

淺談魚類年齡估算之技術進展— 傅立葉轉換近紅外線光譜之應用

荏家續¹、周爰瑱²、張可揚^{1/1} 水產試驗所海洋漁業組、² 東部漁業生物研究中心

魚類年齡估算是漁業資源管理的核心工作之一，舉凡有關社群 (stock) 之性成熟年齡、初捕年齡 (age at first capture)、加入年齡 (age at recruitment)、或年齡體長關係 (age-length key) 等資料之取得，皆有可能需進行年齡估算。年齡及其他生物學參數有助於推估系群資源量、族群成長潛能或制定漁業管理政策。

魚類年齡倘以形質分析法進行估算，可使用之形質，主要有耳石 (otolith)、鱗片 (scale)、鰓蓋骨 (operculum)、脊椎骨 (vertebrae) 及硬棘 (spine) 等，而其中最常用的是耳石。耳石是伴隨著魚體成長而增長之小型鈣化結構，位於魚的內耳，主要由碳酸鈣 (CaCO₃)、有機物質及微量元素週期性交互沉積而成，沉積速率同時受到外在環境因子及內在個體生理發育之影響；當各項調控因子出現週期性變化時，便會在耳石上留下明暗交替之輪紋。耳石之輪紋，例如日週輪、年輪，具有樹木年輪之特性，可以用來測量日齡及年齡，惟往往須先進行清洗、乾燥、包埋、研磨等繁瑣之製備前置作業，方能於顯微鏡下進行觀察 (圖 1)。

傳統以顯微鏡進行之年齡估算方法屬於高度勞力密集作業，首先需投入大量的樣本製備前置作業時間與人力，而顯微鏡下之判讀結果易受觀察者主觀判斷影響 (i.e., reader variability)，因而同時影響作業之效率及準

確性。近年來，澳洲、美國及歐洲等研究人員嘗試採用傅立葉轉換近紅外線光譜 (Fourier transform near-infrared spectroscopy, FT-NIR) 儀器 (圖 2) 進行魚類年齡估算。

光譜儀器原理是光束照射樣本後，部分光束被樣本吸收，部分光束會穿過 (透射) (圖 3)，後續再透過電腦轉換為吸光圖譜或吸光度 (absorbance patterns)。FT-NIR 係使用約 900 — 2,500 nm 波長，換算成光譜圖後呈現 4,000 — 10,000 波數 (cm⁻¹ wavenumbers) 範圍之光束，將其照射樣本後，藉由樣本化學成分官能基 (functional group) 吸收特定波長能量，導致化學鍵震動所呈現不同之吸光圖譜，據以反推樣品之成分或含量，以達到定性及定量分析之目的。

早期之色散型近紅外光譜 (dispersive NIR) 技術，係採用單一頻率光束、重複照射樣本方式進行，頗為耗時；現今改進後 FT-NIR 可突破上述限制，藉由照射同時含有多種頻率的光束，便可單次、同步、快速反映所有近紅外光的吸光度；其中近紅外光能量由鹵素 (halogen) 光源打到干涉儀 (interferometer)，其所產生的干涉圖 (interferogram) 經由傅立葉轉換，最終可得到完整吸光譜圖以供分析。此外，本項技術操作過程無需複雜耗時的樣品製備前置作業，不會對樣品造成破壞 (non-destructive)，甚至可

