

基于 ATR 的玉米种子活力太赫兹特征波段筛选方法

吴静珠^{1*} 李晓琪¹ 刘翠玲¹ 孙晓荣¹ 余乐¹ 孙丽娟²

(1. 北京工商大学食品安全大数据技术北京市重点实验室, 北京, 100048;

2. 中国农业科学院作物科学研究所, 北京, 100081)

摘要: 应用太赫兹时域光谱技术结合移动窗口相关系数法筛选与种子老化密切相关的太赫兹特征波段。选取 3 个不同品种的玉米种子并制备人工老化 0、1、2、3、4d 的实验样本, 采用衰减全反射(Attenuated total reflection, ATR)附件采集从样本分离得到的种胚和胚乳粉末的太赫兹吸光度谱 ($0.2-80\text{cm}^{-1}$), 应用移动窗口相关系数法(窗口宽度为 10, 阈值为 0.3)筛选样本种胚和胚乳特征谱区可得: 不同品种样本筛选得到老化特征谱区差异显著, 表明种子老化进程受品种影响较大; 但是在相同的老化阶段不同品种样本的特征谱区也存在部分共同区间且主要集中在 $60-80\text{cm}^{-1}$, 表明老化进程中有些成分的变化是相近的; 种胚和胚乳在相同老化阶段筛选的特征谱区不同, 表明两者在老化进程中生理变化存在差异。实验结果表明太赫兹时域光谱结合化学计量学方法可用于快速表征并探测玉米种子老化过程的动态变化。
关键词: 种子活力; 太赫兹时域光谱; 特征波段; 衰减全反射; 移动窗口相关系数法

中图分类号: S24

文献标识码: A

Screening Method of Characteristic THz region to Corn

Seed Vigor Based on ATR

WU Jingzhu^{1*} LI Xiaoqi¹ LIU Cuiling¹ SUN Xiaorong¹ YU Le¹ SUN Lijuan²

(1. Beijing Key Laboratory of Big Data Technology for Food Safety, Beijing Technology and Business University, 100048, Beijing

2. Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing 100081, China)

Abstract: Characteristic Terahertz (THz) region closely related to corn seed aging were screened using THz time domain spectroscopy technique and moving window correlation coefficient method. There were 3 different varieties of corn seeds selected and processed by artificial aging for 0, 1, 2, 3, 4 days. The embryos and endosperms of corn seeds samples were isolated and pulverized. THz absorbance spectra ($0.2-80\text{cm}^{-1}$) of the powder samples were collected by THz time domain system and ATR accessory. The moving window correlation coefficient method was applied to screen the characteristic spectral regions which were sensitive to seed aging. After comparing the parameters of the moving window correlation coefficient, the window width was determined to 10 and threshold value was 0.3. According to the result, the selected characteristic spectral regions showed significant differences among different varieties of samples, which indicated that the seed aging process was greatly affected by the variety. However, there were minor common regions in the same aging stage which were mainly concentrated in $60-80\text{cm}^{-1}$. It showed that the similar components changed at the same time. Due to the selected characteristic

收稿日期: 2019-11-11 修回日期: 2020-01-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(61807001)、国家留学基金委访学项目(2019)和北京工商大学 2019 年基本科研业务费(PXM2019_014213_000007)

作者简介: 吴静珠(1979-), 女, 副教授, 博士, 主要从事基于分子光谱及光谱成像技术的农产品品质检测研究, E-mail: pubwu@163.com

spectra of endosperm and embryo at the same aging stage were different, it showed that endosperm and embryo had different physiological changes during seed aging process. The experiment result indicated that THz time domain spectroscopy combined with chemometric method can be used to characterize and detect the dynamic changes of corn seed aging rapidly and macroscopically.

