基于可见近红外光谱玉米种子活力的无损 检测方法

白 京、彭彦昆*、王文秀

(中国农业大学工学院, 国家农产品加工技术装备研发分中心, 北京 100083)

摘 要:目的 基于近红外漫反射技术,初步探讨玉米种子活力的快速、无损检测方法。方法 本研究利用实验室自行搭建的近红外光谱检测系统获取 60 粒表面平整无明显损伤的 M017 玉米种子 450~900 nm 光谱曲线,其中校正集和验证集比例为 3:1。利用红墨水染色法判定玉米种子样品是否具有活力。通过进行 SG-5 点平滑 (Savitzky-Golay smoothing, SG)预处理方法减小曲线噪声,基于主成分分析(principal component analysis, PCA) 方法提取主要判别成分,并依据测定的种子活力情况和其光谱曲线应用支持向量机(support vector machine, SVM)建立判别模型进行分析。结果 当累计贡献率达到 96%时,选取 6 个主成分,建立的模型判别正确率最高,近红外漫反射光谱数据能够较好的判别种子活力的有无,其中校正集和预测集判别正确率分别为 95.56%和 86.67%。结论 证明该方法可行,基本能够满足快速无损检测判别玉米种子活力的要求,为今后快速无损检测玉米种子活力奠定了基础。

关键词: 近红外光谱; 玉米; 种子; 活力

Discrimination of vitality of maize seeds based on near visible infrared spectroscopy

BAI Jing, PENG Yan-Kun*, WANG Wen-Xiu

(College of Engineering, China Agricultural University, National Research and Development Center for Agro-Processing Equipment, Beijing 100083, China)

ABSTRACT: Objective To explore a rapid and nondestructive method for the determination of seed vitality of maize seeds based on visible near infrared spectroscopy. Methods A laboratory visible near infrared spectroscopy system was built to collect reflectance spectra in the 450~900 nm of 60 M017 maize seeds with relative smooth surface and no damage, and the calibration set and validation set ratio of about 3:1. Then the red ink staining method was used to determine whether the maize seeds samples were with vitality. The noise of curve was decreased by the Savitzky-Golay (SG) pretreatment method and the main criterion constituents were extracted based on principal component analysis method (PCA). Finally the discriminant model was established for spectral curve of seeds with different vitality based on support vector machine (SVM). Results When the cumulative contribution rate reached 96%, 6 principal components were selected, and the highest discriminant accuracy of the model was set up. The near infrared diffuse reflection spectrum data could discriminate seed vitality, and the discriminant accuracy of calibration set and validation set were

基金项目: 北京市科技计划项目(Z151100001015004)

Fund: Supported by Beijing Municipal Science and Technology Project (Z151100001015004)

^{*}通讯作者:彭彦昆,教授,博士生导师,主要从事农畜产品品质安全无损检测技术与装备方面的研究。E-mail: ypeng@cau.edu.cn

^{*}Corresponding author: PENG Yan-Kun, Professor, Ph.D., Supervisor, National Research and Development Center for Agro-Processing Equipment, College of Engineering, China Agricultural University, No.17, Tsinghua East Road, Haidian District, Beijing 100083, China. E-mail: ypeng@cau.edu.cn

95.56% and 88.67%, respectively. **Conclusion** The method is high reliability, and can satisfy the requirements of the germplasm resources and nondestructive testing seeds vitality, which laid a solid foundation for rapid nondestructive testing of maize seed vitality in the future.

KEY WORDS: near infrared spectroscopy; maize; seed; vitality

1 引 言

玉米是我国三大粮食之一,种植面积和产量占有重要地位。玉米作为主要的粮食、工业原料、饲料等,在我国经济与生产生活中占有重要地位。而发展玉米生产,玉米种子的品质是非常重要的影响因素。因此,市场对玉米种子品质快速准确的检测方法的需求日益强烈。开展玉米种子品质的无损快速检测,将会更加促进玉米种植的发展门。种子生活力是指种子发芽的潜在能力或者胚具有的生命力,它反映的是种子的发芽率和种子休眠率的总和。快速测定休眠种子的生活力,可以在短期内了解种子的发芽能力,有利于正确评定种子品质。