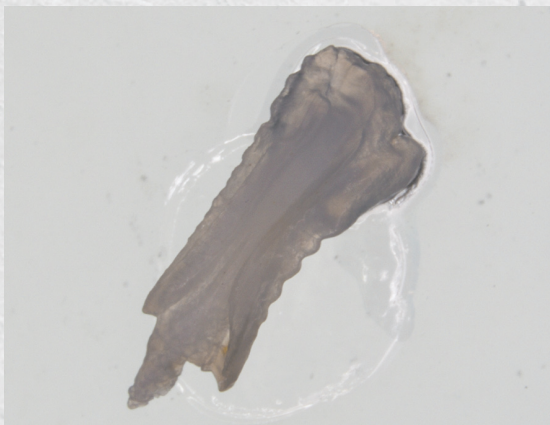


圖 1 顯微鏡下觀察之花腹鯖耳石

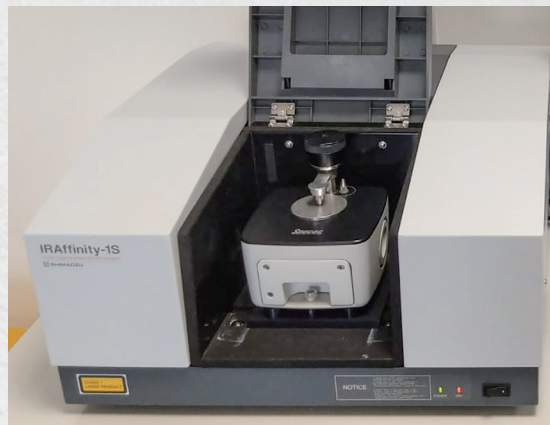


圖 2 傅立葉轉換近紅外光譜儀器 (引自維基百科 Wikimedia Commons CC BY-SA 4.0, By Keshavana)

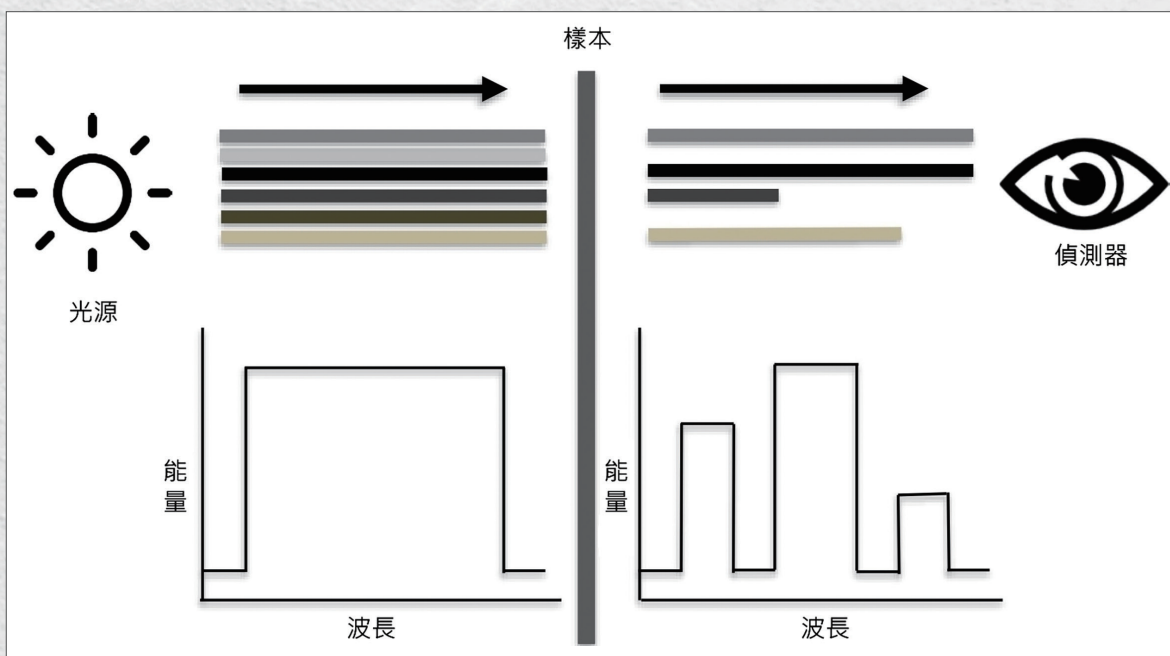


圖 3 光譜儀原理簡圖

(改繪自 <https://www.chem.uci.edu/~dmitryf/manuals/Fundamentals/FTIR%20principles.pdf>)

穿透過玻璃及包裝直接量測，初步分析結果也可於數十秒內快速獲得。

FT-NIR 具非侵入性特質，已長期廣泛應用於農、林、漁、牧、食品科學、製藥等領域，例如針對核果品質、木材特徵、鮭魚脂肪及色素成分等之檢測分析；澳洲 Wedding 等 (2014) 率先將其應用至魚類年齡估算，他們