Key words: seed vigor; terahertz time domain spectroscopy; characteristic region; attenuated total reflection; moving window correlation coefficient method

0 引言

玉米是目前我国第一大粮食作物。高活力种子具有显著的生长优势^[1-2], 因此玉米种子活力研究直接影响我国玉米种子品质安全、玉米播种方式以及产量等。

种子活力变化与老化裂变过程密切相关, 随着老化程度加剧, 种子活力便开始下降且不可逆转。李春雷^[3]等测定了人工加速老化后“郑单 958”和“先玉 335”两个品种的玉米种子活力指标、种子内物质含量及生理指标, 实验结果表明, 随着老化程度的加深, 种子发芽率、发芽指数、活力指数逐渐降低, 过氧化物酶、过氧化氢酶、脱氢酶的活力逐渐降低, 电导率、丙二醛含量逐渐升高, 粗脂肪、可溶性蛋白含量先升高后降低, 有机酸含量总体呈升高的趋势, 脯氨酸含量呈现上升的趋势。张海燕等^[4]研究人工老化对科糯 2000 和莱农糯 6 号玉米种子发芽指标和生理特性的影响, 结果表明, 随老化时间的延长, 种子发芽势、发芽率、发芽指数、活力指数和脱氢酶活性逐渐降低, 丙二醛含量和相对电导率逐渐升高。

上述研究采用化学分析方法精确测定了种子老化过程中某些阶段、某些理化指标的变化且取得了一些共性的结论, 但是种子老化是极为复杂的综合、连续、动态变化过程, 传统实验室分析方法大都存在单指标测定、耗时、操作繁杂、消耗化学试剂等弊端, 无法实时、便捷地反映种子老化及活力综合变化过程。太赫兹 (TeraHertz, THz) 时域光谱技术^[5-10]以其低能级、穿透性和独特的波谱性可以快速、安全、宏观地表征种子生物样本信息, 因此迅速成为近年来种子品质检测领域的研究热点, 如作物种子转基因识别^[11-14]、谷物储存品质鉴别^[15-18]等。因此本文提出采用太赫兹时域光谱技术结合化学计量学方法, 筛选玉米种子老化不同阶段的太赫兹特征谱区, 拟通过老化阶段特征谱区来探索种子老化过程中动态变化过程。

1 材料与方法

1.1 实验材料

为统计不同品种的玉米种子在老化过程中是否有共性的变化规律, 选取中地 77、中地 168、强硕 68 共计 3 个品种的玉米种子进行实验。采用种子老化箱在高温 (40-50℃)、高湿 (相对湿度 100%) 条件下对样本进行 0、1、2、3、4d 人工加速老化处理, 如图 1 所示。按照国家标准 (GB/T 3543.4-1995) 采用种子发芽箱进行发芽实验, 如图 2 所示。



图 1 人工老化实验

Fig.1 Artificial aging experiment



图 2 玉米种子发芽实验

Fig.2 Corn seed germination experiment

共计 15 组样本, 每组进行 4 次重复发芽实验, 取平均值作为最终发芽率, 如表 1 所示。

表 1 种子发芽率统计信息
Tab.1 Corn seed germination rate %

| 玉米品种 | 老化天数/d | | | | |
|--------|--------|-------|-------|-------|------|
| | 0d | 1d | 2d | 3d | 4d |
| 中地 77 | 88.00 | 85.50 | 34.50 | 21.50 | 3.00 |
| 中地 168 | 94.50 | 70.00 | 46.00 | 10.50 | 0 |
| 强硕 68 | 89.00 | 84.00 | 53.00 | 10.50 | 1.50 |

由于玉米种胚及胚乳化学成分和含量存在明显差异,为观察玉米种子不同组织在老化过程中的活动变化,本实验对老化后的种胚及胚乳进行分离,并加以研磨成粉,制为样本备用。

1.2 ATR-THz 光谱采集

实验采用 TeraPulse 4000 型太赫兹时域光谱系统及衰减全反射^[19-22] (ATR) 附件采集种胚和胚乳粉末样本太赫兹吸光度谱。ATR 模块入射角为 35° , 光谱范围设定为 $0.2\text{-}80\text{cm}^{-1}$, 光谱分辨率为 0.94cm^{-1} , 采样点数为 338, 单个样本扫描 900 次取平均光谱。光谱采集过程中实验环境温度保持在 22°C 左右, 同时采用空压机吹扫系统以减少环境水分的干扰。

以中地 77 玉米种子样本为例采集得到不同老化阶段种胚、胚乳的 ATR 吸收光谱如图 3 所示。从图中可以直观观测到光谱曲线轮廓相近,但是不同老化阶段的曲线又存在细微差异。

