

# 浮游植物活体三维荧光光谱特征提取<sup>①</sup>

张前前<sup>②</sup> 类淑河\* 王修林<sup>③</sup> 于 萍 王 磊 祝陈坚

(中国海洋大学化学化工学院 青岛 266003)

(\* 中国海洋大学数学系 青岛 266071)

**摘 要** 测量了 6 种东海常见的浮游植物在两个温度(20℃, 15℃)、三个光照(7000 Lux, 4100 Lux, 1100 Lux)下的不同生长期的三维激发/发射荧光光谱,研究了光谱特征提取方法。对去除散射干扰后的三维光谱进行了奇异值分解,得到的相应于激发光谱的第一主成分具有区分藻种的能力,可作为三维光谱的特征光谱。分析结果表明,实验条件下,等鞭金藻(*Isochrysis galbana*)、岛国大扁藻(*Platymonas helgolandica*)和中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)的特征光谱相似度高,塔玛亚历山大藻(*Alexandrium tamarense*)、东海原甲藻(*Prorocentrum dentatum*)和尖刺拟菱形藻(*Pseudo-nitzschia pungens*)光谱相似度稍差。

**关键词** 浮游植物, 三维荧光光谱, 特征提取, 奇异值分解, 特征光谱

## 0 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<sup>[1,2]</sup>。荧光光谱分析最先用于现场浮游植物分类和数量测量<sup>[3]</sup>。1985 年美国科学家根据荧光光谱中叶绿素/辅助色素比率识别了硅藻/甲藻/颗石粒藻、绿藻、隐藻和蓝藻四个门类<sup>[4]</sup>;20 世纪 90 年代德国 bbe-moldaenke 公司制造了能够储存五类浮游植物的激发荧光光谱指纹的荧光计,用它直接测量海水对这五类浮游植物进行了定性定量,但尚无法区分硅藻和甲藻;2003 年德国的研究人员报告研制了蓝细菌的原位荧光分析仪器<sup>[5]</sup>。

硅藻和甲藻是中国近海的主要赤潮浮游植物。利用三维荧光光谱提供的更丰富的指纹信息有可能快速区分激发光谱、发射光谱均十分相似的硅藻和甲藻。本课题组率先对中国东海赤潮多发区浮游植物优势种及赤潮种的三维激发/发射荧光光谱特征进行了研究,试图通过建立浮游植物标准荧光光谱谱库实现对主要赤潮浮游植物的快速定性识别和定量分析。鉴于直接测定浮游植物活体的三维荧光光

谱不同于测定一均匀体系,而且同一物种不同情形下的光谱特征可能有变化,我们测量了两个温度、三个光照条件下不同生长期的浮游植物的三维荧光光谱,研究了三维荧光光谱特征提取的方法,寻找了适宜的特征光谱,为光谱分类识别、标准谱库建立以及多组分混合体系的定性定量分析奠定了基础。

## 1 实验部分

### 1.1 浮游植物荧光光谱测量

试验所选的 6 种浮游植物(见表 1)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 12h/12h,分别进行两个温度(20℃, 15℃)、三个光照(7000 Lux, 4100 Lux, 1100 Lux)的培养。在两个温度条件和三个光照条件下的整个生长周期(1~8 天)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,1cm 石英比色池。三维荧光光谱扫描范围:激发波长 200~600nm,激发步长 5nm,发射波长 200~800nm,发射步长 5nm,激发狭缝 5nm,发射狭缝 5nm,扫描速度 200nm/s。每个样品平行测量两次。

① 863 计划(2002AA639620, 2004AA639620)和 973 国家重点基础研究发展规划项目(2001CB09703)资助项目。  
② 女,1966 年生,在职博士生,副教授;研究方向:海洋环境分析化学。  
③ 联系人, E-mail: qqzhang@ouc.edu.cn  
(收稿日期:2004-09-01)

