

# 基于交替三线性分解的浮游藻荧光识别分析技术研究

吴珍珍 姚 鹏 苏荣国 陈小娜 石晓勇

中国海洋大学海洋化学理论与工程技术教育部重点实验室, 山东 青岛 266100

**摘要** 基于浮游藻色素萃取液三维荧光光谱(EEM),利用交替三线性分解(ATLD)和非负最小二乘(NNLS)发展浮游藻群落组成荧光分析技术。将ATLD模型应用于48种浮游藻色素萃取液的EEM,通过残差分析确定浮游藻色素萃取液EEM由14个荧光成分组成。Bayesian判别分析表明浮游藻色素萃取液荧光成分组成具有显著的门类特征性,利用聚类分析将浮游藻色素萃取液荧光成分组成按属水平聚类获得116条特征光谱,使用NNLS方法识别浮游植物群落组成。结果表明:该技术对512个单种藻样品的平均识别正确率为99.8%。对256个实验室混合样品,优势和次优势藻的平均识别正确率分别为93.5%和71.1%。将此技术应用于长江口18个浮游藻膜样品,分析结果与HPLC(高效液相色谱)-CHEMTAX结果基本一致。

**关键词** 光谱学;浮游藻群落组成;三维荧光光谱;交替三线性分解;非负最小二乘

中图分类号 O657; Q949

文献标识码 A

doi: 10.3788/CJL201542.0515003

## Algae Chemotaxonomy Technology by Fluorescence Based on Alternating Trilinear Decomposition Analysis

Wu Zhenzhen Yao Peng Su Rongguo Chen Xiaona Shi Xiaoyong

Key Laboratory of Marine Chemistry Theory and Technology of Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao, Shandong 266100, China

**Abstract** A fluorescence-excitation-emission-matrix (EEM) method for the determination of algae community composition is developed by alternating trilinear decomposition (ATLD) analysis and nonnegative least squares (NNLS). ATLD model is applied to fluorescence EEMs of algal pigment extracts, and 14 fluorescent components are identified according to the residual sum of squares. Bayesian discriminant analysis is used to test the discriminatory capability of 14 fluorescent components. All composition spectra of the fluorescent components for the 48 phytoplankton species are spectrographically clustered into 116 reference spectra by hierarchical cluster analysis. The fluorometric method is developed by NNLS and applied to algal samples. For 512 samples of single-species, the average correctly discriminated rate (CDR) of the five phytoplankton groups is 99.8%. The CDR for the 256 mixture samples is above 93.5% for the dominant algae species and above 71.1% for the subdominant algae species. This method is also tested by the 18 samples from the Yangtze River estuary, the results of the dominant algae groups are in good agreement with HPLC (high performance liquid chromatography)-CHEMTAX.

**Key words** spectroscopy; algae community composition; three-dimensional fluorescence spectrum; alternating trilinear decomposition; nonnegative least squares

**OCIS codes** 300.2530; 300.6170; 100.4993

## 1 引言

浮游植物是海洋生态系统中最主要的初级生产者,在物质循环和能量转化过程中起着重要的作用<sup>[1]</sup>。目前浮游藻检测方法主要有图像分析技术、显微镜技术、流式细胞仪技术、分子探针技术、高效液相色谱法、荧光光谱技术等<sup>[2-6]</sup>。三维荧光光谱技术具有灵敏度高、易于实时现场监测、对物质具有良好的识别性等优

收稿日期: 2014-12-03; 收到修改稿日期: 2015-01-02

基金项目: 国家自然科学基金(41376106)、国家科技重大专项(2012ZX07501)、山东省自然科学基金(ZR2013DM017)

作者简介: 吴珍珍(1988—),女,硕士研究生,主要从事浮游藻监测方面的研究。E-mail: wuzhenzhenqd@163.com

导师简介: 苏荣国(1973—),男,副教授,主要从事浮游藻监测方面的研究。E-mail: surongguo@ouc.edu.cn (通信联系人)

点,近年来已逐渐受到生物医学、食品科学、环境监测、浮游植物光合色素组成等诸多学科领域的青睐<sup>[7-12]</sup>。对三维数阵进行解析,获取有效荧光组分是对三维荧光光谱技术应用的挑战,研究者往往采用化学计量学方法解析三维荧光数据,包括平行因子分析(PARAFAC)、小波技术、荧光体积积分(FRI)、人工神经网络(ANN)等。PARAFAC在实际运用中存在一些不足,如PARAFAC算法对预估计的组分数比较敏感,容易受随机初始值及多重共线性影响,而且收敛速度缓慢,适用于组分数能够准确估计的三维数据的分辨<sup>[13]</sup>。吴海龙等<sup>[14]</sup>针对三维数据阵分解的特点,基于交替最小二乘原理提出了交替三线性分解(ATLD)算法。ATLD算法对组分数不敏感,已成功用于多组分同时定量分析研究<sup>[15]</sup>。Liu等<sup>[16]</sup>利用高效液相色谱(HPLC)结合ATLD二阶校正方法实现了血液样品和中药等复杂体系中主要成分的定量分析。王子等<sup>[17]</sup>利用HPLC-ATLD技术对血浆中抗癌药物姜黄素、盐酸阿霉素和白藜芦醇的含量进行了定量分析研究。黄蕾等<sup>[18]</sup>基于三维荧光光谱-交替三线性分解(EEM-ATLD)技术对化妆品中的芦丁进行了定量测定。卿湘东等<sup>[19]</sup>利用EEM-ATLD技术快速检测了块茎类蔬菜、污水和土壤中克百威的残留量。朱纯等<sup>[20]</sup>利用EEM-ATLD测定了食品色素混合溶液中诱惑红、日落黄和亮蓝的浓度。这些研究表明EEM-ATLD技术对荧光性混合物中各成分的良好鉴别能力和应用潜力。基于此,本文利用EEM-ATLD技术分析浮游藻色素萃取液荧光成分,并以此荧光成分组成为浮游藻的类别特征谱建立浮游藻群落组成荧光分析技术,以实现浮游藻群落组成的快速、低成本测定。

