

YSI(多参数水质检测仪)测定叶绿素a浓度的准确性及误差探讨^{*}

刘苑^{1,2}, 陈宇炜^{1**}, 邓建明^{1,2}

(1:中国科学院南京地理与湖泊研究所湖泊与环境国家重点实验室,南京 210008)

(2:中国科学院研究生院,北京 100049)

摘要: YSI(多参数水质检测仪)由于其快速、轻便的特点,已广泛应用于野外水体中叶绿素a的测定。通过将YSI测得的叶绿素a值与分光光度法测定值进行比较,对YSI6600水质测定的准确性和数据采集进行评估。结果显示,YSI测定值多数偏低,且与分光光度法测定值之间存在显著性差异;时间上,冬季比夏季具有更大的线性相关性。分段回归结果显示,随着叶绿素a浓度不断增大,两组数据的差值也不断增大。YSI测定误差产生于3个方面:(1)测定前YSI校准方法的不同;(2)其它种类具有荧光特性色素的存在;(3)YSI自身结构。

关键词: 叶绿素a浓度; YSI; 分光光度法; 误差

Discussion on accuracy and errors for phytoplankton chlorophyll-a concentration analysis using YSI(Multi-parameter water analyzer)

LIU Yuan^{1,2}, CHEN Yuwei¹ & DENG Jianming^{1,2}

(1: State Key Laboratory of Lake Science and Environment, Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, P. R. China)

(2: Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, P. R. China)

Abstract: YSI(Multi-parameter water analyzer) is widely used to determine phytoplankton chlorophyll-a concentration in many fields because of its rapidness and portability. The purpose of this study is to evaluate the efficacy of the YSI Environmental Monitoring System for water quality measurements and data collection by comparing two groups of data using laboratory method and YSI detections respectively. It shows that multiprobe readings are significantly different from laboratory analysis of chlorophyll. Mostly, multiprobe readings are much lower than laboratory analysis. All the data are mainly correlated in winter than summer. Linear regression of these two groups of data that were sectionalized into several intervals according to laboratory analysis of chlorophyll indicated that the disparity between these two groups of data becomes bigger with the increase of chlorophyll concentration. Errors are caused possibly by several factors: (1) calibration method of YSI, (2) existence of other kinds of pigment that fluoresces, and (3) the structure of YSI.

Keywords: Chlorophyll-a; YSI; laboratory analysis; error

叶绿素以多种形式存在于浮游植物和水体内的其它植物中。浮游植物的种群生物量是水生生态系统研究的一个重要指标,浮游植物叶绿素a含量通常可以用来快速估算种群生物量,因此浮游植物叶绿素a含量的测定成为浮游植物生物量的重要指标而被广泛应用^[1]。

浮游植物叶绿素a浓度的测定有多种方法,其中常用的有分光光度法、荧光光度计法和高效液相色谱法(HPLC)^[2]。高效液相色谱法能够精确地测定各种光合色素的含量,但由于仪器昂贵,分析操作步骤繁琐,一般不能用于野外大量样品的快速分析^[3]。荧光光度计也能够精确地测定叶绿素a的含量,特别是能

* 国家重点基础研究发展计划“973”项目(2008CB418005)和科技部基础性工作专项“中国湖泊水质、水量和生物资源调查”项目(2006FY110600)联合资助。2010-08-18 收稿;2010-09-21 收修改稿。刘苑,女,1987年生,硕士研究生;E-mail:liuyuan13455263207@126.com.

** 通讯作者;E-mail:yuwchen@niglas.ac.cn.

够测定叶绿素含量较低的样品,但由于分析过程中容易受其他色素或色素衍生物的干扰,因而也不利于快速分析各类不同的野外样品^[4-5]. 分光光度法是这三种方法中最常用的测定叶绿素 a 的方法,因为其测定仪器简单、比较容易获得,且已具备完善的测定体系,这种方法得到的数据相对准确,但其测试程序耗时,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,且不能用于大量样本的快速、实时监测^[6].