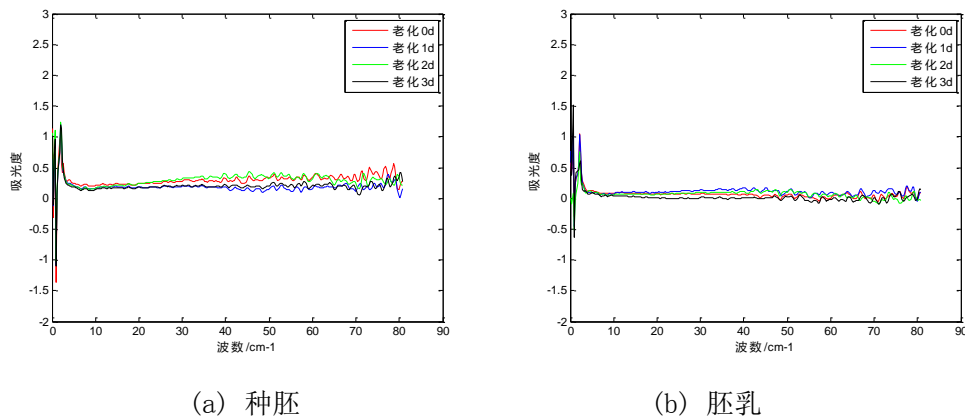


图 3 中地 77 玉米种子不同老化阶段 ATR 光谱图

Fig. 3 ATR spectra of Zhongdi 77 corn seeds at different aging stages

1.3 移动窗口相关系数法

移动窗口相关系数法^[22-25]是一种用于计算光谱间相似度的方法。对于要进行相似度比较的2条光谱,在每一个移动子窗口计算出相关系数,把相关系数与对应窗口的起始位置作图,可得到移动相关系数图。若2条光谱在某一区间存在差异,则该区间的移动相关系数将明显下降;反之若完全相似,则整个光谱范围的移动相关系数值都为1。基于时间序列的相关系数图就可以跟踪反映光谱信息随时间微扰的变动。本文重点探索应用移动窗口相关系数法研究老化0-1d、1-2d、2-3d过程中光谱数据的变化,通过基于时间序列的相关系数图筛选与老化相关的敏感谱区,统计谱图变化规律即可以初步探索种子老化过程中活力动态变化。

2 结果分析

采用移动窗口相关系数法计算相邻老化阶段(0-1d、1-2d、2-3d)相关系数。若移动窗口相关系数图中相关系数偏低,则表明该相关系数对应的 THz 谱区窗口受老化时间扰动影响较大,筛选得到的光谱区间则是反映种子老化过程动态变化的特征谱区。

2.1 基于时间序列的玉米种胚相关系数谱图解析

窗口宽度是移动窗口相关系数法中的重要参数。窗口宽度过小则相关系数个数过多,可能出现多个由光谱噪声干扰导致的“伪”特征波段;窗口过大则导致滑动过快,易丢失特征波段信息。经过实验比较,设定窗口宽度为 10。以中地 77 玉米种子为例,人工老化 0-1d 的种胚 ATR 吸收谱的移动窗口相关系数如图 4 所示。实验设定相关系数阈值为 0.3,则相关系数小于 0.3 对应的谱区窗口即为受老化时间扰动较大的特征光谱区间。

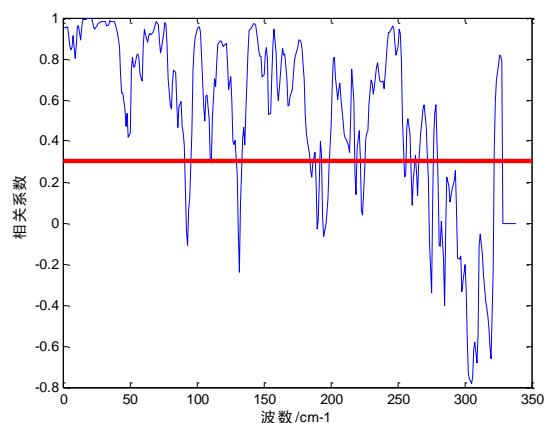


图 4 中地 77 玉米种子种胚老化 0-1d 移动窗口相关系数图

Fig. 4 Moving window Correlation coefficient diagram of zhongdi77 corn seeds embryo between aging 0 day and 1 day