目前检验种子有无生活力通常需要进行发芽试验,或者利用生物化学法、组织化学法、软 X 射线法以及荧光分析法进行测定^[2,3]。其中发芽试验所需测定时间较长,且当种子处于休眠状态、有抑制物质存在或试验条件不能完全满足要求时,该方法不能快速准确测定种子生活力。而且这些方法都需要破坏种子结构品质,不能满足农业生产对种子生活力检测快速、准确、简便、无损的要求,因此新兴技术被不断的应用到种子生活力检测中。

根据对象的不同可以将可见近红外光谱分为透射光谱和反射光谱。有机物质中的同一组分或不同组分的含氢基团在近红外区域内有相应的吸收光谱。比如蛋白质、纤维素、脂肪、淀粉等成分的含氢基团,都有特定的吸收光谱及其相应吸收特征,这些特征为近红外光谱技术作为一项间接检测的技术,在国外已经成为了一种分析农作物品质的重要手段^[5-10]。在国内也有很多研究利用可见近红外光谱技术测定种子的活力等特征。韩亮亮等^[11]和阴佳鸿等^[12] 应用近红外光谱技术对不同活力水平的蒸发种子进行了定性判别分析。但以上方法的实验对象是大批的种子且判定结果是一个批次种子的活力,无法实现单粒判别分析^[13]。朱丽伟等^[14]判定种子是否具有生活力利用的方法是发芽试验,但试验过程条件会影响种子生活力的准确判定。

本研究利用可见近红外光谱分析技术, 快速获取单粒玉米种子的光谱信息, 经过光谱预处理后, 与通过红墨水染色法测定的种子生活力结果进行建模标定, 为无损快速检测玉米种子生活力提供了新的方法。

2 材料与方法

2.1 样品选取

选取 60 粒 M017 玉米种子作为实验材料并分别进行编号,样品均取自于中国农业大学玉米中心。选取样品时应尽量保证样品种子表面平整、无霉变、无损伤,所选种子粒型有扁椭圆、长椭圆、圆形、椭圆形等,含水率为 $9\%\sim12\%$ 。将样品放置在 (24 ± 2) $^{\circ}$ 恒温环境下,并保持环境湿度恒定,用于后续的光谱采集以及种子生活力的测定。

2.2 主要仪器

USB4000-UV-VIS 光纤光谱仪(美国 Oceans Optics 公司)。

2.3 试验方法

2.3.1 样品光谱采集

室温下,利用实验室自行搭建的光谱采集系统采集样品表面的漫反射光谱信息,系统包括光纤光谱仪、线光源、光纤、支架等。测量之前需要先将光谱仪打开预热至少 30 min,以便保证光谱仪能够运行稳定。然后对装置的检测参数如光谱积分时间、像素平滑窗口宽度,扫描次数进行调整设置。光谱仪积分时间的长短取决于采用的光源强度^[15],此时为保证光谱仪工作稳定性和较高的灵敏度,且为了满足标准白板反射强度为光谱仪最大检测限的 80%左右,该仪器积分时间选择为 5 ms,像素平滑窗口宽度设置为 1,平均次数为 3 次。

为了防止室内其他光线影响,采集种子光谱数据在暗箱中进行。本装置采用光纤探头检测种子表面信息,光源通过光纤发射至种子表面,同时将表面光谱信息反射回装置。采集时先将装置探头放置在标准校正白板,采集白参考,放置在标准黑板,采集黑参考。对在 25 ℃室温下静置 30 min 后的种子样本进行光谱数据采集,其中将探头放置在种子表面,尽量选择表面平整的部位,在全光谱范围(350~1100 nm)内采集数据点,分别采集每个样本表面 3 个不同部位的光谱信息,计算其平均值作为该样品的原始光谱曲线数据。

2.3.2 样品生活力测定

采集完光谱信息的种子样本立即用红墨水染色法测定其有无生活力作为理化值。因植物生活细胞与死亡细胞的原生质膜对正常生活不需要的物质的吸收能力不同,前者对其不吸收或吸收较少、后者对其无选择能力、染料可

进入细胞内使胚部染上颜色,所以可根据种子胚部染色与 否判断种子的生活力^[3]。判定过程具体步骤如下:

