

基于偏振光散射与荧光测量的水中悬浮颗粒现场快速分类仪

熊志航^{1,2}, 麦浩基¹, 黄庄钒¹, 黎经腾¹, 孙培韬¹, 王嘉霖¹, 谢永韬¹, 何梓熙¹,
曾亚光¹, 王宏剑², 郭志明², 廖然^{2,3*}, 马辉^{2,3}

- (1. 佛山科学技术学院 物理与光电工程学院, 广东 佛山 528000;
2. 清华大学深圳国际研究生院 海洋工程研究院, 广东 深圳 518055;
3. 清华大学深圳国际研究生院 广东省偏振光学检测与成像工程技术中心, 广东 深圳 518055)

摘要: 水中悬浮颗粒是水体物质的重要成分, 因此监测它们的种类和浓度对研究和保护水生态系统具有重要科学意义和实用价值。文中研制了一种水中悬浮颗粒分类仪 (Suspended Particle Classifier, SPC), 旨在现场检测野外采集的水样, 快速得出水中悬浮颗粒的种类、数量和比例。SPC 采用引流管将颗粒输送至散射体积内, 通过同时探测单个颗粒的散射光偏振态和荧光信号, 结合机器学习算法对颗粒分类。对沉积物、微塑料和微藻的标准样品做了数据集并训练分类器, SPC 能以大于 95% 的预测正确率对它们进行分类。接着, 将 SPC 和商业水质多参数监测仪 (QWA) 同时在崖门水道连续布放 25 个小时。SPC 能快速测量现场采集的水样, 获取不同水层的沉积物、微塑料和微藻的数量随时间的变化情况。SPC 给出的微藻数量与 QWA 测得的叶绿素 a 浓度以及藻红蛋白浓度之间存在显著的相关性; 此外, SPC 给出的沉积物等效时间截面和 QWA 测得的浊度值也呈现出明显的相关性, 由此可以证明 SPC 分类结果的可靠性。结果表明: SPC 能够对水中的悬浮颗粒进行现场快速分类检测, 有望成为探索水生态系统的关键技术。

关键词: 偏振光散射; 荧光; 悬浮颗粒; 现场; 快速分类

中图分类号: O436.3 **文献标志码:** A **DOI:** 10.3788/IRLA20230030

0 引言

悬浮颗粒广泛分布在水体中, 主要由沉积物、微塑料、微藻和其他矿物等组成^[1], 它们的种类和浓度深刻影响着水生态系统的健康。陆源沉积物大量流入河流和海洋中, 因此沉积物在全球物质循环中起着重要的作用。了解水体中沉积物分布、运输途径和季节性变化对于了解海岸形态和水生态系统至关重要^[2]。微塑料是一种新型人造污染物, 在水体中有广泛的分布。微塑料不仅会影响水生生物的新陈代谢过程, 甚至可能通过水体和食物链进入人体内部。近年来, 微塑料的生态毒理效应以及其裂解变化已成为近年来的研究热点^[3]。微藻是水生态系统中主要初级生产

力, 它是许多水生生物的重要食物来源^[4]。然而, 有害的微藻暴发性增长对水生态系统及人类健康造成危害, 例如: 蓝藻的过度增殖会导致水华暴发, 破坏水生态系统平衡, 产生毒素或异味, 危及渔业资源开发以及人类饮用水健康^[5]。因此, 对水中悬浮颗粒种类和浓度的测量为水体环境监测、灾害预警提供数据参考和技术指导^[6]。而水中悬浮颗粒的现场快速分类有助于及时了解水体的成分, 促进水生态系统保护、水产资源开发利用等方面的应用。

光学方法因具有高分辨率和非接触、获取信息丰富等优点, 现有许多光学仪器被研发出来用于探测悬浮颗粒。这些光学仪器按照测量方式可以分为体积测量和单颗粒测量。体积测量是对一团水中所有颗

收稿日期: 2023-01-14; 修订日期: 2023-03-20

基金项目: 国家自然科学基金项目 (61975088, 62275141); 深港联合项目 (SGDX20201103095403017)

作者简介: 熊志航, 男, 硕士生, 主要从事基于偏振光散射识别水体悬浮颗粒方面的研究。

导师简介: 曾亚光, 男, 教授, 博士, 主要从事海洋微型颗粒精细分类、血流成像方面的研究。

通讯作者: 廖然, 男, 副教授, 博士, 主要从事海洋颗粒偏振光探测方面的研究。

粒的测量, 获取水体的平均指标; 单颗粒测量是指探测水体中单个颗粒的信号。虽然两者在测量方式上不同, 但在数据上存在着较强的关联, 可互相为对方的数据做支撑和补充。基于体积测量的光学仪器如 BB9^[7]、LISST^[8] 和水质多参数监测仪^[9], 可以用于检测悬浮颗粒浓度、粒径以及水体中叶绿素 a 浓度等参数, 但由于它们测量的是一团水体中所有颗粒的综合效应, 难以准确地反映水中颗粒的种类组成。水下流式细胞仪 FlowCytobot 是针对单颗粒测量, 其流体动力聚焦组件将颗粒排成单个通过检测区, 通过测量颗粒图像、荧光和散射强度来对颗粒进行分类^[10]。然而, 水下流式细胞仪不仅成本高, 而且现场采集的水样中悬浮颗粒的粒径分布范围广而且形态多样, 容易诱发流道堵塞, 限制了它的应用^[11]。目前水中悬浮颗粒的现场快速分类对业界仍具有挑战。

偏振光散射技术因非接触、测量快速的优势被用于探测大气气溶胶或水中悬浮颗粒^[12-13], 一般采用偏振光照射颗粒并测量其散射光在一个或多个角度的偏振态。由于颗粒的散射光偏振态与颗粒的光学性质 (如折射率、吸收、双折射、二向色性)、形态 (如粒径、形状、取向) 和微观结构相关, 有研究者使用机器学习方法从偏振光散射信息中获得颗粒的种类^[14]。荧光技术可以获得生物颗粒的内部色素和光学活性方面的信息, 通过探测微藻的三维荧光光谱可识别微藻的种类^[15]。

文中研制了一种水中悬浮颗粒分类仪 (Suspended Particle Classifier, SPC), 它是单颗粒测量仪器, 结合了偏振光散射技术和荧光技术。在实验室中建立沉积

物、微塑料、微藻的数据集, 根据机器学习算法对它们分类。接着, SPC 和商业水质多参数监测仪 (Water Quality Analyzer, WQA) 在珠江口崖门水道现场测试, 两者分别是单颗粒测量和体积测量仪器。它们测量得到的参数具有很强的相关性, 证明 SPC 具有对真实水样分类的能力。文中研究结果展示了 SPC 具备在现场快速获得悬浮颗粒分类信息的能力, 它在水质监测和环境保护等方面具有应用潜力。

1 水中悬浮颗粒分类仪

水中悬浮颗粒分类仪的光路图如图 1(a) 所示, 445 nm 的 LD 激光器作为光源 (S)。光功率在 0~1 W 之间可调, 适用于测量不同散射能力的颗粒。激光依次经过起偏器 (PSG) 和反射镜 (M), 照射到样品池 (Sample pool) 中。起偏器由线偏振片 (P) 和可旋转的二分之一波片 (HWP) 和四分之一波片 (QWP) 组成, 旋转波片的角度可调制照明光的偏振态。样品池呈正六棱柱形, 内壁经阳极氧化处理呈黑色, 抑制光在内部散射。它的中心固定着一根内径 3 mm 玻璃管 (Glass tube)。玻璃管内部输送水样, 外部为纯净水匹配液。透镜 (L1) 把照明光聚焦于到玻璃管圆心处激发颗粒的散射光和荧光, 焦点处的艾里斑直径约为 10 μm 。收光系统 (LCS) 的数值孔径为 0.087, 用于收集颗粒散射光和荧光, 由透镜组 (L2、L3) 和精密针孔 (PH) 组成。透镜 (L2) 收集颗粒在水中 ($120\pm 3.75^\circ$) 范围的散射光和荧光汇聚到 50 μm 的精密针孔上, 照明光焦点与精密针孔通过透镜 (L2) 呈物像关系。透镜 (L3) 的焦点位于精密针孔上, 它能将精密针孔出射的