表 1 实验用藻名及其归属

No.	物种 Species	门 Division
1	塔玛亚历山大藻 <i>Alexandrium tamarense</i> (Al)	甲藻门 Dinophyta
2	等鞭金藻 <i>Isochrysis galbana</i> (Is)	金藻门 Chrysophyta
3	岛国大扁藻 <i>Platymonas helgolandica</i> (Pl)	绿藻门 Chlorophyta
4	东海原甲藻 <i>Prorocentrum dentatum</i> (Pr)	甲藻门 Dinophyta
5	尖刺拟菱形藻 <i>Pseudo-nitzschia pungens</i> (Ps)	硅藻门 Bacillariophyta
6	中肋骨条藻 <i>Skeletonema costatum</i> (Sk)	硅藻门 Bacillariophyta

## 1.2 数据分析与运行软件

光谱实验得到六种浮游植物在两个温度、三个光照条件下共计 288 个样品光谱数据(每个藻种培养 8 天,每个样品平行测量 2 次,取平均值,因此每个藻种应有 48 个三维光谱数据,但是尖刺拟菱形藻 *Ps* 的生长周期较短,有些样品缺失。为方便统一处理,将缺失样品的光谱置为零矢量)。对每个样品的原始三维光谱数据先进行了去除散射效应等预处理,然后对处理后的数据矩阵依次进行了奇异值分解<sup>[6]</sup>,提取其第一主成分作为特征光谱。上述工作利用 Matlab 软件 (Version 6.1, Mathworks Inc.) 进行。