## 2 材料与方 法

### 2.1 藻种的培养

该研究选用的48种我国近海海域常见浮游藻(表1)均来自中国海洋大学海洋污染生态化学实验室。藻种的培养温度为20℃;光照强度为6000 lux和12000 lux;光暗比为12 h:12 h,培养周期为12 d,每4 d取一次样进行荧光测定。

表1 实验使用的48种浮游藻  
Table 1 48 phytoplankton species selected in the study

Division	Genus	Species	Code	
Bacillariophyta	<i>Skeletonema</i>	<i>Skeletonema costatum</i>	Sk	
		<i>Skeletonema marinoi</i>	Sm	
	<i>Chaetoceros</i>	<i>Chaetoceros curvisetus</i>	Cu	
		<i>Chaetoceros debilis</i>	De	
		<i>Chaetoceros gracile</i>	Ca	
		<i>Chaetoceros lorenzianus</i>	Cl	
	<i>Biddulphia</i>		<i>Odontella cf. sinensis</i>	Oc
	<i>Coscinodiscus</i>		<i>Coscinodiscus sp. (CCMP312)</i>	Cf
			<i>Coscinodiscus sp. (CCMP1583)</i>	Cs
	<i>Ditylum</i>		<i>Ditylum brightwellii</i>	Db
			<i>Thalassiosira rotula</i>	Tr
			<i>Thalassiosira weissflogii</i>	Tw
	<i>Thalassiosira</i>		<i>Thalassiosira curviseriata</i>	Tc
			<i>Thalassiosira mala</i>	Th
			<i>Thalassiosira cuiviseriat</i>	Wa
			<i>Leptocylindrus danicus</i>	Ld
	<i>Leptocylindrus</i>		<i>Asterionella japonica</i>	Aj
	<i>Asterionella</i>		<i>Nitzschia closterium</i>	Nc
		<i>Nitzschia</i>		<i>Nitzschia sp.</i>
	<i>Phaeodactylum</i>		<i>Phaeodactylum</i>	Pl
<i>Thalassionema</i>		<i>Thalassiothrix frauenfeldii</i>	Tf	
<i>Cyclotella</i>		<i>Cyclotella cryptica</i>	Cc	
		<i>Cyclotella meneghiniana</i>	Cm	

Division	Genus	Species	Code	
Chlorophyta	<i>Dunaliella</i>	<i>Dunaliella salina</i>	Ds	
	<i>Platymonas</i>	<i>Platymonas subcordiforus</i>	Pu	
	<i>Scenedesmus</i>		<i>Scenedesmus quadricanda</i>	Sq
			<i>Scenedesmus obliquus</i>	So
	<i>Pandorina</i>	<i>Pandorina morum</i>	Pm	
	<i>Chlorococcum</i>	<i>Chlorococcum sp.</i>	Ch	
	<i>Coelastrum</i>	<i>Coelastrum sphaericum</i>	Cs	
	<i>Chlamydomonas</i>	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Cr	
	<i>Ankistrodesmus</i>	<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	Af	
Dinophyta	<i>Alexandrium</i>	<i>Alexandrium tamarense</i>	Al	
	<i>Amphidinium</i>	<i>Amphidinium carterae</i>	Am	
	<i>Prorocentrum</i>		<i>Prorocentrum donghaiense</i>	Pr
			<i>Prorocentrum minimum</i>	Pm
			<i>Prorocentrum marinum</i>	Ma
	<i>Gymnodinium</i>	<i>Gymnodinium simplex</i>	Gs	
	<i>Karenia</i>	<i>Karenia mikimotoi</i>	Km	
	<i>Scrippsiella</i>	<i>Scrippsiella trochoidea</i>	Sc	
Cryptophyta	<i>Rhodomonas</i>	<i>Rhodomonas sp. (CCMP1533)</i>	Rs	
		<i>Rhodomonas salina (CCMP1319)</i>	Ra	
Cyanophyta	<i>Synechococcus</i>	<i>Synechococcus sp.</i>	Sy	
	<i>Microcystis</i>	<i>Microcystis sp.</i>	Mi	
	<i>Aphanizomenon</i>	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	Ap	
	<i>Anabaena</i>	<i>Anabaena sp.</i>	An	
	<i>Oscillatoria</i>	<i>Oscillatoria tenuis</i>	Ot	
	<i>Lyngbya</i>	<i>Lyngbya kuetzingii</i>	Lk	

选取进入平稳期且长势较好的藻种,通过测定参与混合藻种的吸收光谱(SHIMADZU UV2550),使用 Jeffrey and Humphrey's 三色方程计算得到叶绿素浓度。按照叶绿素浓度比 1:4、2:3、3:2、4:1 进行混合,得到浮游藻色素萃取液实际混合样品,进行荧光测定。共得到 256 个混合样品。