- (1) 浸种:将玉米种子用水浸泡 3~5 h(温度为(28~30)℃),使种子充分吸水膨胀。
- (2)切取种子: 用刀片沿玉米种子种胚中线切成两半, 共切具有代表性的种子 60 粒, 同时做一个重复。切开种 子时需保证至少有一半的种子中胚乳露在表面, 以保证 试验进行。
- (3)染色: 配制红墨水溶液浓度为 5%, 即在 1 份红墨水中加入 19 份的自来水, 混匀后将溶液倒入培养皿中。之后分别将每粒玉米种子摊入培养皿中, 溶剂量需浸没种子表面。
- (4)冲洗种子: 染色 5~10 min 后, 将溶液与种子分离, 用蒸馏水多次冲洗种子, 直至冲洗后溶液呈现无色。
- (5)鉴定: 若种子的胚部不着色或仅略带浅红色, 即种子具有生活力。若种子胚部为红色而且与胚乳着色的程度相同, 即种子已丧失生活力。

2.3.3 数据分析方法

(1)数据预处理

本研究利用 Matlab2013a(The Mathworks Inc.)软件对采集到的光谱数据进行处理分析。在原始光谱曲线中,很多噪声混杂在光谱数据中,故需要对数据进行预处理分析。为消除种子表面不平整、纹理不均、基线漂移等噪声对光谱数据的影响,选择 S-G 平滑预处理方式,以便能提高光谱信噪比有效去除随机噪声,且不会将有效信息平滑掉^[16]。

本研究选取种子样品表面光谱的反射率作为光谱信息的研究参数。反射率的计算公式如式(1)所示。

$$R = \frac{I - I_b}{I_a - I_b} \tag{1}$$

式中, R 为该检测样品光谱反射率; I 肉样为检测样品所反射的光谱强度; I_a 为标准较正白板反射的光谱强度; I_b 为标准黑板反射的光谱强度[17]。

(2)主成分分析

主成分分析(principal components analysis, PCA)在保证损失较少信息的前提下,利用降维来将多个判别指标转化为几个综合指标。在可见近红外光谱分析中,影响光谱曲线形成的因素有很多,如样品的状态、样品的组分、组分之间的相互作用、光谱仪的影响和环境因素的影响等。因此,得到的光谱数据是各个因素共同作用下形成的^[18]。其线性变化如式(2)所示。

 $PC_m = a_m' X = a_{1m} X_1 + a_{2m} X_2 + ... + a_{pm} X_p$ (2) 式中, $X = (X_1, X_2, ..., X_p)'$ 是 p 维随机向量, $a_m = (a_{1m}, a_{2m}, ..., a_{pm})$ 是第 m 个主成分的 p 维相关系数, PC_1 来代表原来 p 个变量 $X_1, X_2, ..., X_p, PC_I$ 尽可能多的代表原变量信息,若第一主成分不能代表原变量的绝大部分信息,则引入第二主成分 PC_2 ,依次类推。而主成分个数 m 要依据各个主成分

累计方差贡献率 A 来选定, 如式(3)所示。

$$A\frac{\sum_{k=1}^{m}\delta_{k}}{\sum_{i=1}^{p}\delta_{i}}$$
 (3)

式中 δ 为各个主成分对应的特征值, k 为选定的主成分数; i 为全部主成分数^[18]。当各个主成分累计方差贡献率达到 85%以上,即表明该主成分能准确反应光谱数据信息。

(3)支持向量机

支持向量机(support vector machine, SVM)主要是在非线性可分样本经过变换映射到的另一个高维空间中寻找一个超平面使得所有样本点到超平面的距离最小。在 SVM 方法中,选取合适的核函数是准确与否的重要部分^[20]。目前应用较多的核函数形式有几种: 线性核函数、多项式核函数、高斯径向基核函数、S 型核函数等,表达式分别为:

$$K(x, x_i) = x \times x_i \tag{4}$$

$$K(x, x_i) = (x \times x_i + 1)d \tag{5}$$

$$K(x, x_i) = exp[-\frac{\|x - x_i\|^2}{\sigma^2}]$$
 (6)

$$K(x, x_i) = tanh[\gamma(x \times x_i) + c]$$
 (7)

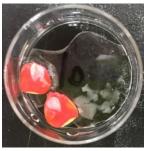
式中, γ , c、d 为待定参数^[19]。

本研究利用 Matlab 软件对样本光谱数据提取主成分分析后,进行归一化处理,再对参数优化,依据均方差最小原则返回需要的参数,从而确定所选用的核函数的选取类型和支持向量类型,使模型达到最优。

