

采用 TDLAS 技术的玉米种子活力快速无损分级检测

贾良权¹, 祁亨年¹, 胡文军¹, 赵光武², 阚瑞峰^{3*}, 高璐¹, 郑雯², 许琴¹

¹湖州师范学院信息工程学院, 浙江 湖州 313000;

²浙江农林大学农业与食品科学学院, 浙江 杭州 311000;

³中国科学院长春光学精密机械与物理研究所应用光学国家重点实验室, 吉林 长春 130033

摘要 如何快速、无损地检测种子活力是目前种子研究领域的热点和难点。基于种子呼吸与种子活力的关系搭建了基于可调谐半导体激光吸收光谱(TDLAS)技术的种子活力快速无损检测系统,该系统主要由分布反馈式激光器及其控制电路、光电转换及放大电路、数据采集电路、上位机软件以及基于多次反射池结构的种子呼吸 CO₂ 浓度检测池构成。检测池的容积为 1.5 L,光程为 16 m,激光光源波段为 2004 nm。基于朗伯比尔定律,采用波长调制吸收光谱技术利用二次谐波反演出种子呼吸过程中产生的 CO₂ 浓度。根据种子呼吸 CO₂ 浓度的大小确定种子活力的强弱,并将其与发芽出苗实验获得的活力指数进行对比。实验结果表明:CO₂ 呼吸强度的变化量与种子活力等级指数的相关性在 0.9 以上,即基于 TDLAS 技术的种子活力快速无损检测系统能够精准、无损、高效地反映种子活力的强弱。这一研究为采用 TDLAS 技术进行种子活力无损检测分级提供了有益探索。

关键词 光谱学; 可调谐半导体激光吸收光谱; 无损检测; 种子活力; 呼吸强度; 二氧化碳

中图分类号 O433

文献标识码 A

doi: 10.3788/CJL201946.0911002

Rapid Nondestructive Grading Detection of Maize Seed Vigor Using TDLAS Technique

Jia Liangquan¹, Qi Hengnian¹, Hu Wenjun¹, Zhao Guangwu², Kan Ruifeng^{3*},
Gao Lu¹, Zheng Wen², Xu Qin¹

¹School of Information Engineering, Huzhou University, Huzhou, Zhejiang 313000, China;

²School of Agriculture and Food Science, Zhejiang A & F University, Hangzhou, Zhejiang 311300, China;

³State Key Laboratory of Applied Optics, Changchun Institute of Optics, Fine Mechanics and Physics,
Chinese Academy of Science, Changchun, Jilin 130033, China

Abstract Quick and nondestructive detection of seed vigor is a popular and difficult task in the seed research field. Based on the relationship between seed respiration and seed vigor, we proposed a rapid non-destructive testing system for seed vigor based on TDLAS technique. The proposed system comprises a distributed feedback laser and its control circuit, a photoelectric conversion and amplification circuit, a data acquisition circuit, an upper computer software, and a seed breathing carbon dioxide (CO₂) concentration detection pool based on a multi-reflection pool structure. The detection pool has a volume of 1.5 L, a light path of 16 m, and a laser source band of 2004 nm. Based on Lambert Beer's law, we use wavelength modulated absorption spectroscopy and second harmonic generation to invert the CO₂ concentration generated during seed respiration. Seed vigor is determined according to the concentration of CO₂ in seed respiration, and the vigor index obtained from the germination and seedling emergence experiment is compared and validated. The experimental results show that the correlation between the change of CO₂ respiratory intensity and seed vigor grade index is greater than 0.9, i. e., the rapid non-destructive testing system for seed vigor based on TDLAS technique can accurately, nondestructively, and efficiently reflect the seed vigor grade. This study provides useful exploration in non-destructive testing and grading of seed vigor using

收稿日期: 2019-04-12; 修回日期: 2019-04-29; 录用日期: 2019-05-13

基金项目: 国家自然科学基金(31701512, 61772198)、浙江省重点研发项目(2019C02013)、湖州市自然科学基金(2017YZ03, 2016YZ01)

* E-mail: rfkan@ciomp.ac.cn

TDLAS technique.