2013 年 3 月,在长江口海域 (28.5° N ~ 32.5° N, 122.0° E ~ 124.0° E)进行了现场采样,共采集 18 个浮游藻膜样品,每个样品色素萃取后分为两份,一份用于 HPLC 色素测定,测定后利用 CHEMTAX 进行浮游藻群落组成分析;另一份进行三维荧光测定,用于 EEM-ATLD-NNLS(非负最小二乘)荧光技术测试。

### 2.2 三维荧光光谱采集

仪器:Fluorolog3-11 荧光分光光度计及配套软件(Jobin-Yoon, 法国), 1 cm 石英比色皿。

参数设置:激发波长 350~700 nm,发射波长 600~750 nm,步长 5 nm,狭缝宽度 5 nm,扫描速度为 80 nm/s,信号积分时间为 0.05 s。

### 2.3 三维荧光光谱的前处理

在解析之前首先对三维荧光数据进行前处理,以消除瑞利散射的影响,提高荧光光谱解析效率。使用 Delaunay 三角形内插值法<sup>[21]</sup>来消除光谱中的瑞利散射。将去除散射后的 EEM 数据进行最大值归一化处理。

### 2.4 交替三线性分解算法

三线性模型的目标函数是各元素的残差平方和(SSR),以矩阵形式得到三个方向展开的目标函数:

$$\sigma_1(\mathbf{C}) = \sum_{k=1}^K \left\| \mathbf{X}_{:,k} - \mathbf{A} \text{diag}[\mathbf{c}_{(k)}] \mathbf{B}^T \right\|_F^2, \quad (1)$$

依据三线性模型的对称性,又可写成

$$\sigma_2(\mathbf{A}) = \sum_{i=1}^I \left\| \mathbf{X}_{i,:} - \mathbf{B} \text{diag}[\mathbf{a}_{(i)}] \mathbf{C}^T \right\|_F^2, \quad (2)$$

$$\sigma_3(\mathbf{B}) = \sum_{j=1}^J \left\| \mathbf{X}_{:,j} - \mathbf{A} \text{diag}[\mathbf{b}_{(j)}] \mathbf{C}^T \right\|_F^2. \quad (3)$$

根据交替最小二乘原理(ALS)和矩阵的性质,以上公式迭代求解,可同时得到关于三维响应数据  $\mathbf{X}$  的相对光谱矩阵  $\mathbf{A}$ 、相对光谱矩阵  $\mathbf{B}$  及相对浓度矩阵  $\mathbf{C}$ :

$$\mathbf{a}_{(i)}^T = \text{diagm}[\mathbf{B} + \mathbf{X}_{i,:} (\mathbf{C}^T)^+], i = 1, \dots, I, \quad (4)$$

$$\mathbf{b}_{(j)}^T = \text{diagm}[\mathbf{C} + \mathbf{X}_{.j}(\mathbf{A}^T)^+], i = 1, \dots, J, \quad (5)$$

$$\mathbf{c}_{(k)}^T = \text{diagm}[\mathbf{A} + \mathbf{X}_{.k}(\mathbf{B}^T)^+], i = 1, \dots, K, \quad (6)$$

式中  $\text{diagm}(\cdot)$  表示对括号中方阵取对角元素作为一个新的矢量。 $\mathbf{a}_{(i)}^T, \mathbf{b}_{(j)}^T, \mathbf{c}_{(k)}^T$  分别为相对荧光激发矩阵  $\mathbf{A}$ 、相对荧光发射矩阵  $\mathbf{B}$  和相对浓度矩阵  $\mathbf{C}$  的行矢量。迭代过程中,  $\mathbf{A}$  和  $\mathbf{B}$  矩阵逐列做归一化处理。迭代的步骤是利用  $\mathbf{A}、\mathbf{B}、\mathbf{C}$  各自的迭代公式交替迭代求解, 循环至目标函数收敛为止, 收敛准则为

$$\left| \frac{\sigma^{(m)} - \sigma^{(m-1)}}{\sigma^{(m-1)}} \right| \leq \varepsilon, \quad (7)$$

式中  $\sigma$  为残差平方和。

ATLD 运算时引入了基于奇异值分解的 Moor-Penrose 广义逆计算步骤, 可自动忽视小于预设容差的奇异值的影响, 具有对组分数估计不敏感、收敛速度快等优点<sup>[22]</sup>。

### 2.5 分类方法

采用 NNLS 解析的多元线性回归法建立识别测定技术用于测定浮游藻群落组成<sup>[23-24]</sup>。回归方程为

$$y = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + \dots + a_nx_n + \varepsilon \quad (i = 1, 2, \dots, n), \quad (8)$$

式中  $y$  为实测荧光光谱,  $x_i$  为浮游藻标准谱库的标准谱,  $a_0$  为非负约束条件,  $a_i$  为回归系数,  $\varepsilon$  为存在于估计值与实测值之间的残差, 计算过程中要选取使残差平方和达到最小的非负值  $a_i$ , 最终得到不同门类浮游藻在未知样品中的相对含量。

## 3 结果与讨论

### 3.1 荧光成分数选择

将去除散射和归一化的三维荧光矩阵放入 Excel 表格中, 利用吴海龙教授赠予的 ATLD 算法程序, 在 Matlab 7.6 中运行得到各组分的相对激发矩阵、发射矩阵和浓度矩阵。正确选择组分数可确保 ATLD 算法给出可靠的结果, 利用残差平方和、残差分布图以及荧光成分的激发-发射光谱来确定荧光成分数, 选取荧光成分数  $F=14$ 。由图 1 可见, 成分数从  $F=12$  到  $F=13$  时, 残差明显变大; 但成分数从  $F=13$  到  $F=14$  时, 残差大幅度减小, 且残差较小; 而成分数从  $F=14$  变为  $F=15$  时, 残差变大, 由此可以确定, 最佳成分数为  $F=14$ 。图 2 为

