整个生长阶段下共计720个样品光谱数据(每个藻种应有144个同步荧光光谱数据)。在Matlab (Version 6.1, Mathworks Inc.)环境下, 将原始同步荧光光谱数据读入, 并以多维结构体形式储存。将结构体进行多项式平滑^[15]以及归一化等预处理, 对得到的光谱数据矩阵进行主成分分析^[16], 以确立标准谱。

收稿日期: 2005-12-16, 修订日期: 2006-03-28

基金项目: “863”计划项目(2002AA639620, 2004AA639620)资助

作者简介: 唐晓静, 女, 1980年生, 中国海洋大学化学化工学院硕士研究生

*通讯联系人

e-mail: qqzhang@ouc.edu.cn

Table 1 Phytoplankton species included in the test

No.	藻种	门类
1	塔玛亚历山大藻 <i>Alexandrium tamarense</i> (Al)	甲藻门 Dinophyta
2	裸甲藻 <i>Gymnodinium stein</i> (Gy)	甲藻门 Dinophyta
3	中肋骨条藻 <i>Skeletonema costatum</i> (Sk)	硅藻门 Bacillariophyta
4	等鞭金藻 <i>Isochrysis galbana</i> (Is)	金藻门 Chrysophyta
5	岛国大扁藻 <i>Platymonas helgolandica</i> (Pl)	绿藻门 Chlorophyta

2 结果与讨论

2.1 光谱相似性初步考察

同步荧光数据是在激发波长 200 ~ 600 nm 范围内, 以 0.2 nm 的步长扫描的, 最后生成 2 001 个数据点, 因此每条光谱构成一个 2 001 × 1 的矩阵。由于数据点密集, 原始光谱粗糙, 细小杂峰众多见图 1(a)。为消除噪声, 便于光谱识别, 采用窗口移动多项式平滑法, 在有效去噪的同时保留了光谱的有用信息见图 1(b)。图 1 为金藻的一条光谱在处理前后的谱图, 处理后的谱图平滑, 特征明显。

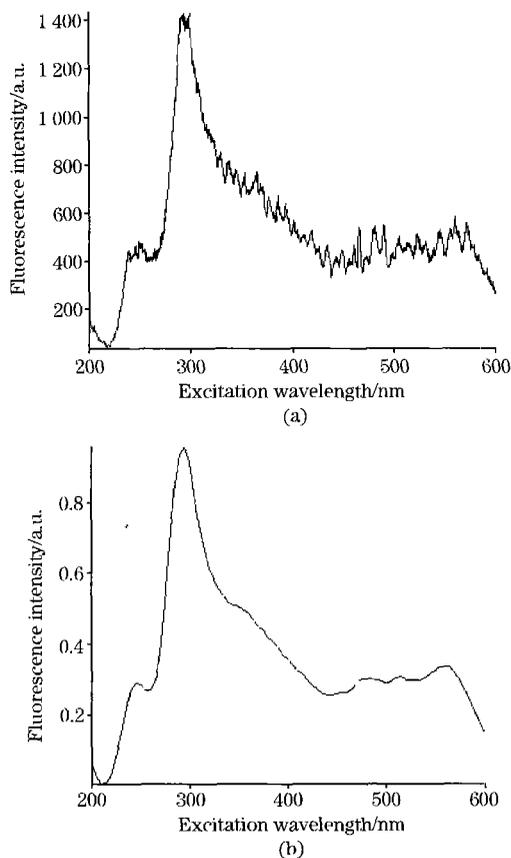


Fig 1 The original and pretreated spectra of Is

在平滑的基础上, 对光谱数据进行范围标度化的归一化处理, 以消除基线的漂移, 处理后的光谱图只反映样品的光谱形状而不代表强度。由于前 20 nm 的谱线对整体光谱无贡献, 且对荧光强度弱的光谱特征有干扰, 因此只考察 220 ~ 600 nm 范围内的光谱。将每个藻种的 144 条光谱排列到一

起, 见图 2, 可以从图形上直观的看到同种藻种之间的相似情况。中肋骨条藻 Sk、等鞭金藻 Is 和岛国大扁藻 Pl 的特征光谱相似度高, 塔玛亚历山大藻 Al 光谱、裸甲藻 Gy 相似度稍差, 这与三维荧光光谱的结果一致^[7]。