Key words spectroscopy; tunable diode laser absorption spectroscopy; nondestructive testing; seed vigor; respiratory intensity; carbon dioxide

OCIS codes 300.1030; 300.6260

1 引 言

种子的呼吸作用是种子储藏期间的重要生理活动,处于不同生理状态的种子,其呼吸强度与性质有很大差异。呼吸强度的大小反映了种子生命力的强弱^[1]。种子在有氧呼吸过程中会产生 CO₂ 气体,因此通过研究种子呼吸产生的 CO₂ 浓度的变化情况即可检测出种子活力^[2]。

目前,国内外存在诸多关于种子活力测定的方法。国际种子检验协会推荐的种子活力测定方法主要有幼苗生长测定法、抗冷测定法、加速老化试验法、电导率测定法和酶活性测定法等^[3]。这些传统的种子活力测定方法虽然可以准确而直观地预测种子活力,但却存在工作量大、测量周期长、可重复性差、受环境影响大、易对种子造成损伤等缺点^[4]。因此,如何快速、准确、特别是无损地对种子活力进行检测已成为种子科学的研究热点^[5]。李欢欢等^[6]采用光声光谱结合方法对水稻种子活力进行了检测,验证了光声光谱技术对水稻种子活力检测的可行性。宋乐等^[7]采用近红外光谱技术对水稻种子活力进行了检测,并有效地区分了种子的活力等级。余鼎等^[8]采用近红外光谱技术对水稻种子成分进行建模,所建模型的评价效果良好。可见,光声光谱法和近红外光谱技术都可以快速、无损地检测种子活力,应用前景广阔,但其建模难度大,对样品要求高,且计量分析对结果的影响较大。张婷婷等^[9]采用电子鼻技术快速、高效地鉴别出了小麦种子活力的高低。电子鼻技术操作简单,成本低廉,但传感器灵敏度等诸多因素会影响检测结果的准确性。吴小芬等^[10]采用高光谱技术在 874~1734 nm 波段对常规水稻种子的老化程度进行了研究,并有效地区分了老化和未老化种子。目前,采用高光谱法检测种子活力尚处于探索阶段,技术尚未成熟,且存在成本高昂等不利因素。综上所述,新兴的近红外光谱技术、电子鼻技术、高光谱成像等技术不断地被运用到种子活力的检测之中。与传统的种子活力检测方法相比,新兴技术有速度快、效率高、成本低、测试重现性好、测量方便等特点。整体上来说,近红外光谱技术、电子鼻技术、高光谱技术等无损检测技术发展较快,但技术尚未成熟,且检测价格相对较高。本文尝试采

用可调谐半导体激光吸收光谱(TDLAS)技术对种子呼吸 CO₂ 浓度进行检测,通过浓度反演实现种子活力的无损检测。

TDLAS 技术是近几年发展起来的一种痕量气体质量浓度检测技术,具有高灵敏度和高分辨率等优点。该技术目前已经能够达到 10⁻⁹ 级别甚至 10⁻¹² 级别的检测限^[11-13]。很多学者利用 TDLAS 技术检测 CO₂ 的浓度,如陆恒等^[14]利用 TDLAS 技术在 38.4 m 光程和 15.2 kPa 下同时对 CO₂ 和水汽进行了检测,获得了 10⁻⁵ 的 CO₂ 气体的检测极限。李萌等^[15]利用 10 m 光程对海洋平面 CO₂ 气体进行检测,获得了 26×10⁻⁶ 的检测极限。张可可等^[16]采用 TDLAS 技术检测 CO₂ 的浓度,并进行压强补偿,补偿后的误差范围在 2% 以内。袁松等^[17]利用 2704 nm 波段激光器采用直接吸收的方式获得的 CO₂ 浓度的检测极限为 10⁻⁷。可见,TDLAS 技术能够获得 CO₂ 浓度的高检测极限,故该技术能够应用于检测种子呼吸强度的研究中。