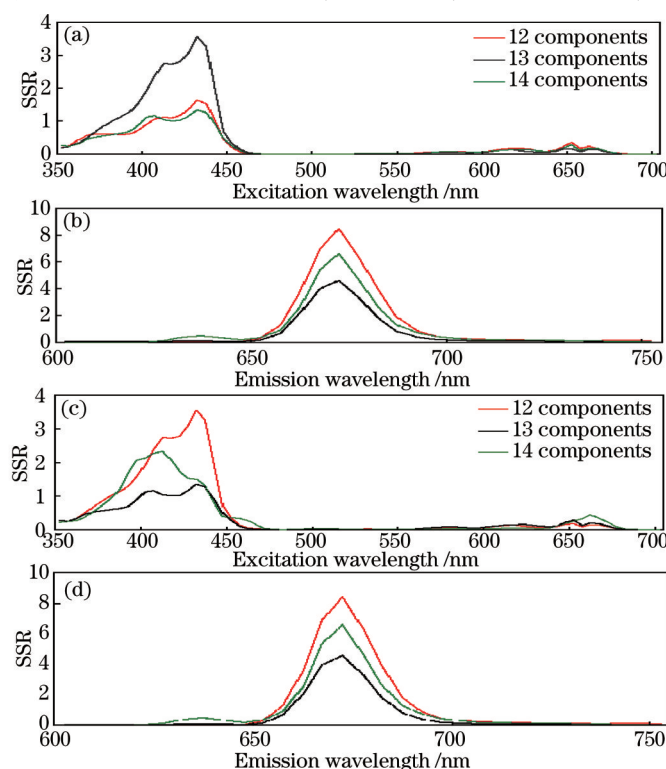


图 1 浮游藻 EEM 不同荧光成分数时 ATLD 模型的残差平方和

Fig.1 SSR of ATLD model with different fluorescent components of phytoplankton EEM

荧光成分的激发发射光谱,从图中可以看出 14 个荧光成分的光谱符合物质光谱的一般特点。通过 Bayesian 判别<sup>[25]</sup>分析方法对浮游藻色素萃取液 EEM 荧光成分进行特征性分析,分析结果如图 3 所示,绿、隐、蓝藻门在门类水平上全部被正确识别,硅藻和甲藻在门类水平上的识别正确率(CDR)为 93.27%和 96.43%。表明门类水平上的浮游藻色素萃取液的荧光成分组成具有类别特征性,不同门类浮游藻的色素萃取液荧光成分组成具有显著差异,而同一门类则具有较强的相似性。

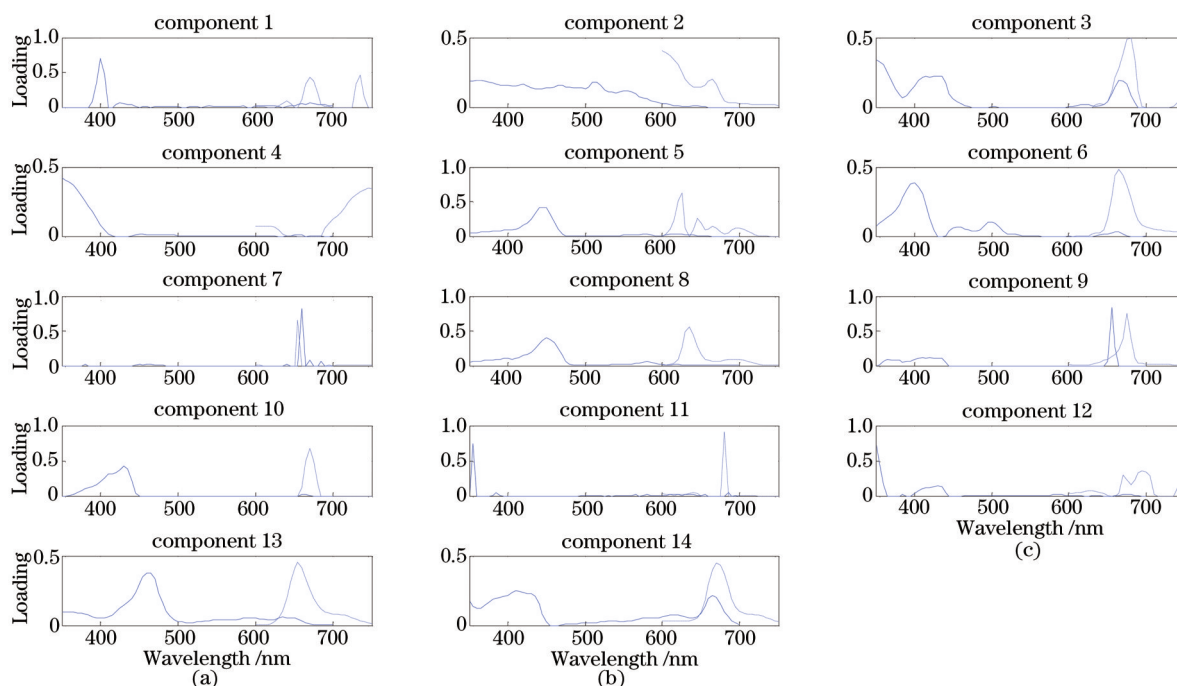


图 2 ATLD 模型所得 14 个荧光成分的激发-发射光谱

Fig.2 Excitation-emission spectra of the 14 fluorescent components resulting from ATLD model