將馬拉巴笛鯛 (*Lutjanus malabaricus*) 成對之矢狀耳石 (paired sagittal otoliths) 中的一個透過顯微鏡觀察輪紋以取得參考年齡 (i.e., reference age determination)，另一個耳石 (i.e., sister otolith) 來採集光譜數據，最後再以統計方法將兩者 (參考年齡、光譜數據) 建立預測年齡模型及迴歸關係，俾供後



續新的耳石樣本能快速藉由 FT-NIR 估算年齡；後續又有許多學者進行相似之研究，例如美國 Passerotti 等 (2020) 針對西大西洋笛鯛 (*Lutjanus campechanus*) 及 Healy 等 (2021) 針對太平洋鱈 (*Gadus macrocephalus*) 年齡估算；最近美國 Benson 等 (2024) 針對阿拉斯加鱈 (*Gadus chalcogrammus*)、多棘平鮎 (*Sebastes polyspinis*)，以及義大利 Basilone 等 (2024) 針對大西洋的竹筴魚 (*Trachurus trachurus*) 研究，進一步結合人工智慧 (artificial intelligence, AI) 之深度學習演算法 (deep learning algorithms)，以求精進上述年齡估算方法。

由於光譜之呈現主要與耳石化學成分有關，因此無法直觀對應至耳石的微細構造，故應用於耳石年齡定量分析結果驗證上，仍須仰賴傳統年齡形質法估算之數據支持，俾藉以建立分析模型及多變量校準，其目標是找到光譜測量值與傳統顯微鏡觀察結果之關係。常用的模型如偏最小平方法迴歸 (partial least squares regression, PLS) 和主成分迴歸 (principal component regression, PCR)，惟此二種模型如同其他經典化學計量學建立模型方式，高度依賴使用者擁有處理非選擇性和非線性參數的高階計算能力，難度頗高，可能不易求得最佳模型。目前最新的做法是結合人工智慧 (AI) 的深度學習演算法，例如：透過多模態卷積神經網路 (multimodal convolutional neural networks, MMCNN) 接受和學習來自光譜、地理空間、生物數據等多重特徵資訊，以精進上述模型。

目前學術界仍然不完全了解魚類耳石與光譜變化間的完整機制，畢竟耳石成分極為

複雜，除含量最多的碳酸鈣 (佔 90% 以上)，尚有諸多有機物質及微量元素，有機物質部分又包含數百種蛋白質，此涉及蛋白質體學 (proteomics) 之深入研究，俾能揭示哪些耳石成分對透過 FT-NIR 判別魚齡影響最大。

綜合上述說明可知，如果不計入依據光譜來建立預測年齡模型所需花費之時間 (以上述學者之研究個案顯示，耳石樣本數往往需達數千個)，FT-NIR 技術無疑可縮短模型建立後之魚類年齡估算之作業時間；惟 FT-NIR 光譜與傳統顯微鏡觀察年齡之間所存在的未知連結，仍是一個學術上的挑戰，有待未來之持續研究及釐清。

主要參考文獻：

1. Benson, I. M., T. E. Helser and B. K. Barnett (2024) Fourier transform near infrared spectroscopy of otoliths coupled with deep learning improves age prediction for long-lived northern rockfish. *Fisheries Research*, 278(107116).
2. Passerotti, M. S., T. E. Helser, I. M. Benson, B. K. Barnett, J. C. Ballenger, W. J. Bubley, M. J. M. Reichert and J. M. Quattro (2020) Age estimation of red snapper (*Lutjanus campechanus*) using FT-NIR spectroscopy: feasibility of application to production ageing for management. *ICES Journal of Marine Science*, 77(6): 2144-2156.
3. Wedding, B. B., A. J. Forrest, C. Wright, S. Grauf, P. Exley and S. E. Poole (2014) A novel method for the age estimation of Saddle tail snapper (*Lutjanus malabaricus*) using Fourier Transform-near infrared (FT-NIR) spectroscopy. *Marine and Freshwater Research*, 65: 894-900.