2 种子呼吸 CO₂ 浓度的测量原理

2.1 二次谐波反演原理

基于 TDLAS 技术的种子活力检测主要是基于朗伯比尔定律。采用波长调制技术,选用合适的吸收光谱对种子呼吸 CO₂ 浓度进行测量,其原理可以简述如下^[18-19]。

朗伯比尔定律的表达式为

$$I(t) = I_0 \exp[-\alpha(\nu)CL], \quad (1)$$

式中: $I(t)$ 为经气体吸收后的光强; I_0 为无气体吸收时的光强; $\alpha(\nu)$ 表示频率为 ν 时气体的吸收截面; C 为待测气体的浓度; L 为吸收池的光程。频率为 ν 时的吸光度 A 可表示为

$$A = \ln[I_0/I(t)]. \quad (2)$$

采用高频正弦波注入激光器的方式进行高频调制,得到二极管激光器的瞬时频率 $\nu(t)$ 为

$$\nu(t) = \nu_0 + \sigma_\nu \cos(2\pi ft), \quad (3)$$

式中: ν_0 为二极管激光的中心频率; σ_ν 为频率的调制幅度; f 为正弦波频率; t 为时间。

将(3)式代入(2)式可以计算得到傅里叶展开级数为

$$I(v_0, t) = \sum_{n=0}^{\infty} A_n(v_0) \cos(2n\pi ft). \quad (4)$$

通过锁相放大器可以得到 n 次谐波信号分量 A_n 为

$$A_n(v_0) = \frac{2}{\pi} \int_0^{\pi} I_0[v_0 + \sigma_v \cos(2\pi ft)] \cdot \exp\{-\sigma[v_0 + \sigma_v \cos(2\pi ft)]CL\} \cdot \cos(2n\pi ft) d(2\pi ft). \quad (5)$$

在理想情况下, I_0 与 $v(t)$ 无关, 所以无振幅调制, (5)式可以改写为

$$A_n(v_0) = \frac{2I_0}{\pi} \int_0^{\pi} \exp\{-\sigma[v_0 + \sigma_v \cos(2\pi ft)]CL\} \cdot \cos(2n\pi ft) d(2\pi ft). \quad (6)$$

当吸收度 $\alpha(v)CL \ll 1$ 时,

$$A_n(v_0) = \frac{2I_0CL}{\pi} \cdot$$

$$\int_0^{\pi} -\sigma[v_0 + \sigma_v \cos(2\pi ft)] \cos(2n\pi ft) d(2\pi ft), \quad (7)$$

根据泰勒级数对(7)式展开, 可得

$$A_n(v_0) = \frac{2^{1-n} I_0 CL}{n!} \sigma^n \left. \frac{d^n \sigma(v)}{dv^n} \right|_{v=v_0}. \quad (8)$$

从(8)式中可以看出, n 次谐波分量与待测气体的浓度成正比, 可以采用谐波分量来反演气体浓度。实际计算时, 考虑到谐波对称性以及幅度问题, 常选择二次谐波利用比值法进行浓度的反演计算。

2.2 谱线选取

CO₂ 有三个典型的吸收带, 分别是 1.6, 2.7, 4.3 μm。根据 HITRAN 数据库, CO₂ 吸收谱线在 2004 nm 波段附近的吸收线强为 10⁻²¹ cm⁻¹/(molecule·cm⁻²)。在温度为 20 °C、大

气压为 101.325 kPa、光程为 16 m、CO₂ 体积分数为 1%、H₂O 体积分数为 10% 的情况下, 模拟得到了 2004 nm 波段的吸收谱线, 如图 1 所示。