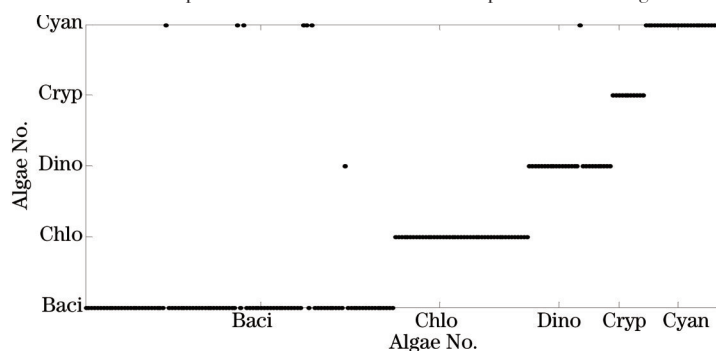


图 3 ATLD 模型所得 14 个荧光成分的 Bayesian 判别分析结果

Fig.3 Bayesian discriminant analysis of the 14 fluorescent components from ATLD model

### 3.2 标准谱库的构建

以欧氏距离作为划分类型的标准,利用系统聚类对经 ATLD 模型分解所得的 14 个荧光成分在属类水平上进行聚类分析。将相似的谱聚为一类,每一类取其平均值获得一条浮游藻色素萃取液荧光成分标准谱。共获得 116 条标谱,其中硅藻门 56 条,绿藻门 21 条,甲藻门 21 条,隐藻门 6 条,蓝藻门 12 条,以此来构建 48 种浮游藻门类水平上的荧光特征谱库。依据浮游藻所属不同门类,将浮游藻的荧光标准谱作图,从图 4 可以看出,硅藻、绿藻、甲藻、隐藻和蓝藻的色素萃取液荧光成分组成存在着显著差异。

### 3.3 测 试

将所构建的标准谱库和未知样品光谱数据集(单种藻样品、实际混合样品、现场样品)放入 Matlab 程序中,利用 NNLS 方法进行识别测定。表 2 为实验室培养的 48 种浮游藻的 512 个单种藻样品的识别结果。单种藻样品的平均识别正确率为 99.8%,其中绿藻的识别正确率为 99.0%,硅藻、甲藻、隐藻和蓝藻的识别正确率