3 结果与分析

3.1 样品生活力测定结果

根据种子本身特性,若玉米种子有生活力,胚部为淡粉色,如图 1(a);若无生活力,则胚部与其他部位颜色一样,如图 1(b)。样本中有无生活力种子的分布如表 1 所示。其中校正集 45 粒种子种有 34 粒为有生活力的种子,所占比例为 0.76;而验证集 15 粒种子中有 10 粒为有生活力的种子,所占比例为 0.67。由此得出两类集合有生活力的种子分布比较均匀。





(a) Seeds with vital



(b) 无生活力种子 (b) Seeds without vitality

图 1 种子生活力有无判定结果

Fig. 1 The results of discriminating seeds with vitality or without vitality

表 1 校正集和验证集样品中的有无生活力种子分布结果 Table 1 Distribution of maize with vitality or debility in calibration and validation set

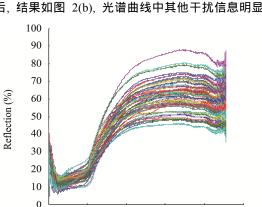
	总数	有活力粒数	无活力粒数	有活力数比例
校正集	45	34	11	0.76
验证集	15	10	5	0.67

3.2 光谱预处理结果

350

500

经过分析可得, 选取 5 点平滑 SG 预处理方法能够有 效地对光谱数据进行平滑高频噪音,提高信噪比。利用光 谱仪采集得到原始光谱如图 2(a), 可知样品反射光谱曲线 趋势相同,具备明显类别特征信息。因为光谱两端噪声较 大, 故截取中间 450~900 nm 波段光谱为原始处理数据。 经 预处理后, 结果如图 2(b), 光谱曲线中其他干扰信息明显



(a) 原始光谱图

Wavelength (nm)

800

950

1100

650

(a) Original spectrogram

减少。

3.3 判别分析结果

本研究采用支持向量机(SVM)方法对校正集和验证 集两组数据分别建模分析。光谱数据经过 SG-5 点平滑预 处理分析后、去除外界因素对光谱数据的影响。然后为提 取影响种子生活力的主要因素, 对其进行 PCA 分析, 按 照前文中介绍, 其中当累计贡献率达到 96%, 6 个主成分 被选出且能很好地反应光谱信息。然后利用 SVM 判别器 根绝理化分类对校正集分类并进行判别, 结果如图 3(a) 表示。图中参照理化指标将校正集分为有生活力种子和无 生活力种子, 其中判断正确的用"*"表示, 判断错误的由 红色圆圈圈画。由图可见, 校正集中 45 个样品中 43 个分 类正确, 判别正确率为 95.56%。表明模型建立真实可靠, 符合预期估计。

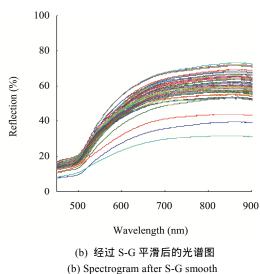


图 2 光谱原始数据及预处理结果

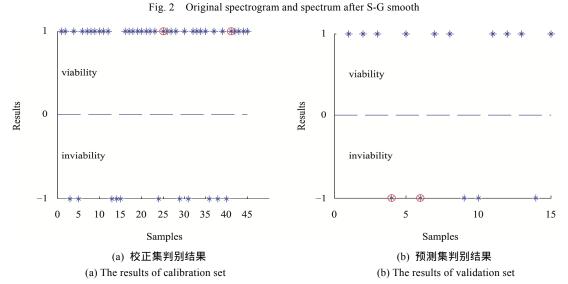


图 3 判定结果 Fig. 3 The results of discriminating

将上文建立模型带入对 15 个验证集样本数据进行判断,结果如图 3(b)所示。各图标表示方法同图 3(a),由图,将 2 个无生活力的样本误分入有生活力类中,对玉米种子是否具有生活力的判断正确率为 86.67%,且其中有生活力的种子判断正确率为 100%,判断失误主要集中在将无生活力种子判断为有生活力种子,可以由此进一步判断来提高准确率。

3.4 讨论

由判别结果可知,本研究利用玉米种子表面可见近 红外反射光谱数据判定单粒种子生活力的有无基本可行, 但在判定过程中有一些问题需要注意。

如测量过程中种子表面并不平整,对光谱的测量有一定影响。但此为不可避免误差,因此对种子表面测量 3次光谱反射值取平均,以便尽可能消除此影响。且采集光谱时,需尽量保证光纤探头不动,且尽量挑选玉米种子表面较为平整的进行试验,保证光谱采集的准确性。

