

YSI6600V2 水质多参数仪现场快速法与实验室分光光度法测定湖泊藻类叶绿素的比较

宋挺, 朱冰川, 严飞, 徐超

(无锡市环境监测中心站, 江苏 无锡 214121)

摘要: 通过将 YSI6600V2 水质多参数仪测得的叶绿素 a 值与实验室分光光度法叶绿素 a 测定值进行比较, 分析了 YSI6600V2 多参数水质监测仪测定叶绿素 a 的准确性与局限性。结果表明, YSI6600V2 测定值多数偏低, 且相关性较差。将 YSI6600V2 测得的蓝藻密度样本分为 2 类后, 相关性得到显著提升。提出了利用蓝藻密度对样本进行分类后, 分别进行叶绿素 a 校正的方法, 并说明了此种校正方法的局限性。

关键词: 叶绿素; YSI6600V2 水质多参数仪; 荧光法; 局限性

中图分类号: X835

文献标志码: A

文章编号: 1674-6732(2016)05-0014-05

Comparison of Onsite YSI6600V2 Multi-Parameter Water Quality Meter and Laboratory Spectrophotometry for the Determination of Lake Algal Chlorophyll

SONG Ting, ZHU Bing-chuan, YAN Fei, XU Chao

(Wuxi Environmental Monitoring Center, Wuxi, Jiangsu 214121, China)

Abstract: In this study, we compared the measured values of chlorophyll a by both YSI6600V2 multi-parameter water quality meter and laboratory spectrophotometry, and explored the accuracy and limitations of the measurement by the YSI6600V2 multi-parameter water quality monitor. The results showed that the majority of the measured values by YSI6600V2 was low and had poor correlation. After dividing the cyanobacteria samples into two categories according to their measured density by YSI6600V2, the correlation was significantly improved. We proposed the use of a correction method for chlorophyll a measurement after classifying the cyanobacteria samples based on the density, and illustrated the limitations of this method.

Key words: Chlorophyll; YSI6600V2 multi-parameter water quality meter; Fluorescence method; Limitations

随着经济的快速发展, 内陆湖泊水体富营养化越发严重, 频频发生“水华”现象, 使得对浮游植物的监测成为研究的热点^[1]。

叶绿素是衡量水体初级生产力的重要指标, 对叶绿素进行测定可以了解水体的生产力和富营养化水平, 因此浮游藻类中的叶绿素是衡量水体富营养化的重要指标^[2]。浮游植物细胞内叶绿素含量随浮游植物种类或类群而有所不同, 同时还受浮游植物年龄、生长率、光和营养条件的影响^[3]。

通常, 水样中叶绿素的量可用来计算浮游植物的密度, 而浮游植物的密度对于预测藻类的暴发和间接测量水体富营养化非常有帮助。叶绿素 a 的传统测试方法——提取分析方法^[4], 测试程序耗时长, 需要有经验的分析人员方能确保良好的数据及长期的一致性, 且不能用于连续监测^[5], 无法获

得水华发生初期第一阶段重要的实时数据。

为适应夏季繁重的蓝藻预警监测任务, YSI 多参数水质监测仪在环境监测领域被广泛使用^[6-10], 在对溶解氧、电导率、叶绿素 a 和蓝藻密度等水质项目的连续监测方面, YSI 比实验室常规监测更优越。

叶绿素荧光与植物光合作用密切相关, 研究表明, 植物吸收的太阳辐射能量用于 3 个方面: 光合作用中的光化学反应、热耗散和荧光^[11]。这 3 者

收稿日期: 2015-08-07; 修订日期: 2016-03-17

基金项目: 江苏省高校自然科学基金资助项目 (14KJB170009); 江苏高校优势学科建设工程基金资助项目 (164320H116)

作者简介: 宋挺 (1982—), 男, 工程师, 本科, 从事生物监测和生态遥感监测研究工作。

在植物生理上是密切关联的,存在着近似此消彼长的关系,因此可以通过荧光更为直接地探测与植物光合作用相关的信息。

荧光的探测方法分为主动和被动 2 类,主动的方法包括荧光动力学技术和激光诱导荧光技术。现使用的 YSI 多参数水质监测仪的型号为 YSI6600V2(以下简称 YSI6600V2),它对叶绿素 a 和蓝藻使用的是激光诱导荧光技术。