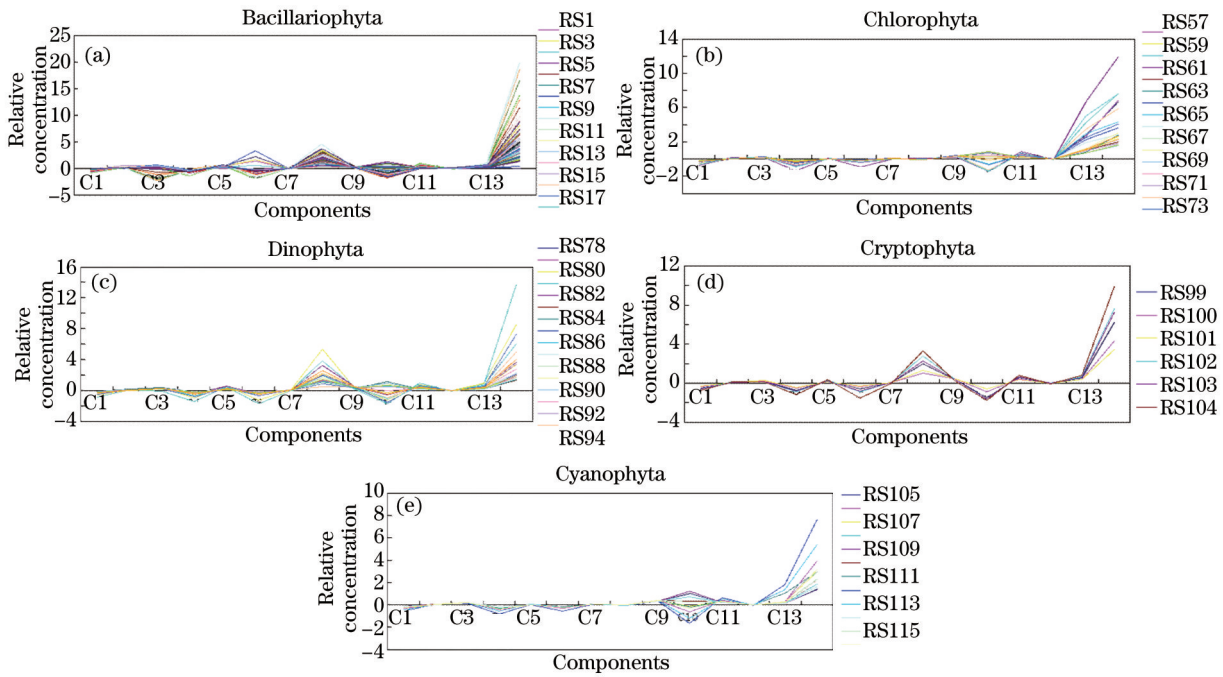


图4 各门类浮游藻荧光成份标准谱

Fig.4 Reference spectra of fluorescent components of the studied algae species

为100%，测得的相对含量为86.9%~95.5%，其总体平均值为91.9%。对于实验室混合藻样品(表3)，优势藻的平均识别正确率为93.5%。当混合藻中优势浮游藻比例为80%时，作为优势藻，硅藻、绿藻、甲藻、隐藻和蓝藻在门水平上的识别正确率分别是93.1%、91.6%、95.7%、100.0%和91.7%，识别的平均相对含量分别是75.7%、71.0%、58.0%、66.3%和58.8%。当混合藻中优势浮游藻比例为60%时，作为优势藻，硅藻、绿藻、甲藻、隐藻和蓝藻在门水平上的识别正确率分别是95.2%、94.7%、89.5%、100%和91.7%，测定的平均相对含量分别是69.3%、53.9%、42.9%、66.3%和58.8%。次优势藻的平均识别正确率为71.1%，当混合藻中次优势浮游藻比例为40%时，作为次优势藻，硅藻、绿藻、甲藻、隐藻和蓝藻在门水平上的识别正确率分别是91.2%、92.9%、68.3%、100%和66.7%，测定的平均相对含量分别是60.0%、34.3%、38.6%、25.9%和47.7%。当混合藻中次优势浮游藻比例为20%时，作为次优势藻，硅藻、绿藻、甲藻、隐藻和蓝藻在门水平上的识别正确率分别是81.1%、35.0%、63.3%、100%和50.0%，识别的平均相对含量分别是45.5%、33.9%、28.7%、16.1%和32.2%。

将2013年3月长江口采集的18个浮游藻膜样品分别进行HPLC-CHEMTAX分析和EEM-ATLD-NNLS荧光技术分析，分析结果如表4所示。HPLC-CHEMTAX的分析结果表明：18个站位的优势藻都是硅藻，测定的相对含量为53%~100%。用所建立的EEM-ATLD-NNLS荧光方法进行识别测定，17个膜样的优势藻是硅藻，识别的相对含量为54%~100%。未被正确识别的样品中优势藻识别为甲藻，相对含量为76%，次优势藻识别为硅藻，相对含量为23%，而HPLC-CHEMTAX分析结果表明该样品优势藻为硅藻，含量为53%，次优势藻为甲藻，含量为47%。对于次优势藻，18个样品的识别正确率为50%，8个HPLC-CHEMTAX测定的次优势藻含量超过20%的样品，EEM-ATLD-NNLS荧光技术识别正确率达到75%，测定的相对含量为6%~46%。可见，当浮游藻样品中次优势藻的相对含量超过20%时，EEM-ATLD-NNLS技术能够对样品中次优势藻进行较为准确的识别测定。

表2 单种藻样品在门类水平上的识别测定结果

Table 2 Identification results of single-algae samples at division level

Division	Correct	CDR /%	Range /%	Average /%
Bacillariophyta	264/264	100.0	53.1~100.0	91.8
Chlorophyta	101/102	99.0	50.1~100.0	92.5
Dinophyta	70/70	100.0	68.8~100.0	93.0
Cryptophyta	22/22	100.0	64.0~99.5	86.9
Cyanophyta	54/54	100.0	64.2~100	95.5

表3 实验室混合样品在门类水平上的识别测定结果

Table 3 Identification results of mixture samples at division level

Division	Bacillariophyta				Chlorophyta				Dinophyta				Cryptophyta				Cyanophyta			
	Proportion /%	CDR /%	Relative content /%		CDR /%	Relative content /%		CDR /%	Relative content /%		CDR /%	Relative content /%		CDR /%	Relative content /%		CDR /%	Relative content /%		
			Range	Average		Range	Average		Range	Average		Range	Average		Range	Average				
20	81.1	1.5~97.0	45.5	35.0	17.3~53.9	33.9	63.3	2.4~99.9	28.7	100.0	9.6~18.6	16.1	50.0	1.2~84.8	32.2					
40	91.2	24.2~100	60.0	92.9	6.2~59.2	34.3	68.3	3.4~80.8	38.6	100.0	17.4~39.8	25.9	66.7	40.0~72.2	47.7					
60	95.2	19.2~100	69.3	94.7	27.8~82.6	53.9	89.5	11.2~77.9	42.9	100.0	53.9~75.8	66.3	91.7	11.6~93.8	58.8					
80	93.1	17.4~100	75.7	91.6	15.2~100	71.0	95.7	19.7~98.5	58.0	100.0	65.2~79.4	69.6	92.8	33.2~100	79.4					

表4 2013年采集的长江口18个滤膜样品的识别结果

Table 4 Identification results of 18 filter samples from Yangtze River estuary in 2013