将所有符合上述条件的特征波段用颜色进行标识,就可以得到与老化过程密切相关的特征波段在整个光谱区间的分布示意图。图 5 表示的就是 3 个品种玉米种子样本种胚在 0-1d、1-2d、2-3d 老化过程中的特征波段分布。

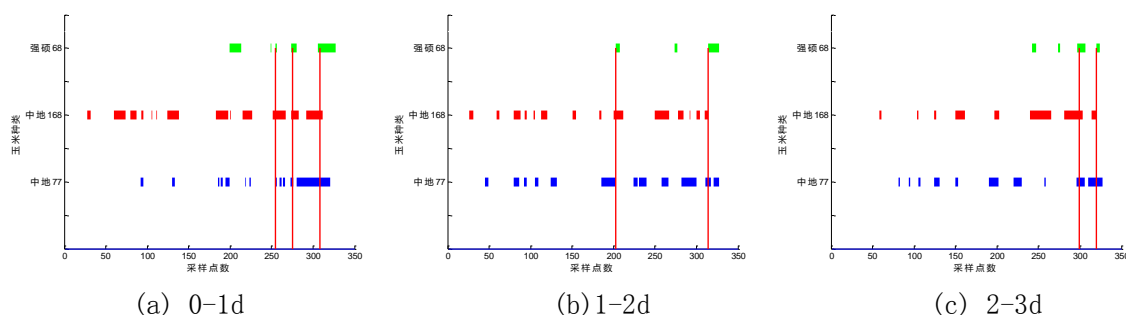


图 5 3 类玉米种子不同老化阶段种胚特征波段示意图

Fig. 5 Characteristic bands diagram of three kinds of corn seeds embryos at different aging stages

从不同品种相同老化阶段特征波段分布分析可得,不同品种的玉米特征波段分布显著不同,如强硕 68 与中地 77、中地 168 的特征波段分布迥然不同,这可能由于玉米品种不同导致的。本实验中强硕 68 相较于后 2 个品种的玉米,淀粉含量较高。

从图 5 中也可以观察到不同品种的玉米在同一老化阶段存在部分共同特征谱区,如图中红色竖线所标注区域:0-1d 老化共同谱区为 $61.1-63.5\text{cm}^{-1}$ (采样坐标点数为 255-256)、 $65.7-68.3\text{cm}^{-1}$ (274-276)、 $73.4-76.9\text{cm}^{-1}$ (306-312); 1-2d 老化共同谱区为 $48.7-50.8\text{cm}^{-1}$ (203)、 $75.3-77.5\text{cm}^{-1}$ (314); 2-3d 老化共同谱区为 $71.2-74.8\text{cm}^{-1}$ (297-303)、 $76.7-78.9\text{cm}^{-1}$ (320)。不同品种的玉米在 3 个不同老化阶段均存在共同谱区,主要集中在 $60-80\text{cm}^{-1}$ 范围,实验表明尽管样本品种不同,但是在相同的老化阶段均存在某些相近的官能团或物质成分产生了共性变化。但是共同谱区所对应的种子老化或是活力变化机理还有待解析。

2.2 基于时间序列的玉米胚乳相关系数谱图解析

胚乳特征谱段筛选和种胚分析类似，设置窗口宽度为 10，阈值为 0.3。以中地 77 玉米种子为例，人工老化 0-1d 的胚乳 ATR 吸收谱的移动窗口相关系数如图 6 所示。