监测叶绿素 a 时,用峰波长为 470 nm 左右的蓝光作为激发光源。用这种蓝光照射时,在完整细胞中存在的叶绿素 a 将会发射出光谱在 650 ~ 700 nm 范围内的荧光。为了量化荧光信号,系统检测器采用高灵敏度的光敏二极管,并且用光学滤光片限定检测波长。滤光片阻止了被水样中颗粒反射的 470 nm 的激发光被检测到。

为验证 YSI6600V2 监测叶绿素 a 浓度的准确性,现就 YSI6600V2 检测的叶绿素 a 数据与传统实验室方法检测的叶绿素 a 数据进行了比对实验。

1 材料与方法

1.1 样品采集

根据无锡市环境监测中心站对太湖梅梁湖水域的巡查路线,将采样点分布于太湖梅梁湖水域,见图 1。于 2010 年 1—11 月期间,共采集 313 个样品。

1.2 样品分析

为保证数据的准确性与可比性,水样采集后,倒入 YSI6600V2 仪器测量杯中测定叶绿素 a 和蓝藻密度。测试完毕后,取一定体积的水样进行抽滤(根据样品中叶绿素 a 含量决定),将滤膜的水分吸干后对折,根据国家环境保护总局编制的《水和废水监测(第四版)》中叶绿素 a 的测定方法,对水样的叶绿素 a 浓度进行实验室测定。

1.3 方法间评估

现使用均方根偏差(root mean square error, RMSE)和平均绝对偏差(mean absolute percentage error, MAPE)来评价 2 种叶绿素 a 测量方法的结果,计算公式分别为:

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_{iYSI} - x_{iLab})^2}{n}} \quad (1)$$

$$MAPE = \frac{\sum_{i=1}^n \left| \frac{x_{iLab} - x_{iYSI}}{x_{iLab}} \right|}{n} \times 100\% \quad (2)$$

式中: x_{iYSI} ——YSI6600V2 方法测量的 ρ (叶绿素 a)经模型反演换算后的值, mg/L;

x_{iLab} ——实验室检测的 ρ (叶绿素 a), mg/L;

n ——样本数。

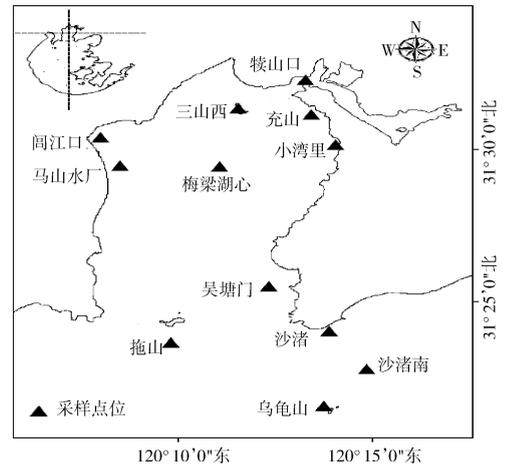


图 1 采样点位分布

2 结果与讨论

2.1 YSI6600V2 与实验室测定叶绿素 a 结果比对

YSI6600V2 与实验室测定叶绿素 a 浓度的结果如表 1 所示。其中,101 组数据样本 YSI6600V2 测定值比实验室方法测定值高,2 组数据样本测定值相同,210 组数据样本 YSI6600V2 测定值比实验室方法测定值低,说明 YSI6600V2 测定值较实验室方法多数偏低。

表 1 2 种方法测定叶绿素 a 结果的统计 $\mu\text{g/L}$

统计项目	实验室	YSI6600V2
样本数	313	313
最大值	0.333	0.041
最小值	0.002	0.002 1
平均值	0.025 6	0.012 3
偏差	0.035	0.008 12

对 2 组数据做配对 T 检验,在置信水平为 95% 时,显著性水平为 0.05,双尾检验概率 p 值为 0.000, < 0.05 ,拒绝零假设,表明 2 组数据有显著性差异。对这 2 组数据做相关性分析,得到决定系数为 0.069,相关性较差,线性回归见图 2。