Station	EEM-ATLD-NNLS				HPLC-CHEMTAX			
	Dominant species		Subdominant species		Dominant species		Subdominant species	
	Division	Relative content /%	Division	Relative content /%	Division	Relative content /%	Division	Relative content /%
A1-1	Bacillariophyta	76	Cyanophyta	24	Bacillariophyta	66	Cyanophyta	34
A1-4	Bacillariophyta	100	/	/	Bacillariophyta	78	Chlorophyta	22
A1-6	Bacillariophyta	91	Chlorophyta	9	Bacillariophyta	76	Chlorophyta	24
A1-7	Bacillariophyta	54	Cyanophyta	46	Bacillariophyta	63	Cyanophyta	25
A2-8	Bacillariophyta	69	Chlorophyta	31	Bacillariophyta	79	Chlorophyta	19
A4-3	Bacillariophyta	97	Chlorophyta	3	Bacillariophyta	83	Chlorophyta	10
A4-4	Bacillariophyta	92	Chlorophyta	7	Bacillariophyta	82	Chlorophyta	10
A4-5	Bacillariophyta	69	Chlorophyta	31	Bacillariophyta	87	Cryptophyta	13
A6-6	Bacillariophyta	95	Chlorophyta	5	Bacillariophyta	83	Dinophyta	17
A6-7	Bacillariophyta	70	Dinophyta	30	Bacillariophyta	63	Dinophyta	37
A6-8	Bacillariophyta	84	Chlorophyta	16	Bacillariophyta	100	/	/
A7-1	Bacillariophyta	98	Cyanophyta	2	Bacillariophyta	88	Chlorophyta	12
A7-7	Bacillariophyta	93	Chlorophyta	7	Bacillariophyta	78	Dinophyta	16
A8-2	Bacillariophyta	98	Chlorophyta	2	Bacillariophyta	89	Cryptophyta	10
A8-4	Dinophyta	76	Bacillariophyta	23	Bacillariophyta	53	Dinophyta	47
A9-3	Bacillariophyta	88	Dinophyta	12	Bacillariophyta	77	Dinophyta	23
A9-4	Bacillariophyta	94	Dinophyta	6	Bacillariophyta	71	Dinophyta	29
C-4	Bacillariophyta	99	Cyanophyta	1	Bacillariophyta	84	Chlorophyta	14

## 4 结 论

浮游藻色素是浮游藻化学分类学的重要依据,其组成特征能够在三维荧光光谱上得到较为全面的反映,利用ATLD对48种浮游藻色素萃取液的三维荧光光谱进行解析,得到具有浮游藻类别特征的色素萃取液荧光成分组成特征谱,建立了浮游藻群落组成荧光成分分析方法。该技术的成功应用能够实现浮游藻群落组成的实时、快速、大批量、低成本测定,符合我国海洋生态环境监测的迫切需要。

## 参 考 文 献

- 1 Duan Yali, Su Rongguo, Shi Xiaoyong, *et al.*. Differentiation of phytoplankton populations by *in vivo* fluorescence based on high-frequency component of wavelet[J]. Chinese J Lasers, 2012, 39(7): 0715003.  
段亚丽, 苏荣国, 石晓勇, 等. 基于小波高频分量的浮游植物活体荧光识别技术研究[J]. 中国激光, 2012, 39(7): 0715003.
- 2 Pech-Pacheco J L, Alvarez-Borrego J. Optical-digital system applied to the identification of five phytoplankton species[J]. Marine Biology, 1998, 132(3): 357-365.