YSI(多参数水质检测仪)因其快速、轻便且适于野外大量样品的实时分析而被广泛应用. 其工作原理:叶绿素一个重要的特征是可以发射荧光,即当用特定波长的光照射时,它可以发射出更高波长的光(或者更低能量). 该叶绿素测量仪器使用峰波长大约在470nm的发光二极管(LED)作为激发光源. 这种规格的LED产生的光束在光谱的可见区,是肉眼可见的蓝光. 用这种蓝光照射时,在完整细胞中存在的叶绿素将会发射出光谱在650–700nm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. 有些激发光会被水样中的颗粒反射,滤光片便阻止这种反射后的激发光被检测到.

表1 调查湖泊基本情况^[8]

Tab. 1 Characteristics of investigated lakes

湖泊	面积 (km ²)	所在 省份	水华	水深(m)		水草
				平均	最大	
鄱阳湖	3050	江西	极少	5.1	29.19	较多
太湖	2425	江苏	严重	2.12	3.30	少
龙感湖	316.2	安徽		3.78	4.58	有
梁子湖	304.3	湖北	有	4.16	6.20	
洪湖	344.4	湖北		1.91	2.20	全覆盖
黄大湖	299.2	安徽		3.94	5.30	极多
泊湖	180.4	安徽	极少	4.41	6.86	较多
长湖	129.1	湖北		1.90	3.30	
斧头湖	114.7	湖北		2.90	4.30	多
升金湖	78.5	安徽		1.26	3.50	多
赛城湖	61.3	江西		2.24	3.40	无
东湖	33.7	湖北	有	3.50	4.20	
严西湖	11.8	湖北		1.90	3.00	少
大通湖	114.2	湖南		2.89	3.50	极少
毛里湖	36.8	湖南	严重	3.50	3.70	无
牛浪湖	15.9	湖北		2.30	4.60	无
武湖	21.2	湖北		2.60	4.20	少
菜子湖	172.1	安徽	有	1.67	8.28	全覆盖

表2 两种方法测定结果的统计分析

Tab. 2 Statistical analysis of the results of two methods

统计项目	分光光度法	YSI
样本数	699	699
最小值	0.71	0.30
最大值	136.43	52.15
平均值	19.26	9.58
标准差	20.21	8.58
方差	408.49	73.74

1 实验方法

1.1 样品的采集、实验室分析

采样点分布于长江中下游各面积大于10km²的湖泊(表1). 枯水期采样时间:2007年10–11月,2008年3–4月;丰水期采样时间:2008年6–8月,2009年6–8月. 在调查的湖泊中,全部处于中富营养状态. 采集上层和下层水体各5L组成混合水样,将此混合水样装入清洗干净的塑料瓶内,并尽快运回实验室. 样品运回实验室后,取一定体积的水样进行过滤(根据样品中叶绿素含量决定,一般富营养化水体需要250ml,贫营养水体需1000–2000ml),将滤膜的水分吸干后对折,放入5ml的离心管,保存在零下20℃的冰柜(或冰箱的冷冻室)中. 为保证样品完全冷冻,至少一昼夜后才能萃取测定. 此冷冻样品最长保存3个月. 之后利用热乙醇法^[7]进行叶绿素a浓度分析.

1.2 YSI 现场测定

采用美国YSI公司生产的多参数水质检测仪YSI6600,实验前用已知浓度水样校准. 视水深情况,测定水体表层(0.2–0.3m)及中下层(约1m)的pH、水温、浊度、叶绿素a等水质指标.

1.3 数据处理

采用SPSS13.0和EXCEL2003处理.

2 结果与分析

2.1 YSI 与分光光度法测定结果的统计比较

YSI与分光光度法测定叶绿素a浓度统计结果(表2)显示,552组数据样本YSI测定值比分光光度法测定值小,占全部数据样本(699组)79%,说明YSI测定值多数偏低.

对两组数据进行t检验($P < 0.01$),表明两组数据具有显著性差异.