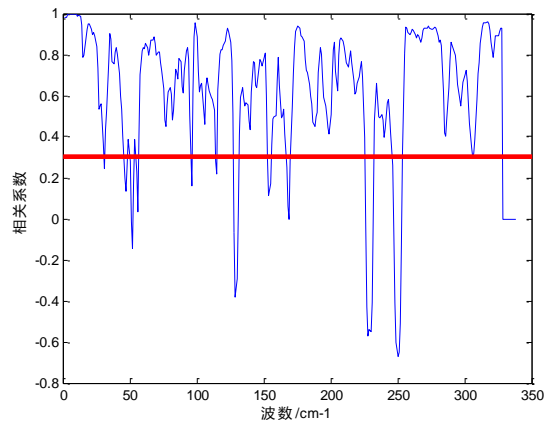


图 6 中地 77 玉米种子胚乳老化 0-1d 移动窗口相关系数图

Fig. 6 Moving window correlation coefficient diagram of the of zhongdi77 corn seeds endosperm between aging 0 day and 1 day

3 个品种的玉米样本在不同老化阶段之间的移动窗口系数特征波段可视化示意图如图 7 所示。

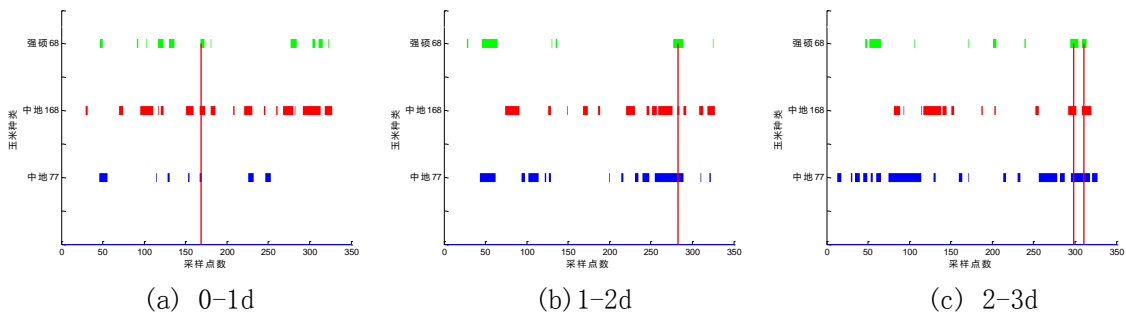


图 7 3 类玉米种子老化阶段胚乳特征波段示意图

Fig. 7 Characteristic band diagram of three kinds of corn seeds embryos at different aging stages

与上述玉米种胚分析结果类似，不同品种的玉米筛选得到的胚乳特征波段存在明显差异，但是不同品种的玉米在同一个老化阶段也存在共同的特征谱区，如图 7 中红色竖线所标注区域：0-1d 老化共同谱区为 $40.3-42.9\text{cm}^{-1}$ (168-170)；1-2d 老化共同谱区为 $67.6-70.3\text{cm}^{-1}$ (282-284)；2-3d 老化共同谱区为 $70.7-74.6\text{cm}^{-1}$ (295-302)、 $73.9-77.5\text{cm}^{-1}$ (308-314)。分析同一品种玉米种子在 0-1d 和 1-2d 老化期间筛选得到胚乳和种胚特征谱区可得，共同区间较少，差异谱区较多，表明种胚和胚乳老化过程中的变化是不同的，可能是由于种胚和胚乳所含成分差异较为显著，导致老化过程中发生的生理生态变化也有所不同，但是谱区对应的光谱信息如何映射种子老化或是活力变化还有待解析。

3 结束语

实验采集了 3 个不同品种的玉米种子在老化过程中的太赫兹衰减全反射光谱数据，利用移动窗口相关系数法搜索与种子在不同老化阶段的特征谱区。实验结果表明，太赫兹光谱技术结合移动窗口相关系数法对玉米种子老化过程变化的动态监测是可行的，可为玉米种子老化过程中的活力监测提供一种可行的方案，但是老化进程中筛选得到的特征 THz 光谱对应的官能团或是理化成分的解析还有待深入研究。

参考文献:

- [1] 李振华, 王建华, 种子活力与萌发的生理与分子机制研究进展[J]. 中国农业科学, 2015, 48(4):646-660.
LI Zhenhua, WANG Jianhua. Advances in research of physiological and molecular mechanism in seed vigor and germination[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2015, 48(4): 646-660. (in Chinese)
- [2] 余波, 杜尚广, 罗丽萍, 种子活力测定方法[J]. 中国科学: 生命科学, 2015, 45:709-713.
YU Bo, DU Shangguang, LUO Liping. Progress in determinations of seed vigor[J]. Scientia Sinica Vitae, 2015, 45: 709-713. (in Chinese)
- [3] 李春雷, 马世骏, 彭滨, 等. 人工老化对玉米种子活力指标、内含物质含量及生理指标的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2014, 36(5):505-509, 514.
LI Chunlei, MA Shijun, PENG Bin, et al. Effects of artificial aging on seed vigor indexes, embedded substance content and physiological indexes of maize[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2014, 36(5):505-509, 514. (in Chinese)
- [4] 张海燕. 糯玉米种子老化过程中种子活力和生理特性的变化[J]. 玉米科学, 2015, 23(1):92-96+102.
ZHANG Haiyan. Change of physiological characteristics and seed vigor of waxy corn during ageing course[J]. Journal of Maize Sciences, 2015, 23(1):92-96+102. (in Chinese)
- [5] PEIPONEN K E, ZEITLER J A, KUWATA-GONOKAMI M. Terahertz spectroscopy and imaging[M]. Springer Berlin Heidelberg, 2012.
- [6] QIN J, YING Y, XIE L. The detection of agricultural products and food using Terahertz spectroscopy: a review[J]. Applied Spectroscopy Reviews, 2013, 48(6):439-457.
- [7] 罗娜, 王冬, 王世芳, 等. 太赫兹技术在农产品品质检测中的研究进展[J]. 光谱学与光谱分析, 2019, 39(2):349-356.
LUO Na, WANG Dong, WANG Shifang, et al. Progress in Terahertz technique for quality inspection of agro-food products[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2019, 39(2):349-356. (in Chinese)
- [8] 谢丽娟, 徐文道, 应义斌, 等. 太赫兹波谱无损检测技术研究进展[J]. 农业机械学报, 2013, 44(7):246-255.
XIE Lijuan, Xu Wendao, YING Yibin, et al. Advancement and trend of Terahertz spectroscopy technique for non-destructive detection [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2013, 44(7):246-255.
http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?flag=1&file_no=20130743&journal_id=jcsam DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2013.07.043. (in Chinese)
- [9] 李斌, 龙园, 刘欢, 等. 太赫兹技术及其在农业领域的应用研究进展[J]. 农业工程学报, 2018, 34(2):1-9.
LI Bin, LONG Yuan, LIU Huan, et al. Research progress on Terahertz technology and its application in agriculture[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2018, 34(2):1-9. (in Chinese)
- [10] 李鹏鹏, 张元, 葛宏义, 廉飞宇. 太赫兹光谱技术在食品质量安全检测中的应用研究进展[J]. 食品工业科技, 2017, 38(03):372-375.
LI Peng-peng, ZHANG Yuan, GE Hong-yi, et al. Research advances in terahertz spectroscopy detection of harmful substances in food[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(03):372-375. (in Chinese)