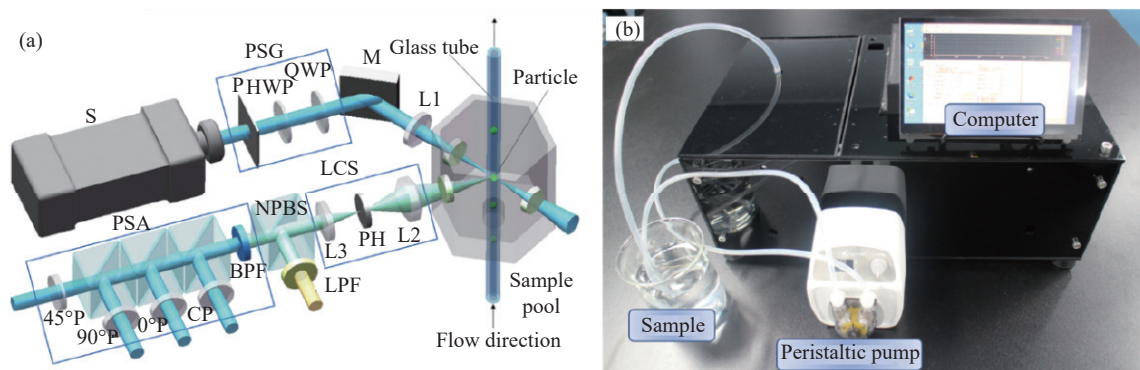


图 1 (a) 光路图; (b) 样机实物图

Fig.1 (a) Optical path diagram; (b) Prototype photo

光调节成平行光。在针孔的限制下,收光系统可观测目标直径约 100 μm。散射体积是照明光与收光系统的交叉体积,如图 1(a) 所示,约为 5.2×10⁻⁴ μL。

散射光进入检测系统,用非偏振分束立方体(NPBS)分成两份。检偏器(PSA)和荧光检测通道前分别有窄带滤光片(BPF, CWL=445 nm)、长波通滤光片(LBF, Passing range: >460 nm)筛选弹性散射光和荧光。检偏器中的 3 个非偏振分束立方体把光分成 4 份并分别经过 1 个圆偏振片(CP)和 3 个线偏振片(P),探测散射光的左旋圆偏振和 0°、90°、45°线偏振分量。PSA 经过校准后可以测量光的偏振态^[12]。硅光电倍增管(SiPMT, Spectral response range: 300~950 nm)把各通道的光强转换成 0~5 V 的模拟信号,由采集卡同步记录 5 路信号。

前期研究中,旋转搅拌子使得烧杯中的颗粒处于悬浮状态,某些颗粒经过散射体积而被测量^[16]。由于不同粒径和密度的颗粒在水中产生的向心力也会不同,导致颗粒在烧杯中分布不均匀,检测效率比较低,并且光在水样中穿过的距离过长,会影响检测准确性^[17]。为了克服这些弊端,文中采用引流管设计,使用蠕动泵(Peristaltic pump)驱动待测水样从下往上经过散射体积,既限制了水样中悬浮颗粒的运动范围,

又压缩了照明光在水样中的传输距离。同时还可以控制流速让悬浮颗粒快速通过散射体积,提高了水样检测准确度和检测效率,适用于快速测量现场环境中的水样。仪器的实物图如图 1(b) 所示,它配备了小型工控机(Computer),工控机提供了调节光功率和采集参数的软件,内嵌颗粒分类算法,适用于现场水体的快速分类检测。

2 方法和样品

2.1 信号处理方法

用 10 μm 的荧光微球测试,当颗粒穿过散射体积时,硅光电倍增管将光信号转换为电压信号。提取一段 100 ms 的时间序列信号,如图 2(a) 所示。由此可以看出,偏振光散射和荧光同时出现,并且都是一串时域脉冲。颗粒经过散射体积时产生脉冲信号;没有颗粒经过散射体积时,此时背景信号远低于颗粒产生的脉冲信号;一个脉冲信号与一个颗粒对应。偏振光散射与荧光的强度之比的差异是由于荧光微球表面吸附的荧光物质分布不均匀造成的。在对脉冲进行筛选之前,先对信号低通滤波。滤波后的信号如图 2(b) 所示,背景噪声在 30 mV 附近波动。为了获得高信噪比的信号,选择 50 mV 作为阈值电压筛选脉冲。虚线是无效信号,实线是提取出的有效脉冲。

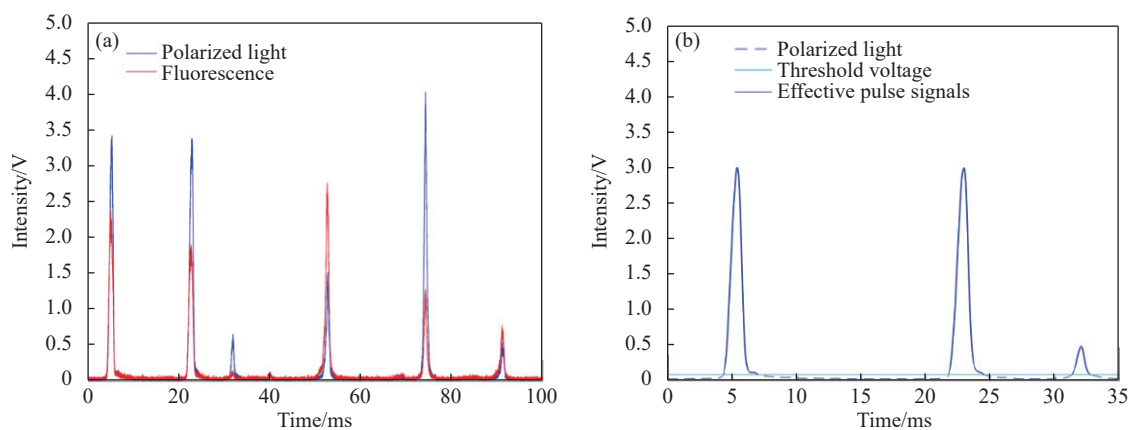


图 2 信号处理。(a) 原始数据;(b) 筛选脉冲

Fig.2 Signal processing. (a) Raw data; (b) Pulse selection

2.2 分析方法

斯托克斯矢量 S 用于描述颗粒散射光的偏振态,

可表示为 $S = [I, Q, U, V]^T$, I 代表光强, Q 、 U 和 V 都是偏振分量,其中 Q 表示光的水平线偏振分量与垂直

线偏振分量的强度差, U 表示光的 45° 线偏振分量与 -45° 线偏振分量的强度差, V 表示光的右旋圆偏振分量与左旋圆偏振分量的强度差。该矢量能描述完全偏振光、部分偏振光和自然光。对光强归一化处理, 可得到取值范围为 $-1\sim 1$ 、无量纲的偏振参数 q 、 u 、 v 如公式 (1) 所示:

$$q \equiv \frac{Q}{I}, u \equiv \frac{U}{I}, v \equiv \frac{V}{I} \quad (1)$$

微藻自发辐射产生的荧光光谱与它内部色素的种类和含量有关。硅光电倍增管测得的荧光强度 Flu 是光电阴极光谱灵敏度 $V(\lambda)$ 和辐射能通量 $\Psi(\lambda)$ 乘积对波长的积分, 如公式 (2) 所示:

$$Flu = \int_{460}^{950} V(\lambda) \Psi(\lambda) d\lambda \quad (2)$$

Pearson 相关系数常用于描述两个变量 β_i 和 β_j 的相关性, 该方法使用协方差对它们之间的相关强度进行评估。其表达式如公式 (3) 所示:

$$R(\beta_i, \beta_j) = \frac{\text{cov}(\beta_i, \beta_j)}{\sqrt{\text{var}(\beta_i) \times \text{var}(\beta_j)}} \quad (3)$$