由图 2 可见,2 组数据的相关性虽然较差,但

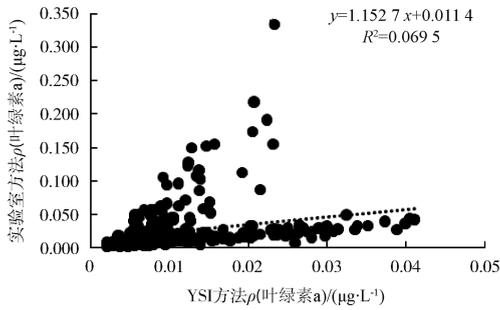
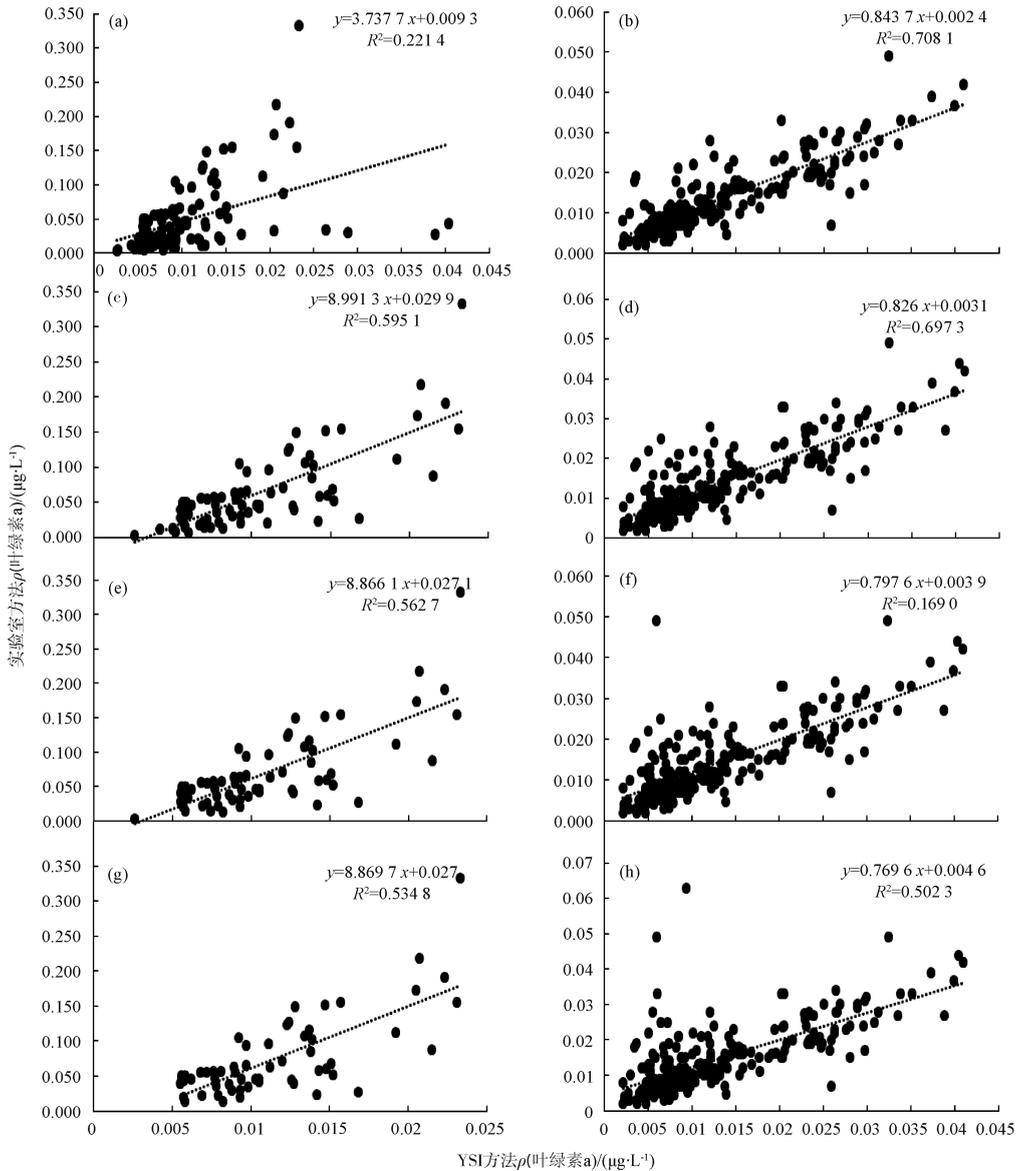