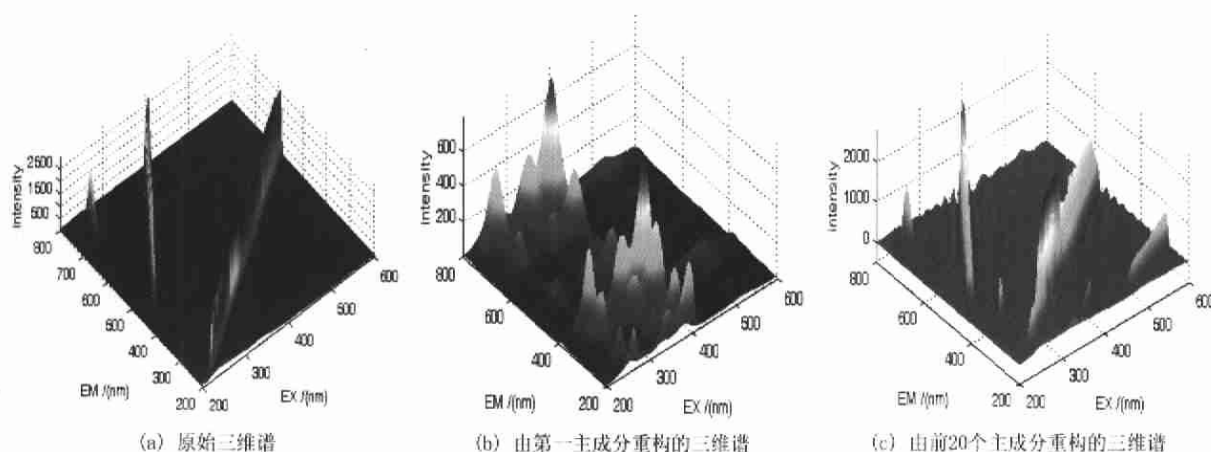
## 2 结果与讨论

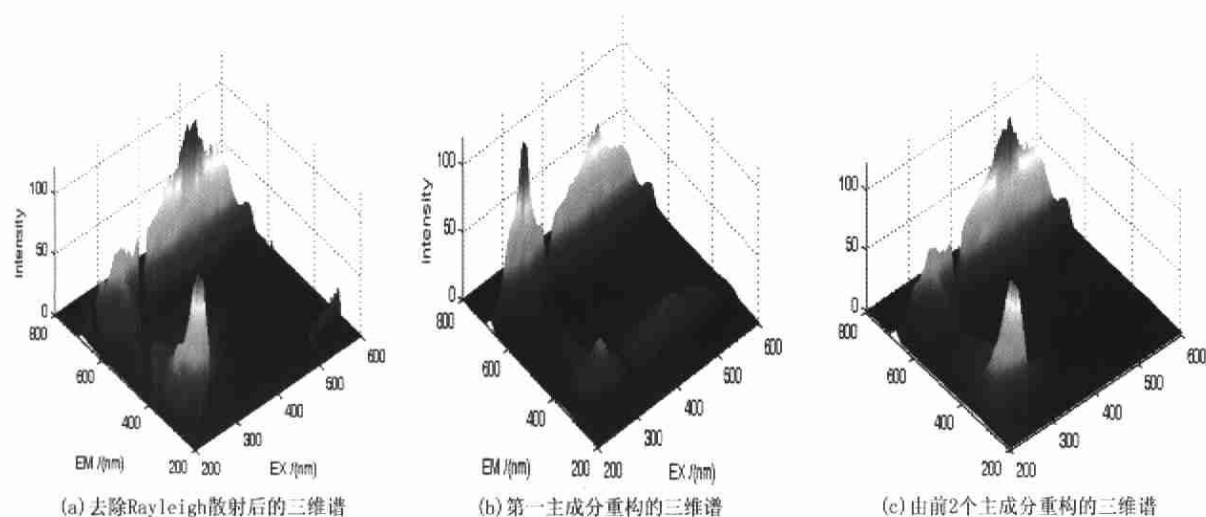
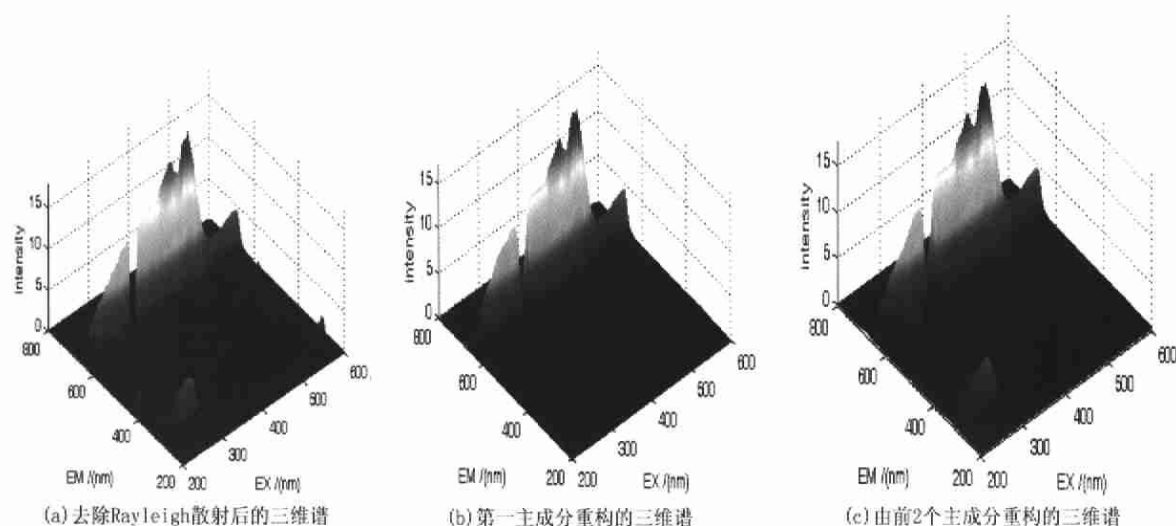
### 2.1 三维荧光光谱特征提取方法

光谱特征提取方法有多种,主成分分析的方法是常用的一种<sup>[7]</sup>。原始三维荧光光谱由于含有 Rayleigh 散射等散射效应,掩盖了光谱的本征特征,不容易有效地提取其光谱特征。图 1(a)为塔玛亚

历山大藻 *Al* 的三维谱图,右边的两个大峰为 Rayleigh 散射峰,左边的是水的拉曼峰,浮游植物的特征吸收强度相对较小。如果用主成分分析的方法提取特征谱,奇异值分解后,只利用少数几个主成分远未表达光谱的本征特征(见图 1(b)、图 1(c)),只有取到 30 个主成分以上,才能基本重构原谱图的本征特征。因此需要先去 Rayleigh 散射等的干扰,再提取光谱特征。

由于 Rayleigh 散射等散射效应的弥漫性与随机性,常规的信号分解与滤波技术很难将其较彻底滤除;鉴于 Rayleigh 散射等散射效应在原始三维荧光光谱中的出现位置相对固定,本文采取了简单的方法——在出现散射的位置将信号置零。尽管这样丢失了一部分信息,但不同浮游植物三维光谱的本征特征得以清晰浮现,例如塔玛亚历山大藻 *Al* 与岛国大扁藻 *Pl* 的光谱差异明显可见,如图 2(a)和图 3(a)所示。更为有利的是,对于去除 Rayleigh 散射等散射效应的光谱数据,其前一、二个主成分已基本提取了三维光谱中的主要信号特征(见图 2 和图 3)。