- [11] LIU W , LIU C , HU X , et al. Application of terahertz spectroscopy imaging for discrimination of transgenic rice seeds with chemometrics[J]. Food Chemistry, 2016, 210:415-421.
- [12] 潘学文, 尹向东, 赵永红. 基于太赫兹光谱和 APSO-SVM 的转基因棉籽识别方法[J]. 电子测量与仪器学报, 2017, 31(3): 377-382.
- PAN Xuewen, YIN Xiangdong, ZHAO Yonghong. Distinguish of genetically modified cotton seed by using terahertz spectroscopy and APSO-SVM[J]. Journal of Electronic Measurement and Instrumentation, 2017, 31(3): 377-382. (in Chinese)
- [13] 涂闪, 张文涛, 熊显名, 等. 基于太赫兹时域光谱系统的转基因棉花种子主成分特性分析[J]. 光子学报, 2015, 44(4): 430001-0430001.
- TU Shan, ZHANG Wentao, XIONG Xianming, et al. Principal component analysis for transgenic cotton seeds based on Terahertz time domain spectroscopy system[J]. Acta Photonica Sinica, 2015, 44(4): 430001-0430001. (in Chinese)
- [14] LIAN F , XU D , FU M , et al. Identification of Transgenic ingredients in maize using Terahertz spectra[J]. IEEE Transactions on Terahertz Science and Technology, 2017: 1-7.
- [15] GE H , JIANG Y , XU Z , et al. Identification of wheat quality using THz spectrum[J]. Optics Express, 2014, 22(10): 12533-12544.
- [16] 杨少壮, 李灿, 李辰, 等. 不同贮存年限陈皮的太赫兹光谱和成像的差异分析[J]. 现代食品科技, 2019, 35(12): 258-266.
- YANG Shao-zhuang, LI Can, LI Chen, et al. The Differences in the dried tangerine peels stored for different years revealed by Terahertz spectroscopy and imaging[J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(12): 258-266. (in Chinese)
- [17] 杨东, 苑江浩, 常青, 等. 储粮品质太赫兹光谱检测技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(4): 823-829.
- YANG Dong , YUAN Jiang-Hao, CHANG Qing, et al. Application of terahertz spectroscopy technology in the quality detection stored grain[J]. Journal of Food Safety & Quality , 2019, 10(4): 823-829. (in Chinese)
- [18] 蒋玉英. 基 THz 成像方法的储粮质量安全检测研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2016.
- JIANG Yuying. Research on storage grain quality and safety detection using THz imaging [D]. Beijing: University of the Chinese Academy of Sciences, 2016.
- [19] SHIRAGA K , OGAWA Y , KONDO N , et al. Evaluation of the hydration state of saccharides using Terahertz time-domain attenuated total reflection spectroscopy[J]. Food Chemistry, 2013, 140(1-2): 315-320.
- [20] 刘翠玲, 邢瑞芯, 吴静珠, 等. 基于太赫兹衰减全反射技术的花生品种快速鉴别[J]. 农业机械学报, 2018, 49(3): 361-366.
- LIU Cuiling, XING Ruixin, WU Jingzhu, et al. Rapid discrimination of peanut varieties using Terahertz attenuated total reflection spectroscopy[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2018, 49(3): 361-366.
- http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?flag=1&file_no=20180345&journal_id=jcsam. DOI: 10.6041/j.issn.1000-1298.2018.03.045
- [21] 程丽, 马微, 刘祺, 等. 基于太赫兹衰减全反射光谱的甘氨酸溶液定量研究[J]. 食品与机械, 2019, 35(8): 69-72.
- CHENG Li, MA Wei, LIU Qi, et al. Quantitative analysis of glycine solutions by Terahertz attenuated total reflection (THz-ATR) spectra[J]. Food & Machinery, 2019, 35(8): 69-72. (in

Chinese)

- [22] 刘翠玲, 胡莹, 吴静珠, 等. 基于太赫兹衰减全反射技术的花生霉变程度判别[J]. 农业机械学报, 2019, 50(4): 333-338, 355.
- LIU Cuiling, HU Ying, WU Jingzhu, et al. Discrimination of peanut mildew degree based on Terahertz attenuated total reflection spectroscopy[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2019, 50(4): 333-338, 355.
- http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?flag=1&file_no=20190438&journal_id=jcsam. DOI: 10.6041/j.issn.1000-1298.2019.04.038
- [23] CHU X L, XU Y P, HAN S B, et al. Rapid identification and assay of crude oils based on moving-window correlation coefficient and near infrared spectral library[J]. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 2011, 107(1): 44-49.
- [24] 王泓鹏, 万雄. 基于植物油可见吸收光谱的相关系数鉴别特级初榨橄榄油[J]. 光谱学与光谱分析, 2018, 38(9): 2814-2819
- WANG Hongpeng, WAN Xiong. Distinguishing extra virgin olive oil based on the correlation coefficient of visible absorption spectrum of vegetable oil[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2018, 38(9): 2814-2819. (in Chinese)
- [25] 张正勇, 沙敏, 桂冬冬, 等. 基于移动窗口相关系数光谱法的白酒品牌快速判别技术研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2017, 37(10): 3122-3126.
- ZHANG Zhengyong, SHA Min, GUI Dongdong, et al. Research on the rapid discrimination technology of the Chinese liquor brands Based on the moving window correlation Coefficient spectral method[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2017, 37(10): 3122-3126. (in Chinese)