图 2 YSI6600V2 方法测定与实验室方法测定叶绿素 a 值线性回归

样本点分布集中在 2 个区间,即有着 2 组不同方向的趋势。

针对每组样品,还用 YSI6600V2 测量了蓝藻密度,根据测定蓝藻密度的不同,分别以 500,1 000,1 500 和 2 000 万 L^{-1} 为界,将数据分为蓝藻高密度样本和蓝藻低密度样本 2 组,对 YSI6600V2 方法和实验室方法测定的叶绿素 a 值分别进行回归比较,结果如图 3(a)(b)(c)(d)(e)(f)(g)(h) 和表 2 所示。



(a) 500 万 L^{-1} 临界高密度组; (b) 500 万 L^{-1} 临界低密度组; (c) 1 000 万 L^{-1} 临界高密度组; (d) 1 000 万 L^{-1} 临界低密度组; (e) 1 500 万 L^{-1} 临界高密度组; (f) 1 500 万 L^{-1} 临界低密度组; (g) 2 000 万 L^{-1} 临界高密度组; (h) 2 000 万 L^{-1} 临界低密度组。

图 3 分组后 2 种方法比对的线性回归

表 2 蓝藻密度不同临界值分组的 2 种方法比对结果

蓝藻临界密度 /L ⁻¹	高密度组 决定系数	低密度组 决定系数	决定系数 平均值
500	0.221 4	0.708 1	0.464 8
1 000	0.595 1	0.697 3	0.646 2
1 500	0.562 7	0.619 0	0.590 8
2 000	0.534 8	0.502 3	0.518 6

由图 3 和表 2 可见,按照蓝藻密度不同的临界值将样品分组后,2 种方法均显著相关,且相关性都得到了显著的提高。现取平均决定系数最高的蓝藻密度为 1 000 万 L⁻¹ 临界值进行分析,结果显示,当 YSI6600V2 测得的蓝藻密度 > 1 000 万 L⁻¹ 时,以 YSI6600V2 测量叶绿素 a 浓度为自变量,实验室方法测量叶绿素 a 浓度为应变量,通过线性拟合,回归方程如式(3)所示。2 种方法叶绿素 a 值的决定系数为 0.595 1, RMSE 为 0.050 5 mg/L, MAPE 为 74.45%。

$$y = 8.9913x + 0.0299 \quad (3)$$

当 YSI6600V2 测得的蓝藻密度 < 1 000 万 L⁻¹ 时,以其测量叶绿素 a 浓度为自变量,实验室方法测量叶绿素 a 浓度为因变量,通过线性拟合,回归方程如式(4)所示。2 种方法叶绿素 a 浓度值的决定系数为 0.697 3, RMSE 为 0.008 03 mg/L, MAPE 为 28.53%。

$$y = 0.826x + 0.0031 \quad (4)$$

可以看出,根据蓝藻密度对样本进行分组后,2 类样本的相关系数均显著提升,其中蓝藻低密度样本组的相关性高于蓝藻高密度样本组;而 YSI6600V2 方法和实验室方法测定叶绿素 a 值的 RMSE 和 MAPE,蓝藻低密度样品组也低于蓝藻高密度样品组。

2.2 比对结果原因分析

对 YSI6600V2 方法和实验室方法测定的叶绿素 a 值进行线性回归时,313 组样本虽然总体相关性较差,但是散点图显现出 2 组不同的集中分布区间。在利用蓝藻密度将这 313 组样本分为蓝藻高密度样本区和蓝藻低密度样本区后,2 组样本区的相关性均显著得到了提升,其中蓝藻高密度样本区的偏差要高于蓝藻低密度样本区的偏差。现通过 YSI6600V2 测定叶绿素和蓝藻密度的原理,对这种现象进行分析与解释。