式中: $\text{cov}(\beta_i, \beta_j)$ 是两个变量的协方差; $\text{var}(\beta_i)$ 与 $\text{var}(\beta_j)$ 为变量的方差; 当系数 $R(\beta_i, \beta_j)$ 为 $0\sim 0.2$ 、 $0.2\sim 0.4$ 、 $0.4\sim 0.6$ 、 $0.6\sim 0.8$ 和 $0.8\sim 1.0$ 时, 两个变量相关性分别为不相关、弱相关、中度相关、强相关和极强相关。

2.3 分类方法

支持向量机 (Support Vector Machine, SVM) 作为一种监督式学习的方法被广泛应用在统计分类以及回归分析中。在数据集中, 每个样本用特征向量 x_t 表征它的属性, y_t 是样本的标签 ($t = 1, 2, \dots, n$, n 为总样本数)。SVM 分类的基本思想是在样本空间中找出最优分类超平面 $w \cdot x_t + b$ 将不同类别的样本分开^[18], w 和 b 分别是超平面法向量和位移项。将数据集按类别分成 N 个部分, 每次将一个类别样本作为正例 ($y_t = 1$); 其余 $N-1$ 个类别样本作为反例 ($y_t = -1$), 训练一对其余 (OvR) 分类器。通过优化参数 w 、 b , 使得公式 (4) 的值最小, 此时的分类效果最佳。

$$\begin{aligned} \min_{w,b} \quad & \|w\|^2 + C \sum_{t=1}^n \xi_t \\ \text{s.t.} \quad & \xi_t \geq 0, y_t(w \cdot x_t + b) \geq 1 - \xi_t \end{aligned} \quad (4)$$

式中: 引入松弛因子 ξ_t , 其目的是为了允许部分样本被错分; $C=1.001$, 是惩罚因子。文中基于 Windows 10 (64 位) 操作系统, 配备第九代智能英特尔酷睿 I5-9300 HF 处理器和 NVIDIA GeForce GTX1650 独立显卡的电脑上, 使用 matlab R2021a 版本中分类学习器的线性 SVM 分类模型。

混淆矩阵常用于衡量分类器分类的准确程度。对于 N 分类任务, 混淆矩阵为 $N \times N$ 的矩阵, 其列代表预测类别, 行代表真实归属类别。混淆矩阵对角线的值表示分类器对该类别预测正确的个数与实际个数的占比, 越接近 100% 分类效果越好。除此之外, 准确率、精确率和召回率也是衡量分类效果指标^[19]。

2.4 实验样品与海试地点

沉积物、微塑料、微藻是水体中常见的颗粒, 也是水生态监测领域重点研究对象。因此把水中的颗粒分成这三类, 并在实验室准备三类标准样品。二氧化硅是沉积物的主要成分^[20], 选择来自天津市倍思乐色谱技术开发中心的二氧化硅微球, 以及 500 目的石英砂作为沉积物样品。聚苯乙烯 (PS)、聚乙烯 (PE)、聚对苯二甲酸乙二醇酯 (PET)、聚丙烯 (PP)、尼龙 (PA) 和聚氯乙烯 (PVC) 是常见的 6 种塑料材质, 选用了以上 6 种材料代表微塑料。不同粒径的聚苯乙烯微球 (0.5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 μm) 均来自苏州纳微科技有限公司; 其余 5 种来自东莞华创塑胶科技有限公司, 粒径均为 500 目。微藻的标准样品包括小球藻、斜生四链藻、菱形藻、三角褐指藻、铜绿微囊藻、蛋白核小球藻、球等鞭藻等实验室培养藻悬浮液, 它们均来源于中国科学院水生生物研究所淡水藻种库。微藻的培养环境为光照和黑暗 12 h:12 h 循环, 光照度为 2 000 lx。

SPC 和水质多参数监测仪 WQA (Xylem EXO1 Sonde, Xylem Water Solutions Ltd) 被布放在珠江口黄茅海崖门水道现场测试 (经纬度 $113^\circ 04' 31.28''\text{E}$, $22^\circ 18' 45.39''\text{N}$), 观测时间为 2022 年 3 月 12 日 14:00 至 3 月 13 日 15:00, 共 25 h。图 3(a) 红色五角星处为布放点, 图 3(b) 是用于收集水样的采水器和 WQA, 图 3(c) 显示了实验员在船上操作仪器。

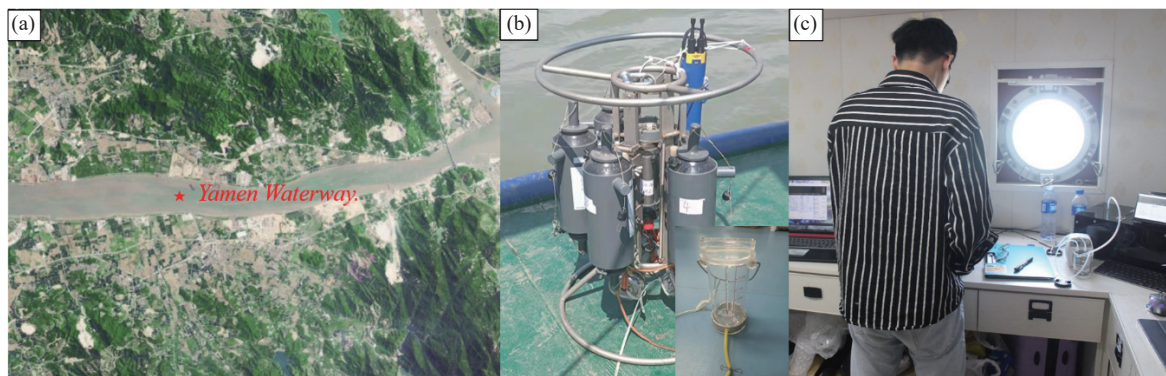


图 3 (a) 样机和 WQA 布放在崖门水道; (b) 采水器与 WQA; (c) 实验员在船舱上操作 SPC

Fig.3 (a) Location of the Yamen Waterway where the SPC was deployed with WQA; (b) Water sampler and WQA; (c) Experimenter operated the SPC on the cabin

3 结果

3.1 数据集建立

考虑到真实的水体环境中悬浮颗粒种类的多样性和复杂性,在海试之前需要预先建立数据集并构建分类器。每个颗粒对应一个脉冲信号,对脉冲取平均值计算颗粒的特征向量 $[I, q, u, v, Flu, Len^2]^T$,前 4 个分量是偏振特征, Flu 是荧光特征。 Len 是脉冲的持续时间,主要受颗粒粒径的影响, Len^2 定义为该颗粒“等效时间截面”。考虑到真实水体颗粒与实验室中使用的颗粒可能存在粒径差异,仅使用 $[I, q, u, v, Flu]^T$ 作为颗粒的特征向量。

对于沉积物、微塑料、微藻样品做数据集,每一类都有 3 万个数据,使用 60% 的数据作为学习和调整分类器参数的训练集,20% 的数据是用作验证集,以验证分类器训练过程中是否存在过拟合或欠拟合问题,另外 20% 的数据用于做出无偏性估计, SVM 分类器的混淆矩阵如图 4 所示。

沉积物、微塑料和微藻预测的正确率分别为 95.3%、93.3% 和 97.9%,表明该分类器对它们的分类效果好。这些颗粒的光学性质(如折射率)有区别,偏振对折射率敏感,所以能用偏振特征区分它们^[12]。除了折射率的差异,有些微藻在蓝光(445 nm)的激发下还会自发荧光,特异性更强,所以微藻相对其余两者预测的正确率最高。