在利用红墨水染色方法测定种子生活力的有无时,种子浸泡时间需保证较长一些,以保证种子充分吸水膨胀,较易被切割成两半,使胚能够浸在红墨水染色液里,较为准确地测定种子是否有生活力。其中胚是否完全浸在溶剂里是能否准确测定种子生活力的关键因素。

由于可见近红外光谱的分析基础是数学基础,为提高可见近红外光谱分析的准确度与精确度,本研究在建立 玉米种子有活力与光谱信息数据建立模型时,对光谱数据 进行了预处理消除了一些噪声,对光谱区范围进行了适当 合理的选择,且通过主成分分析方法对建模样品影响变量 进行了挑选。后续可扩大样本集数量,在原有分类中添加包括其他信息的样品,来保证并提高测定的准确性^[21,22]。

4 结 论

本研究应用可见近红外光谱技术测定玉米种子的信息,应用红墨水染色法判断种子是否有生活力,对得到的光谱数据分别作了 SG 平滑预处理,然后根据理化判定进行了分析,运用判别分析方法对数据建立了定性模型,并进行了预测验证。结果表明运用可见近红外光谱技术检测玉米生活力是可行的。

近红外光谱法测定玉米种子有无生活力的形状,不需对样品本身进行损坏,分析速度快,结果较准确,可对玉米种子单粒进行判别分析,因此利用可见近红外光谱分析技术测定单粒玉米种子有无生活力是可行的。

参考文献

- [1] 石德权,郭庆法,汪黎明,等. 我国玉米品质现状、问题及发展优质食用玉米对策[J]. 玉米科学,2001,(9):3-7.
 - Shi DQ, Guo QF, Wang LM, et al. The situation of maize quality and development priority of high quality food maize in China [J]. Maize Sci,

- 2001, (9): 3-7.
- [2] 王丽红. 几种常用检测玉米种子生活力的方法比较[J]. 种子科技, 2012, 30(1): 39-40
 - Wang LH. Several kinds of commonly used detection method of maize seed vigor [J]. Seed Sci Technol, 2012, 30(1): 39–40.
- [3] 马爱玲, 王新明, 孙德江, 等. 种子生活力的快速测定法[J]. 中国种业, 2002, 5: 24.
 - Ma AL, Wang XM, Sun DJ, et al. The rapid determination method of seed vigor [J]. China Seeds, 2002, 5: 24.
- [4] 陆婉珍,袁洪福,徐广通,等.现代近红外光谱分析技术[M].北京:中国石化出版社,2000.
 - Lu WZ, Yuan HF, Xu GT, et al. Near infrared spectroscopy analysis technology [M]. Beijing: China Petrochemical Press, 2000.
- [5] Villareal CP, Dela Cruz NM, Juliano BO. Rice amylase analysis by near-infrared transmittance spectroscopy [J]. Cereal Chem, 1994, 71: 292–296.
- [6] Delwiche SR, Bean MM, Miller RE, et al. Apparent amylase content of milled rice by near-infrared reflectance spectroscopy [J]. Cereal Chem, 1995, 72: 182–187.
- [7] Delwiche SR, Hruschka WR. Protein content of bulk wheat from near-infrared reflectance of individual kernels [J]. Cereal Chem, 2000, 77: 86-80
- [8] Kim HO, Williams PC. Determination of starch and energy in feed grains by near-infrared reflectance spectroscopy [J]. J Agric Food Chem, 1990, 38: 682-688
- [9] Orman BA, Schumann JRA. Comparison of near-infrared reflectance spectroscopy [J]. J Agric Food Chem, 1991, 39: 883–888.
- [10] Campbell MR, Brumm TJ, Glover DV. Whole grain amylase analysis in maize using near-infrared transmittance spectroscopy [J]. Cereal Chem, 1997, 74: 300–303.
- [11] 韩亮亮,毛培胜,王新国,等. 近红外光谱技术在燕麦种子活力测定中的应用研究[J]. 红外与毫米波学报, 2008, 27(2): 86-90.