根据测定的温度不同,将数据分为冬季、夏季两部分

分别回归比较(图1). 回归结果显示:对于 R^2 ,冬季>夏季>总体,即冬季两组数据具有更大的线性相关性,可能与冬季温度较低有关. 浮游植物的荧光强度随温度的下降而升高^[6].

将数据按分光光度法测定值分为4个区间,即<5,5~20,20~50,>50 $\mu\text{g/L}$;并分别进行线性回归. 随着分光光度法测定的叶绿素a的浓度值逐步增大,回归系数逐步减小,即绝对误差不断加大(图2). 但浓度在0~5 $\mu\text{g/L}$ 范围内,YSI和分光光度法测定值基本一致,原因可能是:(1)YSI的发明是以测量海洋中叶绿素浓度为目的,海洋中的叶绿素浓度通常很低;(2)作为参照的分光光度法在叶绿素浓度0~5 $\mu\text{g/L}$ 范围内误差也很大.

2.2 YSI测定方法的误差探讨

2.2.1 仪器的校准 仪器的校准最好选用吖啶橙溶液的两点校准法,并且1至2个星期要进行一次. 但是,即使已经用实验室方法测定的样品叶绿素值对传感器进行校正,也不能保证现场监测数据完全正确. 因为即使不同种类的浮游植物的叶绿素含量相同,它们的活体荧光也可能不同. 另外,其它一些因素也会影响结果,包括温度、光线和营养盐^[9]. 因此,一天中校准和现场测定样品中叶绿素含量的时间要完全一致,这样两种方法才能统一,然而,这样的同步水平通常是不可能实现的.

2.2.2 色素的影响 尽管荧光强度与样本中叶绿素的含量应该是呈正相关的,但是其它种类的色素和一些叶绿素衰减产物的存在会影响YSI测定结果. 大多数荧光是由浮游植物发射的,并且是叶绿素产生的. 然而,要排除其他荧光物质的影响是不可能的. 而且,实验室条件下测定的叶绿素可以区

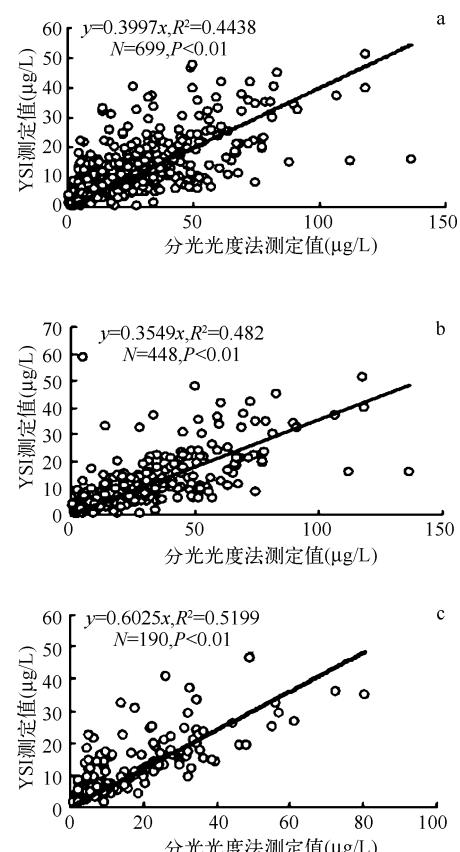


图1 数据线性回归(a:全部;b:夏季;c:冬季)