YSI6600V2 测量叶绿素 a 浓度和蓝藻密度,都是基于荧光的原理,其中叶绿素 a 浓度使用波长为

470 nm 左右的蓝光作为激发光,蓝藻密度使用波长为 600 nm 左右的橙黄光作为激发光。图 4 是多激发波长调制叶绿素荧光仪 Multi-Color-PAM 原理说明中关于不同藻种在不同波长的激发光下产生的荧光强度的描述。

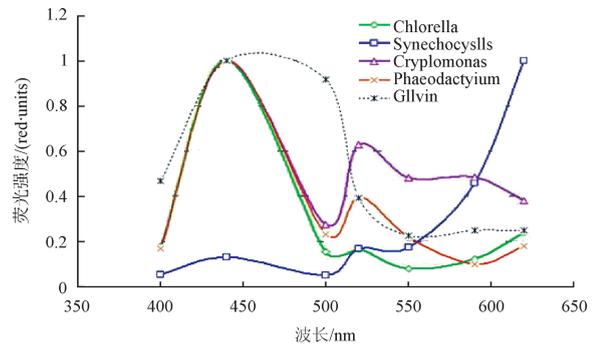


图 4 不同藻种在不同波长激发光下激发的荧光强度

通过图 4 不同藻种激发光与荧光的关系,对 YSI6600V2 的工作原理进行分析:YSI6600V2 使用 470 nm 的蓝光作为激发光测定叶绿素 a 浓度,绿藻、隐藻和硅藻被激发的荧光强度较强且峰值相近,而蓝藻被激发的荧光强度相对于其他藻种极弱(1/10 左右)。

YSI6600V2 在使用同一激发光测定水体叶绿素 a 的情况下,被激发出的荧光强度随着水体中藻类种群的不同有着较大的差异(特别是蓝藻相对于其他藻种)。

在日常的水质监测中,YSI6600V2 叶绿素 a 探头在通常情况下使用罗丹明 WT 标准溶液进行统一校正,由于蓝藻在 470 nm 左右的蓝光作为激发光的情况下,被激发的荧光强度与其他藻种的差异性,在使用统一校正标准的情况下,叶绿素 a 测定结果将不准确,这也是造成 YSI6600V2 方法与实验室方法测定叶绿素 a 结果差异的主要原因。

2.3 对 YSI6600V2 叶绿素 a 系统的校正及局限性

YSI6600V2 在使用同一激发光测定水体叶绿素 a 的情况下,被激发的荧光强度随着水体中藻类种群结构的不同有着较大的差异(特别是蓝藻相对于其他藻种)。

YSI6600V2 测定蓝藻密度是基于蓝藻特有的光合色素(藻蓝素)的荧光原理,所以测定的蓝藻密度相对准确,而蓝藻密度的高低,也在一定程度上反映了水体中的藻类种群构成,即蓝藻密度高的

水体,蓝藻为优势种的可能性较大;蓝藻密度低的水体,绿藻、硅藻等其他藻种为优势种的可能性较大。上文根据蓝藻密度将样品进行分类分析后,相关性均显著提升,蓝藻被激发的荧光强度与其他藻种的差异性,是造成在使用统一校准标准的情况下蓝藻高密度样本区的偏差要高于蓝藻低密度样本区的偏差的主要原因。

对 YSI6600V2 叶绿素 a 系统进行校正,建议先根据 YSI6600V2 测得蓝藻密度的不同(1 000 万 L^{-1} 为界效果最好),对样本进行分类,再对 YSI6600V2 方法与实验室方法测得的叶绿素 a 结果分别进行回归分析,将得到的 2 个回归方程分别应用到蓝藻高密度样本的叶绿素 a 校正与蓝藻低密度样本的叶绿素 a 校正。

在具体的水体样本中,藻类的种群构成不能简单地以 YSI6600V2 测得的蓝藻密度来区分,这需要实验室镜检的分析结果。现根据蓝藻密度来估算水体中优势种的构成,从而对 YSI6600V2 方法测定的叶绿素 a 结果进行校准只是大致估算,有着一定的局限性。

3 结论

(1) 通过对 YSI6600V2 和实验室分光光度法 2 种方法测定的叶绿素 a 值进行回归分析,YSI6600V2 测定值多数偏低,相关性较差且不显著。在利用 YSI6600V2 测得的蓝藻密度将样本分为 2 类后,相关性显著且得到大幅度提升;