- 3 Boddy L, Morris C W, Wilkins M F, *et al.*. Identification of 72 phytoplankton species by radial basis function neural network analysis of flow cytometric data[J]. Marine Ecology Progress Series, 2000, 195: 47–59.
- 4 Mackey M D, Mackey D J, Higgins H W, *et al.*. CHEMTAX—a program for estimating class abundances from chemical markers: Application to HPLC measurements of phytoplankton[J]. Marine Ecology Progress Series, 1996, 144(195): 265–283.
- 5 Galluzzi L, Penna A, Bertozzini E, *et al.*. Development of a real-time PCR assay for rapid detection and quantification of *Alexandrium minntum*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(2): 1199–1206.
- 6 Yentsch C S, Phinney D A. Spectral fluorescence: An taxonomic tool for studying the structure of phytoplankton populations[J]. Journal of Plankton Research, 1985, 7(5): 617–632.
- 7 Liang Man, Huang Furong, He Xuejia, *et al.*. Algae identification research based on fluorescence spectral imaging technology combined with cluster analysis and principal component analysis[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2014, 34(8): 2132–2136.  
梁 曼, 黄富荣, 何学佳, 等. 荧光光谱成像技术结合聚类分析及主成分分析的藻类鉴别研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2014, 34(8): 2132–2136.
- 8 Yang Lili, Wang Yutian, Lu Xinqiong. Identification and measurement of petroleum pollutant by three-dimensional matrix fluorescence with second-order calibration methods[J]. Chinese J Lasers, 2013, 40(6): 0615002.  
杨丽丽, 王玉田, 鲁信琼. 三维荧光光谱结合二阶校正法用于石油类污染物的识别和检测[J]. 中国激光, 2013, 40(6): 0615002.
- 9 Xiao Haibin, Zhao Jinhui, Liu Muhua, *et al.*. Application study of three-dimensional fluorescence spectroscopy combined with PLSR for carbaryl residues in duck meat[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2014, 51(4): 043001.  
肖海斌, 赵进辉, 刘木华, 等. 三维荧光光谱技术结合 PLSR 在鸭肉中西维因残留检测的应用[J]. 激光与光电子学进展, 2014, 51(4): 043001.
- 10 Liu Yanfang, Su Rongguo, Zhou Qianqian, *et al.*. Rapid modeling offshore eutrophication technique using optical parameters of CDOM[J]. Chinese J Lasers, 2014, 41(12): 1215001.  
刘艳芳, 苏荣国, 周倩倩, 等. 基于 CDOM 光学参数的近海富营养化快速评价技术[J]. 中国激光, 2014, 41(12): 1215001.
- 11 Yu Xiaoya, Zhang Yujun, Yin Gaofang, *et al.*. Feature wavelength selection of phytoplankton fluorescence spectra based on partial least squares[J]. Acta Optica Sinica, 2014, 34(9): 0930002.  
余晓娅, 张玉钧, 殷高方, 等. 基于偏最小二乘回归的藻类荧光光谱特征波长选取[J]. 光学学报, 2014, 34(9): 0930002.
- 12 Yin Gaofang, Zhao Nanjing, Hu Li, *et al.*. Classified measurement of phytoplankton based on characteristic fluorescence of photosynthetic pigments[J]. Acta Optica Sinica, 2014, 34(9): 0930005.  
殷高方, 赵南京, 胡 丽, 等. 基于色素特征荧光光谱的浮游植物分类测量方法[J]. 光学学报, 2014, 34(9): 0930005.
- 13 Wu Hailong, Yu Ruqin. Aspects of recent developments of chemical multiway calibration methodologies[J]. Chemistry, 2011, 74(9): 771–782.  
吴海龙, 俞汝勤. 化学多维校正的若干新进展[J]. 化学通报, 2011, 74(9): 771–782.
- 14 Wu H, Shibukawa M, Oguma K. An alternating trilinear decomposition algorithm with application to calibration of HPLC-DAD for simultaneous determination of overlapped chlorinated aromatic hydrocarbons[J]. Journal of Chemometrics, 1998, 12(1): 1–26.
- 15 Ding Yujie. Applications of Trilinear Decomposition Algorithm to HPLC-DAD for Simultaneous Multicomponent Quantitative Analysis[D]. Changsha: Hunan University, 2005.  
丁玉洁. 三线分解算法和 LC-DAD 联用于多组分同时定量分析研究[D]. 长沙: 湖南大学, 2005.
- 16 Liu Y, Wu H, Zhu S, *et al.*. Rapid determination of costunolide and dehydrocostuslactone in human plasma sample and Chinese patent medicine Xiang Sha Yang Wei capsule using HPLC-DAD coupled with second-order calibration[J]. Chinese Journal of Chemistry, 2012, 30(5): 1137–1143.
- 17 Wang Yu, Wu Hailong, Yu Yongjie, *et al.*. Simultaneous determination of three anticancerogens in plasma samples using second-order calibration method based on alternating trilinear decomposition coupled with fluorescence spectroscopy[J]. Scientia Sinica Chimica, 2012, 42(8): 1226–1233.  
王 予, 吴海龙, 于永杰, 等. 三维荧光光谱结合交替三线分解二阶校正法同时测定血浆样中三种抗癌药物含量[J]. 中国科学: 化学, 2012, 42(8): 1226–1233.
- 18 Huang Lei, Wu Hailong, Nie Jinfang, *et al.*. Determination of rutin in cosmetics using second-order calibration methods coupled with excitation-emission fluorescence spectra[J]. Computers and Applied Chemistry, 2010, 27(7): 893–896.  
黄 蕾, 吴海龙, 聂瑾芳, 等. 三维荧光光谱结合二阶校正算法用于化妆品中芦丁含量的测定[J]. 计算机与应用化学, 2010,



- 27(7): 893-896.
- 19 Qing Xiangdong, Wu Hailong, Li Yuanna, *et al.*. Rapid determination of carbofuran in tuber vegetables, soil and wastewater using three-dimensional fluorescence coupled with second-order calibration[J]. *Science China*, 2010, 40(11): 1655-1663.  
卿湘东, 吴海龙, 李元娜, 等. 三维荧光二阶校正法快速测定块茎类蔬菜、土壤和污水中克百威残留量[J]. *中国科学*, 2010, 40(11): 1655-1663.
- 20 Zhu Chun, Li Run, Que Lizhi, *et al.*. Determination of components of mixed color solutions by fluorescence spectroscopy combined with calibration algorithms[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2014, 34(7): 1742-1746.  
朱 纯, 李 润, 阙立志, 等. 荧光光谱结合校正算法测定混合色素溶液中各组分的浓度[J]. *光谱学与光谱分析*, 2014, 34(7): 1742-1746.
- 21 Zepp R G, Sheldon W M, Moran M A. Dissolved organic fluorophores in southeastern US coastal waters: Correction method for eliminating Rayleigh and Raman scattering peaks in excitation-emission matrices[J]. *Marine Chemistry*, 2004, 89(1-4): 15-36.
- 22 Zhang Yan. Three-Way Data Analysis and Its Applications to Chromatographic and Fluorometric Analysis[D]. Changsha: Hunan University, 2008.  
张 艳. 三维数据分析及其在色谱和荧光分析中的应用[D]. 长沙: 湖南大学, 2008.
- 23 Groenen P J F, van Os B-J, Meulman J J. Optimal scaling by alternating length-constrained nonnegative least squares, with application to distance-based analysis[J]. *Psychometrika*, 2000, 65(4): 511-524.
- 24 Zhang F, Su R, He J, *et al.*. Identifying phytoplankton in seawater based on discrete excitation-emission fluorescence spectra [J]. *Journal of Phycology*, 2010, 46(2): 403-411.
- 25 Zhang Fang, Su Rongguo, Wang Xiulin, *et al.*. Fluorescence characteristics extraction and differentiation of phytoplankton[J]. *Chinese J Lasers*, 2008, 35(12): 2052-2059.  
张 芳, 苏荣国, 王修林, 等. 浮游植物荧光特征提取及识别测定技术[J]. *中国激光*, 2008, 35(12): 2052-2059.

栏目编辑: 吴秀娟