图 1  $1 \times 10^4$  个/ml 塔玛亚历山大藻 *Al* 的原始三维荧光光谱图

图2  $1 \times 10^4$  个/ml 塔玛亚力山大藻 *Al* 的去除 Rayleigh 散射的三维荧光光谱图图3  $1 \times 10^4$  个/ml 岛国大扁藻 *Pl* 的去除 Rayleigh 散射的三维荧光光谱图

## 2.2 特征光谱的选择

本文的目标是从三维光谱数据中提取、选择能够反映藻种本征光谱特征的特征光谱,要求不同藻种的特征光谱之间有显著差异,而同一藻种的不同光谱之间有较强的相似性。通常,主成分分析方法能够有效提取三维光谱数据的本征特征,但对于本实验所得的原始三维光谱,如前所述,由于 Rayleigh 散射等散射效应的存在,直接运用这一方法并不能获得理想结果。

因此,首先将 288 个原始三维光谱数据利用前述方法进行预处理,去除了 Rayleigh 散射等散射效应的影响,再对处理后的矩阵依次进行奇异值分解。每次取分解得到的得分矩阵第一列  $U1$  与载荷矩阵的第一列  $V1$  作为候选特征光谱, $U1$  对应发射光谱,而  $V1$  对应激发荧光光谱, $U1$  和  $V1$  都是长度归一化

的光谱。分别将得到的 288 个  $U1$  与 288 个  $V1$  分藻种顺次排在一起,组成两个 288 行 81 列的矩阵,记为  $ERU1$  和  $ERV1$ 。其三维图示见图 4(a)和图 4(b),图中样品数目 1-48 为 *Al*, 49-96 为 *Is*, 97-144 为 *Pl*, 145-192 为 *Pr*, 193-240 为 *Ps*, 241-288 为 *Sk*。显然,不同藻种间的  $V1$  对应特征光谱有显著的差异,而  $U1$  对应的光谱特征差异不明显。进一步由图 4(b)可以看出:等鞭金藻 *Is*、岛国大扁藻 *Pl* 和中肋骨条藻 *Sk*,同种内部光谱相似程度高;塔玛亚力山大藻 *Al*、东海原甲藻 *Pr* 和尖刺拟菱形藻 *Ps*,同种内部光谱相似性稍差。这一结果提示,不同温度下, *Al*、*Pr* 和 *Ps* 藻的光谱特征具有一定差异。

如果分温度进行显示,则同类物种光谱相似程度均提高,图 5 所示的是 20℃ 的  $ERV1$ ,样品数目减半。取  $ERV1$  作为原始三维光谱的特征谱库。