Fig. 1 Linear regressions of data

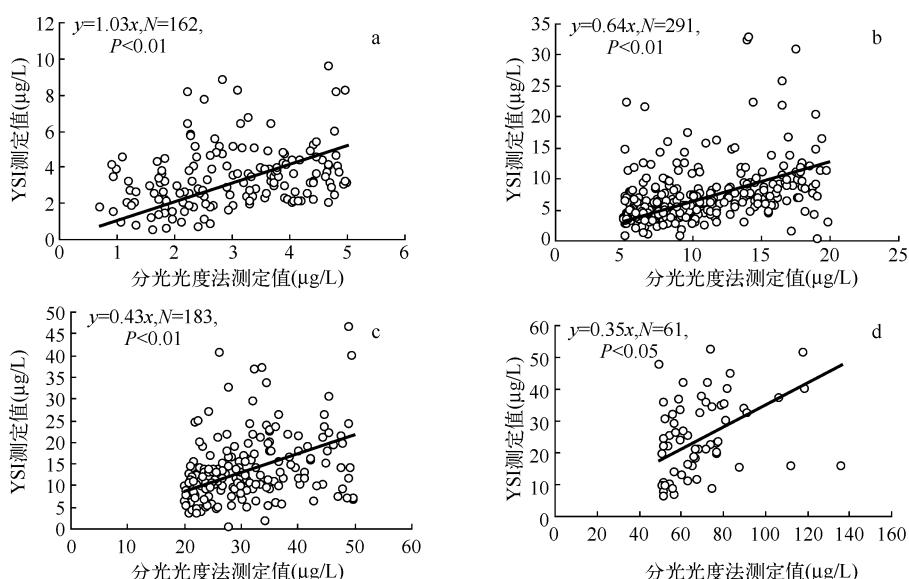


图2 不同浓度区间线性回归(a:0~5 $\mu\text{g/L}$;b:5~20 $\mu\text{g/L}$;c:20~50 $\mu\text{g/L}$;d:>50 $\mu\text{g/L}$)

Fig. 2 Linear regressions of different Chl. a concentration intervals

分不同种类的叶绿素 a,b,c, 荧光光度计不可区分不同种类的叶绿素^[10].

2.2.3 自身结构 YSI6600 一个独特的结构是测定叶绿素和浊度的探针上分别有个小清洁刷. 在测定样品时, 可自动清洁光学表面. 造成探针读数不稳定的一个原因是丝状藻可能会缠在探针的清洁刷上造成读数偏离. 同时, 清洁刷也可能磨损以至于不能正常工作.

致谢: 张路等参与了野外采样和数据的测定, 刘霞在数据处理方面给予了很大帮助, 高振美也为本文提供了许多重要的思路和支持, 特此表示感谢.

3 参考文献

- [1] Jespersen AM, Christoffersen K. Measurements of chlorophyll-a from phytoplankton using ethanol as extraction solvent. *Arch Hydrobiol*, 1987, **109**:445-454.
- [2] Wetzel RG, Likens GE. Limnology analysis, 3rd edition. New York: Springer, 2000.
- [3] Jacobsen TR. Comparison of chlorophyll-a measurements by fluorometric, spectrophotometric and high pressure liquid chromatographic methods in aquatic environment. *Arch Hydrobiol Beih Ergebn Limnol*, 1982, **16**:35-45.
- [4] Yentsch CS, Menzel DW. A method for the determination of phytoplankton chlorophyll and phaeophytin by fluorescence. *Deep-sea Res*, 1963, **10**: 221-231.
- [5] Neveux J, Panouse M. Spectrofluorometric determination of chlorophylls and pheophytins. *Arch Hydrobiol*, 1987, **109**: 567-581.
- [6] 张江龙. 叶绿素监测仪器在水质自动监测应用中的优劣浅析. 现代科学仪器, 2007, **1**:41-43.
- [7] 陈宇炜, 陈开宁, 胡耀辉. 浮游植物叶绿素 a 测定的“热乙醇法”及其测定误差的探讨. 湖泊科学, 2006, **18**(5): 550-552.
- [8] 王苏民, 窦鸿身. 中国湖泊志. 北京: 科学出版社, 1998.
- [9] Schloss J. Streamlined in-situ chlorophyll monitoring technology. *LakeLine*, 2000, **20**(3): 16-18.
- [10] YSI Incorporated. 6-series Environmental Monitoring System. YSI Environmental Operations Manual, 2006, Yellow Springs, OH.