表 1 给出了不同样品的准确率、精确率和召回率。其中平均准确率高达 97%,说明模型对沉积物、微塑料和微藻的分类效果很好,能够有效地识别出近

乎所有正例,同时避免将反例错误地归类为正例。平均精确率和平均召回率均达到了 95.5%,这说明模型具有很强的特征提取能力。

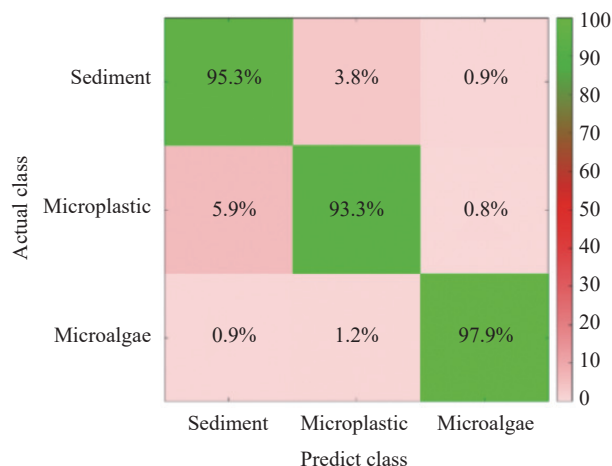


图 4 分类器的混淆矩阵

Fig.4 Confusion matrix of the classifier

表 1 每个类别的准确率、精确率和召回率

Tab.1 Accuracy, precision and recall of each category

	Sediment	Microplastic	Microalgae	Mean
Accuracy	96.2%	96.1%	98.7%	97%
Precision	93.3%	94.9%	98.3%	95.5%
Recall	95.3%	93.3%	97.9%	95.5%

3.2 崖门水道现场实验

通过采水器采集河道口上层(1~2 m)、中层(4~5 m)、下层(7~8 m)的水样。具体操作上,把采水

器和 WQA 绑定在一起, 通过船用绞车把它们投放到下层, 打开第一批采水器; 然后拉到中层处再打开另一批采水器, 之后拉到船上; 同时, 用便携式采水器取上层的水样。每隔 1 h, 重复上述操作。WQA 有深度、叶绿素 a、藻红蛋白、浊度等探头, 能在不同水深记录上述水质参数。采集的水样提供给 SPC 进行现场测量和分类作业。SPC 采用 45°线偏振光照射水样, 每份水样测量 5 min, 给出颗粒数量 (N_s)。之后, SVM 分类器现场把颗粒分类, 给出每种颗粒的数量, 即沉积物的数量 (N_{5s})、微塑料的数量 (N_{5p}) 和微藻的数量 (N_{5a})。

SPC 对水中悬浮颗粒分类结果如图 5 所示。图 5(a) 显示了三类颗粒在不同水层中 25 个小时内的数量总和 $N_{25}(\equiv \sum_{i=1}^{25} N_5^i)$, 其中 N_5^i 是第 i 小时的颗粒数, 横坐标

代表不同水层, 柱状图标注的百分比为同一水层不同类颗粒的比例。可以看出, N_{25} 随着水层深度增加而增加; 沉积物是水体中主要的悬浮颗粒, 微塑料次之, 而微藻最少。同时, 沉积物的数量和比例随深度的增加而增加, 而微塑料和微藻的数量和比例随深度的增加而减少。

图 5(b)~(d) 显示 N_{5s} 、 N_{5p} 、 N_{5a} 随时间和水层的变化规律。 N_{5s} 在上层的值和波动幅度较中层和下层要小; 它们都在 12 日 17:00-18:00 达到了最小值, 在 13 日 2:00-3:00 出现最大值。中层和下层水样, N_{5s} 在 12 日 15:00 和 13 日 12:00 处于高位, 在 13 日 06:00 处于低位。上层 N_{5s} 在 13 日 12:00 也处于高位, 13 日 00:00 和 09:00 处于低位。总体而言, 上层 N_{5s} 随时间变化与中层和下层有明显不同, 这充分说明沉积物在水中的分层现象。

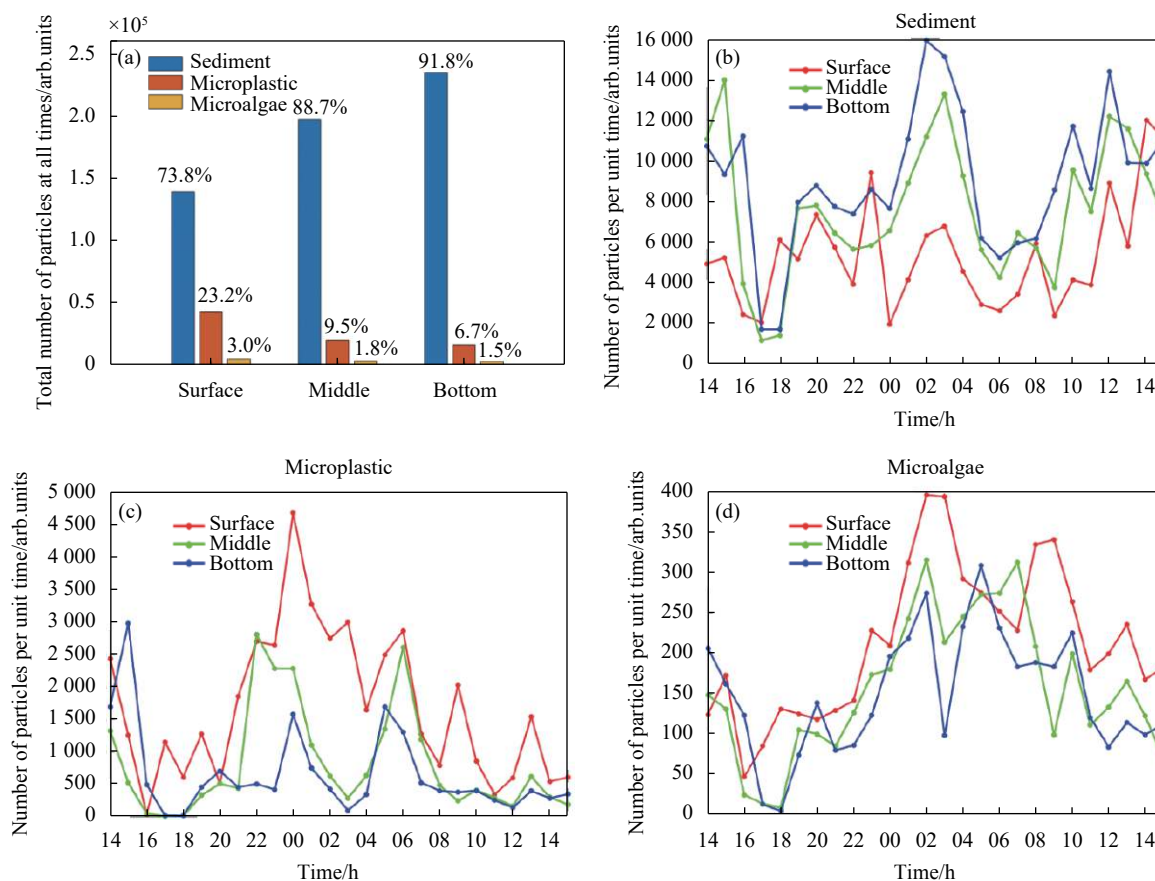


图 5 崖门水道水中悬浮颗粒的分类结果。(a) 颗粒在不同水层的数量和比例; (b)~(d) 不同水层处 N_{5s} 、 N_{5p} 和 N_{5a} 随时间变化曲线

Fig.5 Classification results of suspended particles in water of Yamen Waterway by the prototype. (a) Number and proportion of particles in different water layers; (b)-(d) N_{5s} , N_{5p} and N_{5a} varied with time in different water layers

N_{5p} 约在 12 日 22:00-13 日 00:00、13 日 5:00-6:00 出现极大值, 在 12 日 16:00-18:00、13 日 03:00 和 12:00 值最低。上层 N_{5p} 几乎所有时刻比中层和下层的大, 它在 13 日 00:00 出现最大值, 并在 13 日 03:00 后出现大幅度波动且下降的趋势。中层和下层的 N_{5p} 整体趋势相同, 它们处于低位的时间点都相同; 但处于高位的时间点略微偏移。这说明漂浮在上层的微塑料数量最多, 它们的数量随深度的增加而减少。