 Han LL, Mao PS, Wang XG, et al. Study on vigour test of oat seeds with Near Infrared reflection spectroscopy [J]. J Infrared Millimeter Waves, 2008, 27(2): 86-90.
- [12] 阴佳鸿, 毛培胜, 黄莺, 等. 不同含水量劣变燕麦种子活力的近红外光谱分析[J]. 红外, 2010, 31(7): 39–44.

 Yin JH, Mao PS, Huang Y, *et al.* Analysis of vigour level of deteriorated oat seeds containing different moisture with near infrared spectroscopy [J]. Infrared, 2010, 31(7): 39–44.
- [13] 郭婷婷,徐丽,刘金,等. 玉米亚正常籽粒生活力近红外光谱判别方法 研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2013, 33(6): 1501–1505.

 Guo TT, Xu L, Liu J, et al. Study on discrimination method of mazie seed viability based on near-infrared spectroscopy [J]. Spectrosc Spectr Anal, 2013, 33(6): 1501–1505.
- [14] 朱丽伟,黄艳艳,杨丽明,等. 用近红外光谱法快速无损检测苦豆子和 决明子单粒种子生活力的研究[J]. 红外, 2011, 32(4): 35–39. Zhu LW, Huang YY, Yang LM, *et al.* Rapid and nondestructive identification of single seed viability of sophora alopecuroide and cassia tora L using near infrared spectroscopy [J]. Infrared, 2011, 32(4): 35–39.
- [15] 孙宏伟, 彭彦昆, 林琬. 便携式生鲜猪肉多品质参数同时检测装置研发[J]. 农业工程学报, 2015, 31(20): 268-273...
 Sun HW, Peng YK, Lin W. Development of a portable device for

simultaneous detection on multi-quality attributes of fresh pork [J]. Transact CSAE, 2015, 31(20): 268–273.

[16] 张雷蕾, 李永玉, 彭彦昆, 等. 基于高光谱成像技术的猪肉新鲜度评价 [J]. 农业工程学报, 2012, 28(7): 254-259.

Zhang LL, Li YY, Peng YK, *et al.* Determination of pork freshness attributes by hyperspectral imaging technique [J]. Transact CSAE, 2012, 28(7): 254-259.

[17] 赵杰文, 孙永海. 现代食品检测技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2008.

Zhao JW, Sun YH. Beijing, Modern food testing techniques [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2008.

[18] 彭彦昆. 农畜产品品质安全光学无损快速检测技术[M]. 北京: 科学出版社, 2016.

Peng YK. Nondestructive optical technology for agro-food quality and safety assessment [M]. Beijing: Science Press, 2016.

[19] 公丽艳, 孟宪军, 刘乃侨, 等. 基于主成分与聚类分析的苹果加工品质评价[J]. 农业工程学报, 2014, 30(13): 276-285.

Gong LY, Meng XJ, Liu NQ, *et al.* Evaluation of apple quality based on principal component and hierarchical cluster analysis [J]. Transact CS AE, 2014, 30(13): 276–285.

[20] 张海云,彭彦昆,王伟,等.基于光谱技术和支持向量机的生鲜猪肉水分含量快速无损检测[J]. 光谱学与光谱分析, 2012, 32(10): 2974—2978.

Zhang HY, Peng YK, Wang W, et al. Rapid nondestructive detection of water content in fresh pork based on spectroscopy technique combined with support vector machine [J]. Spectrosc Spectr Anal, 2012, 32(10):

2974-2978.

[21] 白琪林, 陈绍江, 严衍禄, 等. 近红外漫反射光谱法测定青贮玉米品质性状的研究[J]. 中国农业科学, 2006,39(7): 1346-1351.

Bai QL, Chen SJ, Yan YL, *et al.* Prediction of ensiled maize quality traits with near infrared diffuse reflectance spectroscopy [J]. Sci Agric Sin, 2006.39(7): 1346-1351.

[22] 严衍禄. 近红外光谱分析基础与应用[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005, 190-260.

Yan YL. Near infrared spectrum analysis and application [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2005, 190–260.

(责任编辑: 白洪健)

作者简介



白 京,硕士研究生,主要研究方向 为农畜产品品质安全无损检测技术。

E-mail: bj@cau.edu.cn



彭彦昆, 教授, 博士生导师, 主要研究方 向为农畜产品品质安全无损检测技术与装备。

E-mail: ypeng@cau.edu.cn