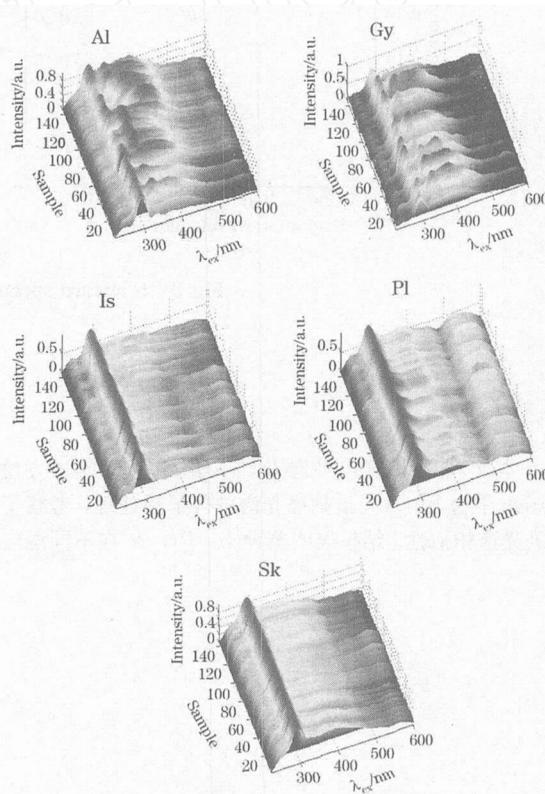


Fig 2 Characteristic spectra of the five species of phytoplankton

2.2 标准荧光光谱的确立

对于浮游植物的多条特征谱, 利用主成分分析法, 确立代表谱。主成分分析的工作目标是要对多变量的平面数据表进行最佳综合简化, 在力保数据信息丢失最少的原则下, 对高维空间进行降维处理^[16]。

通过对特征谱进行主成分分析, 用一个新的变量代替原有的多个变量, 从而确立一条新的代表谱, 新谱尽可能多的表征原有光谱的特征且不丢失信息, 作为藻种的标准谱。其谱图见图 3。由确立的五种藻的标准谱可看出, 所有藻在 300 nm 均明显起峰, 金藻 Is 在 470 nm 处出现低峰, 后面峰形平缓; 绿藻 Pl 在 520 nm 出峰。值得关注的是, 两种甲藻与硅藻的标准谱存在明显区别, 甲藻 Al 和 Gy 在小于 350 nm 的位置明显出峰, 硅藻 Sk 则在 350 nm 之后缓慢起峰。

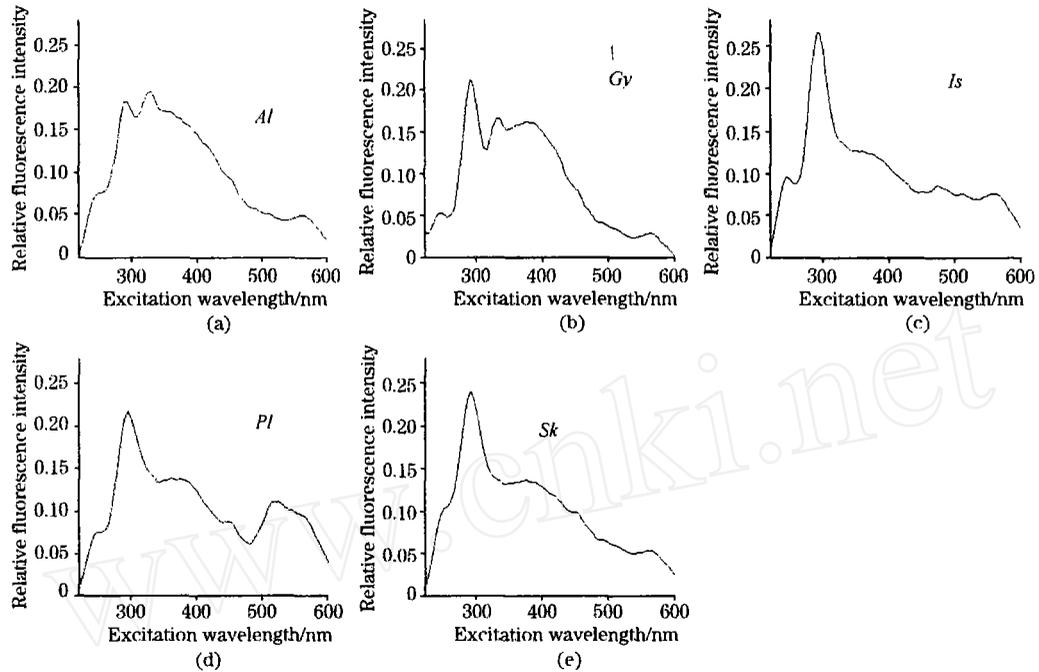


Fig 3 Standard spectra of the five species of phytoplankton

3 结 论

本文利用多项式平滑及归一化处理等数学方法, 在 Matlab 平台上, 对同步扫描光谱进行了预处理, 考察了单种藻的光谱相似性。结果表明藻种 *Is*, *Pl*, *Sk* 在不同温度不同