N_{5a} 在 12 日 14:00-18:00 呈下降趋势, 接着不断上升, 13 日 2:00 到达顶峰, 最后缓慢下降。上层 N_{5a} 在 13 日 09:00 处于高位, 在 13 日 07:00 和 11:00 处于低

位。中层和下层 N_{5a} 的幅值和走向大致相同, 它们处于高位的时刻有一两个小时的时间差。在 13 日 02:00-03:00, 中层和下层的 N_{5a} 大幅度下降, 而上层的 N_{5a} 几乎不变。大部分时间段, 微藻在上层的数量居多。

3.3 SPC 与 WQA 的数据关联分析

SPC 与 WQA 几乎同时获得水中颗粒物和水质信息, 将部分参数进行了关联分析。将在相同水层下所测数据绘制在图 6, 曲线的颜色与纵坐标轴颜色对应。SPC 与 WQA 的测量值的 Pearson 相关系数如表 2 所示。下文结合图 6 和表 2 对结果分析。

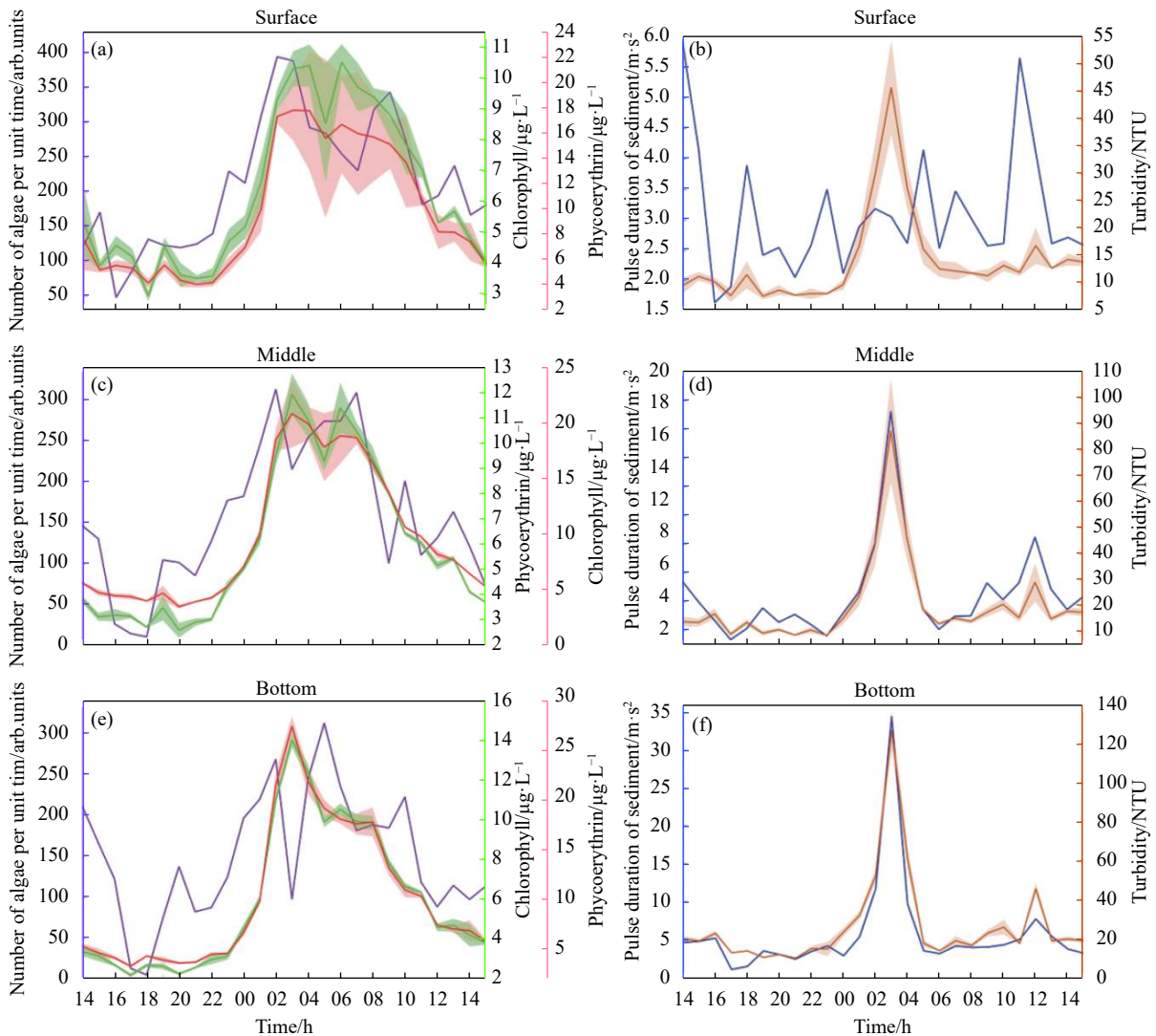


图 6 SPC 与 WQA 的数据对比。(a)~(c) 不同水层 N_{5a} 、 $Chla$ 和 Pe 随时间的变化; (d)~(f) 不同水层 Len_{5s}^2 和 T 随时间的变化

Fig.6 Comparison between SPC data and WQA data. (a)~(c) N_{5a} , $Chla$ and Pe varied with time in different water layers; (d)~(f) Len_{5s}^2 and T varied with time in different water layers

表 2 SPC 和 WQA 数据的 Pearson 相关系数

Tab.2 Pearson correlation coefficient of SPC data and WQA data

Variables	Surface	Middle	Bottom
N_{5a} and $Chla$	0.809 4	0.806 4	0.599 9
N_{5a} and Pe	0.839 1	0.806 9	0.582 5
Len_{5s}^2 and T	0.044 1	0.946 0	0.964 7

在图 6(a)~(c) 分别显示了上层、中层和下层水样中微藻的数量 N_{5a} 、WQA 测量的叶绿素 a 浓度 ($Chla$) 和藻红蛋白浓度 (Pe) 随时间变化的曲线, 实线为均值而阴影部分为标准差。在上层和中层的水样中, N_{5a} 随时间变化的趋势与 $Chla$ 、 Pe 随时间变化的趋势相似, 都是极强相关。在 13 日 02:00 至 08:00 时间内, 三者的值都比较大; 在 12 日 16:00 至 18:00 时段, 三者值都较小。从 12 日 18:00 到 13 日 02:00 时间, 三者都在上升阶段, 而在 13 日 06:00 之后, 三者都下降。在某些细节上, 比如在上层 13 日 02:00 时刻, 三者都同时到达局部极大值。除此之外, N_{5a} 也有与 $Chla$ 和 Pe 不一致的地方。比如, 在 12 日 23:00, N_{5a} 有个局部极大值, $Chla$ 和 Pe 在相应虽然也有变化, 但不如 N_{5a} 明显。三者值在 12 日 16:00 至 18:00 时间内不是同时到达较小值; 在 13 日 06:00 后 $Chla$ 和 Pe 持续下降, 而 N_{5a} 是波动下降。总的来说, 对于上层和上层水样, 三者的相关性比较强, 表 2 中的 Pearson 相关系数都大于 0.8。

相对而言, 下层水样的相关性较上层和上层差一些, 为中度相关, 从表 2 可知, N_{5a} 与 $Chla$ 和 Pe 的相关系数都小于 0.6。从趋势上来看, 三者与上层和上层数据类似, 都有刚开始较低, 中间变大, 而后变小的过程。但相对而言, N_{5a} 稍稍偏离这种趋势。具体而言, 在下层 $Chla$ 和 Pe 的差异较小, 在 13 日 03:00 到达极大值, 而此时, N_{5a} 是极小值。在 12 日 14:00 至 16:00 时段, N_{5a} 较大, $Chla$ 和 Pe 值较小; 类似地, 在 13 日 05:00 时刻, N_{5a} 有一个极大值, $Chla$ 和 Pe 值都较小。