(2) 依据 YSI6600V2 测定叶绿素 a 和蓝藻密度的荧光法原理,分析了荧光法测定叶绿素 a 和蓝藻密度的生物光学机理和测定蓝藻叶绿素 a 的局限性;

(3) 基于比对分析结果,以及荧光法测定叶绿

素 a 和蓝藻密度的原理,提出利用蓝藻密度对样本进行分类后,再分别进行叶绿素 a 的校正;

(4) 以蓝藻密度来区分水体中藻类种群构成,并依此对 YSI6600V2 测得的叶绿素 a 浓度进行分组校正只是大致估算,还需要结合藻类镜检结果进行精确分析与验证。

[参考文献]

- [1] 黄昌春,李云梅,王桥,等.铜绿微囊藻和斜生栅藻生物光学模型[J].湖泊科学,2010,22(3):357-366.
- [2] 陈宇炜,高锡云.浮游植物叶绿素 a 含量测定方法的比较测定[J].湖泊科学,2000,12(2):185-188.
- [3] 王建,王骥.浮游植物叶绿素与脱镁叶绿素的测定方法[J].武汉植物学研究,1984,2(2):321-328.
- [4] HALLEGRAEFF G M. Pigment diversity, biomass and species diversity of phytoplankton of three Dutch lakes[J]. Rotterdam: Bronder - offset,1976:167-177.
- [5] 林少君,贺立静,黄沛生,等.浮游植物中叶绿素 a 提取方法的比较与改进[J].生态科学,2005,24(1):9-11.
- [6] 张军毅,陆敏,叶凉,等.夏季梅梁湖蓝绿藻密度和叶绿素的时空分布特征[J].长江流域资源与环境,2010,19(1):97-100.
- [7] 丁建清,张军毅.YSI6600V26600 传感器在太湖蓝藻预警工作中的应用[J].环境监测管理与技术,2011,23(1):67-70.
- [8] 翁建中,王亚超,李继影,等.荧光技术在太湖蓝藻水华预警监测中的应用[J].中国环境监测,2009,25(4):23-26.
- [9] 丁薇,揣小明,钱新,等.洋水水库蓝藻水华爆发预测影响因素研究[J].环境监控与预警,2011,3(4):1-5.
- [10] 宋晓兰,段学花,吕伟民,等.江阴地区主要内河叶绿素 a 动态特征及其环境因子的相关分析[J].环境监控与预警,2012,4(3):40-44.
- [11] BAKER N R. Chlorophyll fluorescence: A probe of photosynthesis in vivo[J]. Annual Review of Plant Biology, 2008,59:89-113.

栏目编辑 周立平

(上接第 5 页)

- [46] 关胜,何富生.傅立叶红外分析仪在化工区空气异味监测中的应用[J].广州化工,2012,40(18):102-103.
- [47] 潘光,李恒庆,宋毅倩,等.鱼粉行业恶臭污染物产生与成分分析探讨[J].中国环境管理干部学院学报,2009,19(4):88-91.
- [48] RUSH S M. Methods for gas chromatography - olfactometry: a review[J]. Biomol Eng, 2001,17:121-128.
- [49] 戴玄吏,汤佳峰,章霖之.“湖泛”恶臭物质分析及来源浅析[J].环境监控与预警,2010,2(3):43-45.
- [50] 刘笑生,刘建斌,刘梦雅,等.SAFE 与 SDE 法对金华火腿皮下脂肪气味活性物质研究[J].食品科学技术学报,2014,32

(1):40-46.

- [51] 邱寿宽,孙英,王春娥,等.绿豆挂面保质期提升及异味分析[J].粮食加工,2015,45(6):44-46,50.
- [52] 环境保护部.环境空气 挥发性有机物的测定 罐采样/气相色谱-质谱法:HJ 759—2015[S].北京:中国环境科学出版社,2015.
- [53] 李小林,陈诚,清源,等.会东县不同品种块菌挥发性香气成分的 GC/MS 分析[J].食品科学,2015,36(18):132-136.
- [54] 郭莲秀,丁桂英,马芳,等.恶臭气体环境污染损害评估方法初探[J].环境监控与预警,2015,7(5):61-64.

栏目编辑 李文峻