光照整个生长期中呈现了较高的相似性, 与 *Al*, *Gy* 的光谱相似度稍差。利用主成分分析初步确立了五种藻的同步荧光标准谱, 可填充到荧光谱库。特别值得一提的是, 应在今后的实验中继续补充甲藻和硅藻藻种, 考察其标准谱之间的差异, 如果得到类似结果, 可实现荧光光度法快速区分甲藻和硅藻, 将是一大突破。

参 考 文 献

- [1] ZHANG Qian-qian, WANG Xiu-lin, ZHU Chen-jian(张前前, 王修林, 祝陈坚). Marine Environmental Science(海洋环境科学), 2004, 23(1): 73.
- [2] Chomko R M, Gordon H R, Maritorena S, et al. Remote Sensing of Environment, 2003, 84(2): 208.
- [3] Yentsch C S, Phinney D A. Journal of Plankton Res., 1985, 7(5): 617.
- [4] Seppälä J, Balode M. Journal of Marine Systems, 1999, 23(1): 51.
- [5] Seppälä J, Balode M. Hydrobiologia, 1998, 363(1-3): 207.
- [6] ZHANG Qian-qian, LEI Shu-he, WANG Xiu-lin, et al(张前前, 类淑河, 王修林, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(10): 1227.
- [7] ZHANG Qian-qian, LEI Shu-he, WANG Xiu-lin, et al(张前前, 类淑河, 王修林, 等). Chinese High Technology Letters(高技术通讯), 2005, 15(4): 75.
- [8] ZHANG Qian-qian, LEI Shu-he, WANG Xiu-lin, et al. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2006, 63(2): 361.
- [9] Lloyd J B F. Nature, 1971, 231: 64.
- [10] HE Li-fang, LIN Dan-li, LI Yao-qun(何立芳, 林单丽, 李耀群). Progress in Chemistry(化学进展), 2004, 16(6): 779.
- [11] WEI Yong-feng, LI Xiao-hua, MA Dong-mei(魏永锋, 李小花, 马冬梅). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(4): 588.
- [12] Beltran J L, Ferrer R, Guiteras J. Anal. Chim. Acta, 1998, 373: 311.
- [13] Hernandez J A, Cladera A, Esteal J M, et al. Analyst, 1998, 123: 2235.
- [14] Patra D, Mishra A K. Anal. Lett., 2000, 33(11): 2293.
- [15] Savitsky A, Golay M J E. Anal. Chem., 1964, 36: 1627.
- [16] REN Ruo-en, WANG Hui-wen(任若恩, 王惠文). Multi-Mathematical Statistics Analysis: Thesis, Method, Example(多元统计数据分
析——理论、方法、实例). Beijing: National Defence Industry Press(北京: 国防工业出版社), 1997. 92.

Research on Characterization Analysis of Synchronous Fluorescence Spectra of Living Phytoplankton

TANG Xiao-jing¹, ZHANG Qian-qian^{1*}, LEI Shu-he², SU Rong-guo¹, ZHU Chen-jian¹, WANG Xiu-lin¹

1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China

2. Mathematics Department, Ocean University of China, Qingdao 266071, China

Abstract The synchronous fluorescence spectra of five phytoplankton species growing under three temperatures (25, 20 and 15 °C) and three illuminations (7 000, 4 100 and 1 100 Lx) were measured and processed by multinomial smoothness and autoscaling to obtain the characteristic spectra. Principal component analysis was used to obtain standard spectra. The analysis shows that at different temperatures, the characteristic spectra of *Skeletonema costatum*, *Isochrysis galbana*, and *Platymonas helgolandica* show high similarities, while the spectra similarities of *Alexandrium tamarense* and *Gymnodinium stein* are not as good as the above three species. The standard spectrum of *Skeletonema costatum*, which belongs to Bacillariophyta, is quite different from those of *Alexandrium tamarense* and *Gymnodinium stein*, which belong to Dinophyta.

Keywords Phytoplankton; Synchronous fluorescence spectrum; Principal component analysis; Characteristic spectrum

(Received Dec. 16, 2005; accepted Mar. 28, 2006)

* Corresponding author