笔者还观察了沉积物这类颗粒的特性。经过分析发现, 沉积物的“等效时间截面”的均值 (Len_{5s}^2) 与 WQA 给出的浊度值 (T) 的相关性值得关注。如图 6(d)~(f) 所示, 实线为均值而阴影部分为标准差。从 12 日 16:00 至 18:00 时间段, T 出现了一个分布峰, 而在

13 日 03:00 出现了最大值; 在 13 日 12:00 出现了极大值。同时可以看出, 随着深度增加, T 值整体增加。与之对应的 Len_{5s}^2 的值也随着深度增加。并且, 在中层和下层水样中与 T 类似, 12 日 16:00 至 18:00 时间段, 出现了一个分布峰, 而在 13 日 03:00 出现了最大值, 在 13 日 12:00 出现了极大值。而在上层水中, 虽然 Len_{5s}^2 在 12 日 18:00 出现了极大值, 但其他时刻与 T 并不相似。如表 2 所示, 对于中层和下层的水样, Len_{5s}^2 与 T 的相关系数都大于 0.9, 这意味着两者的变化趋势非常一致; 而上层的数据, 相关系数小于 0.1, 说明几乎没有关联。从 SPC 提供的颗粒参数与 WQA 提供的水质参数之间的关联分析, 可以看出, 它们之间具有一定的相关性, 这些具有必然性, 因为它们反映的都是水体中颗粒的性质。

4 讨论

4.1 Mie 散射模拟

从前人研究得知, 颗粒的光学性质、形态、微观结构对其散射光偏振态有影响^[12-13,21]。图 4 显示出利用颗粒物的偏振和荧光特征对实验室数据集中的沉积物、微塑料、微藻的准确区分能力。考虑到实验室数据集中三类颗粒在光学性质、形态、微观结构上的多样性, 以及现场水样中颗粒的复杂性, 接下来, 重点考察折射率在区分三类颗粒中的作用。为此, 利用 Mie 散射理论计算多种粒径、折射率颗粒的散射偏振参数。

Mie 散射理论可以计算^[22] 球形颗粒在平行光照下的散射光偏振态。首先, 建立入射光、散射体、观测点的坐标系, 如图 7(a) 所示。假设入射光 \vec{e}_i 沿着 z 轴传播, 它碰撞散射体后, 探测器在 \vec{e}_s 方向接收散射信号。入射光线与散射光学的矢量夹角 θ 为散射角。入射光线和散射光线组成散射平面, 与 xoz 平面的夹角为方位角 φ 。考虑到图 1 所示的样机光路, θ 的中心值为 120° , 而 φ 的中心值为 0° ; 由于接收系统的数值孔径是 0.087, 即 θ 和 φ 的全角范围都是 7.5° 。颗粒发射的散射光 $\vec{e}_s(\theta, \varphi)$ 经过接收系统后变为平行光, 随后 PSA 测量的是所有 $\vec{e}_s(\theta, \varphi)$ 叠加的偏振态, 最后计算得到偏振参数 q, u, v 。

设沉积物、微塑料和微藻的折射率分别为 1.47、1.59 和 1.38。图 7(b) 是三种颗粒被 45° 线偏振光照射

产生的散射光偏振参数 q, u, v 随颗粒的粒径 (范围从 $0.5\sim 10\ \mu\text{m}$) 变化的曲线图, 以及相应参数分布的箱式图。绿色、红色、蓝色的曲线和箱式图对应沉积物、微塑料和微藻的数据。从曲线可以看出, 粒径对偏振参数影响较大, 但折射率的差异终究导致三类颗粒的不同; 箱式图综合不同粒径的颗粒数据, 更容易显示出三类颗粒偏振参数的不同。比如, 当颗粒大于 $6\ \mu\text{m}$ 时, 沉积物的 q 值大于微塑料的, 箱式图显示沉积物的整体 q 值高于其余两类。当颗粒小于 $6\ \mu\text{m}$ 时, u 曲

线图显示微藻与其他两种颗粒明显不同; 颗粒大于 $6\ \mu\text{m}$ 时, 微塑料则比其余两种悬浮微粒 u 值更大; 从箱式图中可以明显看出三类颗粒 u 值的差别。三类颗粒的 v 值的可区分度似乎较差, 但从箱式图还是可以看出总体上微塑料、沉积物和微藻的平均 v 值依次递增。总体来说, 从偏振参数的分布来看, 对一定粒径范围内的颗粒而言, 三类颗粒的折射率差异主导了它们偏振参数的不同。

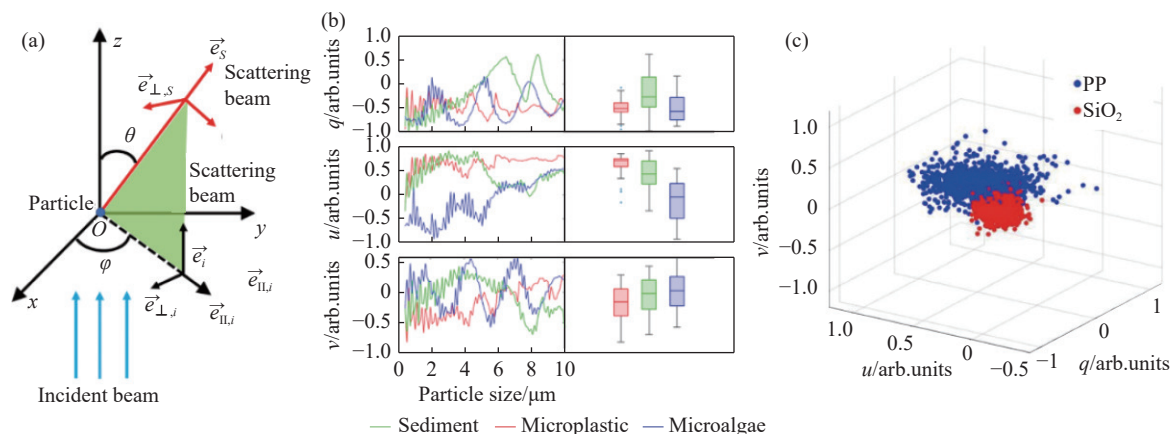


图 7 (a) Mie 散射坐标系; (b) 不同颗粒偏振参数随粒径的变化; (c) SiO_2 与 PP 的偏振参数分布

Fig.7 (a) Mie scattering coordinate system; (b) Variation of polarization parameters of different particles with size; (c) Polarization parameter distribution of SiO_2 and PP

同时注意到, 不同折射率的颗粒散射能力不相同, 其光强 I 可能有助于区分三类颗粒; 但是 I 受制于照明光的强度, 变化范围较大。由于微藻中色素在蓝光激发下发荧光 Flu , 虽然它的强弱受制于照明光和微藻细胞状态, 但它有助于将微藻与其他两类颗粒区分开。相对而言, 偏振参数 q, u, v 与照明光强度无关, 直接与颗粒的光学性质有关, 在区分三类颗粒方面往往起到主要作用。

图 7(b) 的 Mie 散射模拟是针对均匀的球形颗粒, 仅考虑折射率和粒径。实际上颗粒的光学、形态和微观结构性质非常复杂, 颗粒的双折射、二向色性、分子排列、有序度等参数并未在模拟中体现。对于折射率相似的、粒径接近的沉积物与微塑料的样品, 如二氧化硅 (SiO_2) 和聚丙烯 (PP) 的折射率是 1.47 和 1.49, 粒径为 500 目。在实验室中用 45° 线偏振光分别照明这两种颗粒, 提取它们的偏振特征 q, u, v 绘制在三维坐标轴中, 如图 7(c) 所示。可以看出, SiO_2 的分布