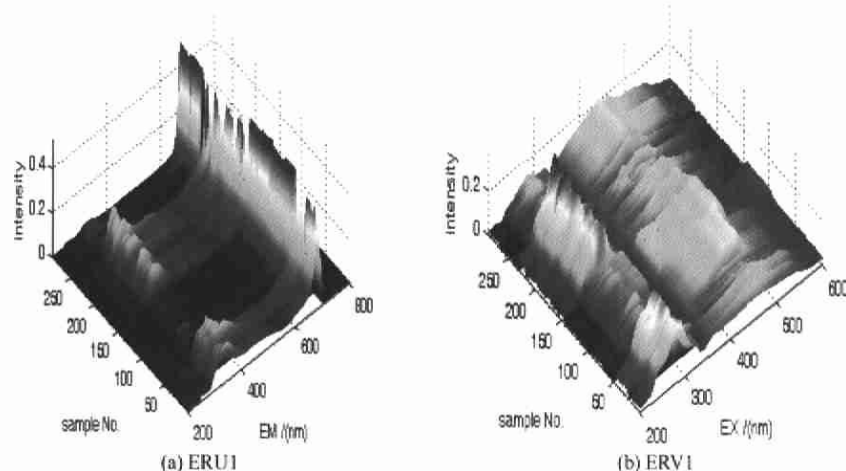


图 4 20°C和 15°C的 ERU1 与 ERV1

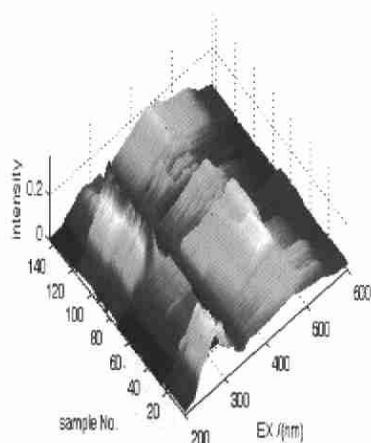


图 5 20°C的 ERV1

### 3 结论

浮游植物活体三维荧光光谱在去除 Rayleigh 散射等干扰后,经奇异值分解所得到的第一主成分代表了三维荧光光谱的主要信号特征。其中载荷矩阵的第一主成分 V1 对应的激发荧光光谱具有区分藻种的能力,结果表明:不同温度下,Is、Pl 和 Sk,同种内部特征光谱相似程度高;Al、Pr 和 Ps,同种内部特征光谱相似性稍差。如果继续选用有效的特征波

段,同时利用得分矩阵的第一主成分 U1 对应的发射荧光光谱的有用信息,必将具有更好的区分藻种的能力。另外,直接利用三维主成分分析的方法<sup>[8]</sup>提取光谱特征,可能会得到更好的结果,这是今后需要进一步研究的工作。

**致谢:** 中国海洋大学数学系刘新国教授对本方法的研究提出了建议并给予指导,在此表示衷心的感谢!

#### 参考文献

- [1] Cullen J J, Ciotti A M, Davis R F, et al. Optical detection and assessment of algal blooms. *Limnol Oceanogr*, 1997, 42 (5, part 2): 1223
- [2] 张前前,王修林,祝陈坚. 赤潮浮游植物种类和数量分析的研究进展. *海洋环境科学*, 2004, 23(1): 73
- [3] 陆斗定. 赤潮的早期探测系统. 见: 世纪初海洋监测高新技术发展战略研讨会论文集, 2000. 56-60
- [4] Yentsch C S, Phinney D A. Spectral fluorescence: an ataxonomic tool for studying the structure of phytoplankton populations. *J Plankton Res*, 1985, 7(5): 617
- [5] Beutler M, Wiltshire K H, Arp M, et al. A reduced model of the fluorescence from the cyanobacterial photosynthetic apparatus designed for the in situ detection of cyanobacteria. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2003, 1604: 33
- [6] 梁逸曾,俞汝勤. 化学计量学. 北京: 高等教育出版社, 2003. 210-213
- [7] 许禄. 化学计量学方法. 北京: 科学出版社, 1995. 195-197
- [8] 倪永年. 化学计量学在分析化学中的应用. 北京: 科学出版社, 2004. 178-185

## Research on feature extractions of excitation-emission matrix spectrum of phytoplankton

Zhang Qianqian, Lei Shuhe\*, Wang Xiulin, Yu Ping, Wang Lei, Zhu Chenjian

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003)

(\* Mathematics Department, Ocean University of China, Qingdao 266071)

#### Abstract

The two-dimensional total fluorescence spectra, termed excitation-emission matrix (EEM) spectra, of six phytoplankton species growing under two temperatures (20°C and 15°C) and three illuminations (7000, 4100 and 1100 Lux) were measured and their feature extraction methods were explored. With simply ordering Rayleigh scattering data as zero, the obtained EEM spectrum was processed by singular value decomposition. The resulting first principal component could be regarded as the characteristic spectrum of the original two-dimensional fluorescence spectrum. The analysis shows that the first principal component of the loading matrix — V1, which represents the excitation spectrum, has the discriminating ability. At different temperatures, the characteristic spectra of *Isochrysis galbana*, *Platymonas helgolandica* and *Skeletonema costatum* have high similarities among its own species samples, while the spectra similarities of *Alexandrium tamarense*, *Prorocentrum dentatum* and *Pseudo-nitzschia pungens* respectively are not as good as the above three species.

**Key words:** phytoplankton, excitation-emission matrix spectrum, feature extraction, singular value decomposition, characteristic spectrum