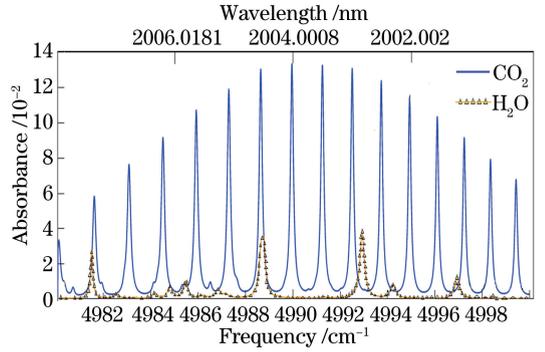


图 1 CO₂ 气体在 2004 nm 附近的模拟吸收光谱
Fig. 1 Simulated absorption spectrum of CO₂ near 2004 nm band

从图 1 中可以看出, CO₂ 和 H₂O 气体的光谱位置相隔得较为明显, 该波段 CO₂ 吸收谱线受到其他气体吸收谱线的干扰也较小, 且可以通过控制扫描范围同时观察到多个 CO₂ 吸收峰, 因此可以选择 4490.25 cm⁻¹ 波数附近的若干条吸收谱线。此外, 该波段激光器相对 2.7 μm 和 4.3 μm 波段激光器更具价格优势, 在实际使用中也较为普遍。综上所述, 2004 nm 波段激光光源为在线测量种子呼吸 CO₂ 浓度提供了理论和应用保证。

3 实验系统

3.1 种子呼吸 CO₂ 浓度的检测装置

在对传统怀特池进行改进的基础上设计了一款基于多次反射池的种子呼吸 CO₂ 浓度检测池, 该检测池的结构原理图如图 2 所示。

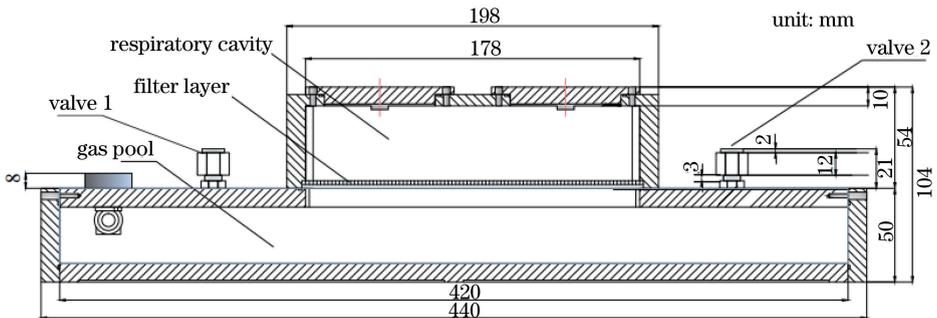


图 2 基于多次反射池的种子呼吸 CO₂ 浓度检测池的结构原理图

Fig. 2 Structural diagram of seed respiratory CO₂ concentration detection pool based on multi-reflection pool

该装置的总长度为 440 mm, 高度为 104 mm, 容积为 1500 mL。上部分为种子呼吸腔, 内腔长度为 178 mm, 高度为 54 mm, 呼吸腔上方设置两个开

孔, 方便放置种子。种子放入呼吸腔后, 用带有橡胶圈的盖子密封, 隔绝外界空气。呼吸腔下部分为气体池, 其有效长度为 420 mm, 高度为 50 mm。呼吸

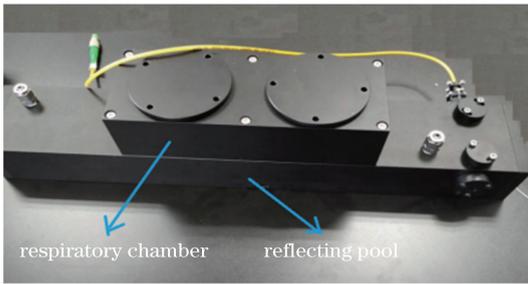


图 3 基于多次反射池结构的种子呼吸池实物图

Fig. 3 Physical map of seed respiratory pool based on multi-reflection pool structure