相对集中, PP 相对离散, 两种颗粒的 q, u, v 分布位置具有明显差异。其分布差异说明实验 SPC 数据中的偏振参数不仅包含颗粒的折射率与粒径信息, 还含有更复杂的颗粒光学、形态、结构特性。

4.2 参数之间的相关性

微藻与水中的无机和有机物质有许多相互作用, 它们是水质模型的重要组成部分。然而, 测量微藻生物量非常困难, 科学家更喜欢通过测量叶绿素 a 浓度、藻红蛋白浓度来反映微藻生物量。WQA 的总藻类传感器是双通道荧光传感器, 通过波长 470 nm 和 525 nm 的发光二极管激发叶绿素 a 和藻红蛋白产生荧光^[23], 其中叶绿素 a 的激发光与 SPC 的照明光波长接近。叶绿素 a 与藻红蛋白浓度常用于表征微藻数量, 但它们和微藻数量的比率并不是固定值, 该比率依赖于微藻种群的组成、一天中的时间、微藻的生理状况和许多其他环境因素^[24]。而 SPC 给出的 N_{5a} 是微藻的数量, 并未考虑微藻的生理状况和种群结构。因

此,图 6(a)~(c)中 N_{sa} 与 $Chla$ 和 Pe 的差异可能来源于训练数据集中的实验室微藻在种群、生理状态上与崖门水道的微藻有差异。

浊度常用于估算悬浮沉积物浓度^[25],将光束照射到浑浊水体中,然后测量水中颗粒的散射光来计算浊度。有研究者^[26]指出:大于 $5\ \mu\text{m}$ 的颗粒与水的浊度密切相关,但对于小于 $5\ \mu\text{m}$ 的颗粒,其数量和浊度之间的相关性很差。往往漂浮在上层的沉积物小,而中下层的沉积物大。沉积物等效时间截面 Len_{5s}^2 很好地表达了颗粒粒径在水体上、中、下层的分布;这点可以从图 6(d)~(f)中看出,它与浊度的相关性在上层水样更小,而在中、下层水样中更大。

浊度对荧光有遮蔽效应,体现在水中颗粒会遮挡或者散射部分荧光,使所得荧光信号值比实际低;因此,在高浊度水体中,需要校正 $Chla$ 和 Pe 的值^[27]。图 6 中,在中层和下层的水样中,凌晨 3 点浊度达到一个峰值,此时的 $Chla$ 和 Pe 都相应地出现峰值,但是 N_{sa} 出现一个低谷;在上层水体中,浊度在同一时刻有一个峰,但值较小,而此时 $Chla$ 和 Pe 都没有相应的出现峰值。此时,有可能出现浊度对中层、下层 $Chla$ 和 Pe 的干扰。同时注意到微藻的散射能力相比于微塑料、沉积物较弱,且单个微藻的荧光强度低,这可能导致 SPC 在浊度大的水样中对微藻探测能力下降。从表 2 来看,在上层和中层的水样中, N_{sa} 和 $Chla$ 、 Pe 关联系数大于 0.8,但是底层的关联系数约为 0.6。

5 结论与展望

文中介绍了一种水中悬浮颗粒分类仪,它的特点是单个颗粒测量;创新点是能对水中的沉积物、微塑料和微藻分类。针对水中颗粒分类的问题,首先研制样机和发展分类算法;接着在实验室中对标准样品做分类,证明它的分类能力;最后对野外真实水样分类,用商业水质分析仪器的数据支撑 SPC 分类的结果的准确性。

在此项工作中,首先介绍了样机的原理,它能测量水中单个颗粒偏振光散射和荧光信号,并采用引流管进样方式,适用于快速测量现场采集的水样。之后,在实验室中用沉积物、微塑料、微藻标准样品建立数据集,使用 SVM 算法对这三类样品分类,分类器的预测正确率超过 95%,证明了 SPC 具备对水中颗粒

的分类能力。将采集控制软件和分类器内嵌到 SPC 配套的工控机中,使得它能在现场快速判别被测悬浮颗粒的种类,并计数获得各类颗粒的数量和比例信息。至此,SPC 具有了对水中悬浮颗粒现场快速分类的能力。此后,将 SPC 和水质多参数监测仪同时在崖门水道连续布放 25 h。SPC 给出该水域不同水层的沉积物、微塑料、微藻的数量随时间的变化;其中,SPC 给出微藻的数量与 WQA 测量的叶绿素 a 浓度和藻红蛋白浓度存在显著的相关性,SPC 给出沉积物的等效时间截面与 WQA 测量的浊度值的相关性也很高。由于两台仪器反映的都是水体中颗粒的性质,它们的参数之间相关性高具有必然性,也同时证明 SPC 对微藻、沉积物分类结果的可靠性高。在后续的工作中,将对仪器进行改进,提供更多悬浮颗粒的表征参数、完善数据集和分类算法,提高 SPC 对水中悬浮颗粒现场快速分类的速度和准确性。除此之外,SPC 与现有水质参数仪器的复合测量与关联分析具有广阔前景,可以用颗粒的细致分类信息去解释和补充现有水体理化模型,为水环境的保护和开发提供更有利的数据支持以及技术指导。

参考文献:

- [1] Chen Y, Wang H, Liao R, et al. Rapidly measuring scattered polarization parameters of the individual suspended particle with continuously large angular range [J]. *Biosensors*, 2022, 12(5): 321-336.
- [2] Zhang Kaidi, Li Anchun, Zhang Jin, et al. Seasonal variations in the surficial sediment grain size in the East China Sea continental shelf and their implications for terrigenous sediment transport [J]. *Journal of Oceanography*, 2019, 76(1): 1-14.
- [3] Tsang Y Y, Mak C W, Liebich C, et al. Spatial and temporal variations of coastal microplastic pollution in Hong Kong [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2020, 161: 111765-111770.
- [4] Liu Yang, Zhong Nianbing, Chen Ming, et al. Plastic optical fiber evanescent wave sensor for accurate measurement of microalgae biomass [J]. *Optics and Precision Engineering*, 2015, 23(10z): 151-158. (in Chinese)
- [5] Zhang Dongyan, Yin Xun, She Bao, et al. Using multi-source satellite imagery data to monitor cyanobacterial blooms of Chaohu Lake [J]. *Infrared and Laser Engineering*, 2019, 48(7): 0726004. (in Chinese)
- [6] Tao Jing, Hill P S, Boss E S, et al. Variability of suspended

- particle properties using optical measurements within the columbia river estuary [J]. *Journal of Geophysical Research-Oceans*, 2018, 123(9): 6296-6311.
- [7] Zhou J, Gilerson A, Ioannou I, et al. Retrieving quantum yield of sun-induced chlorophyll fluorescence near surface from hyperspectral in-situ measurement in productive water [J]. *Optics Express*, 2008, 16(22): 17468-17483.
- [8] Felix D, Albayrak I, Boes R M. In-situ investigation on real-time suspended sediment measurement techniques: Turbidimetry, acoustic attenuation, laser diffraction (LISST) and vibrating tube densimetry [J]. *International Journal of Sediment Research*, 2018, 33(1): 3-17.
- [9] Méndez-barroso L A, Rivas-márquez J A, Sosa-tinoco I, et al. Design and implementation of a low-cost multiparameter probe to evaluate the temporal variations of water quality conditions on an estuarine lagoon system [J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2020, 192(11): 710.
- [10] Olson R J, Shalapyonok A, Kalb D J, et al. Imaging FlowCytobot modified for high throughput by in - line acoustic focusing of sample particles [J]. *Limnology and Oceanography: Methods*, 2017, 15(10): 867-874.
- [11] Dashkova V, Malashenkov D, Poulton N, et al. Imaging flow cytometry for phytoplankton analysis [J]. *Methods*, 2017, 112: 188-200.
- [12] Wang Yong, Liao Ran, Dai Jincai, et al. Differentiation of suspended particles by polarized light scattering at 120° [J]. *Optics Express*, 2018, 26(17): 22419-22431.
- [13] Li Da, Chen Fei, Zeng Nan, et al. Study on polarization scattering applied in aerosol recognition in the air [J]. *Optics Express*, 2019, 27(12): A581-595.
- [14] Zhuo Zepeng, Wang Hongjian, Liao Ran, et al. Machine learning powered microalgae classification by use of polarized light scattering data [J]. *Applied Sciences*, 2022, 12(7): 3422-3432.
- [15] Zhao Nanjing, Zhang Xiaoling, Yin Gaofang, et al. On-line analysis of algae in water by discrete three-dimensional fluorescence spectroscopy [J]. *Optics Express*, 2018, 26(6): A251-259.
- [16] Xiong Zhihang, Wang Hongjian, Li Jiajin, et al. Probing individual particles in aquatic suspensions by simultaneously measuring polarized light scattering and fluorescence [J]. *Biosensors*, 2021, 11(11): 416-425.
- [17] Li Jiajin, Deng Hanbo, Guo Zhiming, et al. Convergence of illuminating beams suffering from scattering during the individual measurement of suspended particles [J]. *Frontiers in Physics*, 2022, 10: 975766-975775.
- [18] Chang Chihchung, Lin Chihjen. LIBSVM: a library for support vector machines [J]. *ACM Transactions on Intelligent Systems and Technology*, 2011, 2(3): 1-27. (in Chinese)
- [19] Zhang T, Zhong S, Lian C, et al. Deep learning feature fusion-based retina image classification [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2020, 57(24): 241025. (in Chinese)
- [20] Liu Mingwei, Liu Xiao, Wang Weizhuo, et al. Effect of SiO_2 and Al_2O_3 on characteristics of lightweight aggregate made from sewage sludge and river sediment [J]. *Ceramics International*, 2018, 44(4): 4313-4319.
- [21] Wang Pengcheng, Zhang Su, Shen Chengbiao, et al. Multiple scattering transmission characteristic of polarized light in ellipsoidal fine particles [J]. *Chinese Optics*, 2023, 16(2): 1-10. (in Chinese)
- [22] Chen Du, Liu Bingyi, Yang Qian, et al. Measurement of volume scattering function of suspended particles in water approaching to 180° [J]. *Infrared and Laser Engineering*, 2021, 50(6): 20211029. (in Chinese)
- [23] Rybicki Marcus, Moldaenke Christian, Rinke Karsten, et al. WP-C: a step towards secured drinking water: development of an early warning system for lakes[C]//Chinese Water Systems, 2018.
- [24] Sadeghian A, Chapra S C, Hudson J, et al. Improving in-lake water quality modeling using variable chlorophyll *a*/algal biomass ratios [J]. *Environmental Modelling & Software*, 2018, 101: 73-85.
- [25] Landers M N, Sturm T W. Hysteresis in suspended sediment to turbidity relations due to changing particle size distributions [J]. *Water Resources Research*, 2013, 49(9): 5487-5500.
- [26] He Weipeng, Jun Nan. Study on the impact of particle size distribution on turbidity in water [J]. *Desalination and Water Treatment*, 2012, 41(1-3): 26-34.
- [27] Ye Chenjun, Pan Jianming, Zheng Minhui, et al. The influence of turbidity on the measurement of in vivo chlorophyll fluorescence and its correction method [J]. *Journal of Marine Sciences*, 2018, 36(2): 27-35. (in Chinese)

Field prototype for rapid classification of suspended particles in water based on polarized light scattering and fluorescence measurement

Xiong Zhihang^{1,2}, Mai Haoji¹, Huang Zhuangfan¹, Li Jingteng¹, Sun Peitao¹, Wang Jialin¹, Xie Yongtao¹, He Zixi¹, Zeng Yaguang¹, Wang Hongjian², Guo Zhiming², Liao Ran^{2,3*}, Ma Hui^{2,3}

(1. School of Physics and Optoelectronic Engineering, Foshan University, Foshan 528000, China;

2. Institute for Ocean Engineering, Shenzhen International Graduate School, Tsinghua University, Shenzhen 518055, China;

3. Guangdong Research Center of Polarization Imaging and Measurement Engineering Technology, Shenzhen International Graduate School, Tsinghua University, Shenzhen 518055, China)

Abstract:

Objective Suspended particles in water include solid or liquid particles, such as sediment, microplastics, and microalgae. Accurate monitoring of their categories and concentration is of great scientific and practical significance for studying and protecting aquatic ecosystems. Various optical instruments have been developed to probe suspended particles in water, which can be divided into two categories based on the measurement methods. One category measures the overall characteristics of all particles in a body of water, while the other measures individual particles. Water Quality Analyzer (QWA) provide estimates of particle concentration and size distribution, chlorophyll-a concentration, and other water quality parameters. However, QWA are limited in their ability to accurately identify the categories of suspended particles in water. Underwater flow cytometry enables the characterization of various categories of particles by breaking up a water sample into individual particles that are then to be measured. However, this technique is expensive and requires complex sample pretreatment, which limits its application. Therefore, it is needed to develop a prototype for field detection of water samples collected in the wild, with the goal of quickly determining the categories, numbers, and proportions of suspended particles in water.

Methods Suspended Particle Classifier (SPC) has been developed in this paper and its diagram is depicted (Fig.1). The SPC employs a 445 nm laser as the excitation source to induce chlorophyll fluorescence, and the polarization state of the laser is modulated by a polarization state generator. The SPC obtains individual particle polarized light scattering and fluorescence signals, which are combined with a Support Vector Machine (SVM) to classify particles based on their optical properties. To ensure its suitability for field use, the SPC is equipped with a drainage tube for the transportation of water samples and an industrial computer for instrument control and data analysis. Standard samples of sediments, microplastics, and microalgae are collected. Then, datasets are created to train the SVM classifier. Subsequently, SPC was deployed alongside QWA in the Yamen Waterway for 25 hours to evaluate its performance (Fig.3). The accuracy of the SPC classification was verified using data obtained from the QWA.

Results and Discussions The SPC's classification accuracy for standard samples of sediment, microplastics, and microalgae was found to be 95.3%, 93.3%, and 97.9% (Fig.4), respectively, indicating that the classifier has good performance in classifying these particles. The average accuracy and recall rate were found to be 95.5% (Tab.1), indicating the SVM model has strong feature extraction ability. These results suggest that the SPC can accurately classify standard samples. When applied in the Yamen Waterway, the SPC was able to rapidly measure water samples collected in the field and track the changes in the number of sediments, microplastic, and microalgae in

different water layers over time (Fig.5). Furthermore, the number of microalgae identified by the SPC was found to have a strong correlation with the concentration of chlorophyll-a and phycoerythrin measured by the QWA (Fig.6, Tab.2). Additionally, the so-called effective time cross-section of sediments identified by the SPC was found to have a strong correlation with the turbidity value measured by the QWA (Fig.6, Tab.2), further validating the reliability of the SPC's classification results.

Conclusions In this study, a suspended particle classifier was developed with the aim of classifying and counting suspended particles in water samples collected in the field. The SPC probes polarized light scattering and fluorescence signals from individual suspended particles and uses SVM to classify them based on their optical properties. The classification accuracy for standard samples of sediment, microplastics, and microalgae was over 95%. To validate the SPC's classification ability for field water samples, the SPC and QWA were deployed in the Yamen Waterway for 25 hours of synchronous testing. The SPC was able to track changes in the number of sediment, microplastic, and microalgae in different water layers over time. There was a strong correlation between the SPC and QWA measurement data, indicating the high reliability of the SPC in classifying particles in field water samples. These results demonstrate that the SPC can rapidly detect and classify suspended particles in water and has the potential to be a valuable tool for exploring aquatic ecosystems.

Key words: polarized light scattering; fluorescence; suspended particles; field; rapid classification

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (61975088, 62275141); Shenzhen-Hong Kong Joint Project (SGDX20201103095403017)