腔与气体池中间放置过滤网。过滤网结构致密,既能防止种子上的灰尘落入气体池,又能保证种子呼

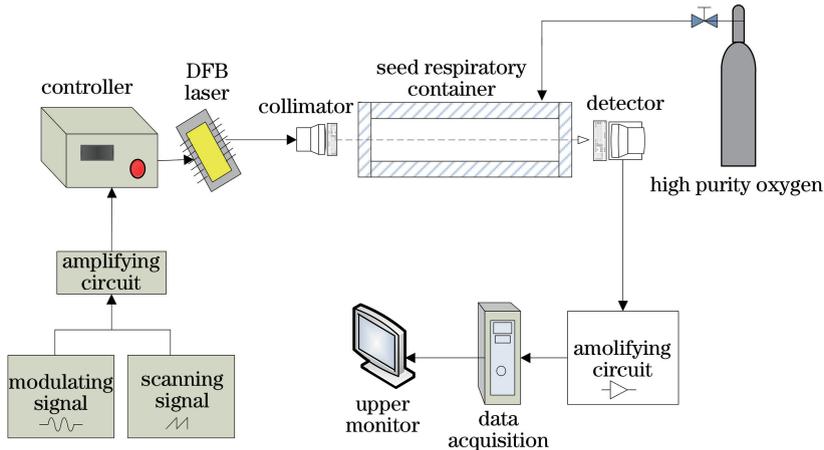


图 4 波长调制 TDLAS 实验系统结构图

Fig. 4 Experimental system diagram of wavelength modulated TDLAS

激光器及其控制模块包括 DFB 激光器、信号发生器和温控电路。其中,激光器为2004 nm波段的德国 Nanoplus 激光器,温控电路为美国 Thorlabs 公司的商用 ITC102 型温控电路。种子呼吸容器模块包括准直器、光电探测器和基于多次反射池的种子呼吸 CO₂ 浓度检测池。上位机数据采集与处理模块主要包括美国研华公司 PCI-1714L 数据采集卡,该卡的采样率可达 30 MSa/s,分辨率为 16 bit,四通道。实验过程中,锯齿波扫描信号频率为100 Hz,正弦波调制信号频率为100 kHz,采样速率为5 MSa/s。

3.2.2 系统的功能及工作流程

基于 TDLAS 技术的种子活力快速无损检测系统能够检测种子呼吸 CO₂ 的浓度,从而实现种子活力等级的无损判定。对种子呼吸 CO₂ 浓度进行检测的流程如下:首先,根据种子的呼吸特点和 CO₂ 气体吸收谱线选择合适的 DFB 激光器,通过温度控制电路将激光二极管输出中心波长锁定在吸收峰位置;然后,利用信号发生器产生适宜的调制信号电压幅值并确定扫描参数频率,将调制信号注入到激光器

出的 CO₂ 气体能够快速、充分地扩散至气体池。气体池上方设有两个阀门 1 和 2,分别为进气和出气阀门。气体池两侧设有入光口和出光口。分布式反馈(DFB)激光器发出的激光进入气体池后经过多次反射到达出光口。种子呼吸 CO₂ 浓度检测装置实物图如图 3 所示,整个装置为密封状态,可以避免外界气体的干扰。

3.2 基于 TDLAS 技术的种子活力无损检测系统

3.2.1 系统的搭建

基于 TDLAS 技术的种子活力无损检测系统包括三个模块:激光器及其控制单元模块、呼吸容器模块,以及上位机数据采集与处理模块,如图 4 所示。

驱动电路中,从而使输出激光波长能够扫描整个吸收谱线范围;之后,激光器输出的激光束进入气体池,激光束经过 40 次反射,光程达到 16 m 后传输到光电探测器。光电探测器将其转化为电压信号,再经过电压放大电路放大到合适的电压幅值(5 V);最后,数据采集模块通过数据采集卡对放大器输出的信号进行采集,并上传至计算机进行后续数据预处理。采用 LabVIEW 软件编写输出采集和预处理程序。

4 数据处理过程

基于 TDLAS 技术的种子活力检测分级数据处理过程如图 5 所示。

数据采集与处理主要分为以下几个步骤。

1) 获取原始吸收光谱信号。在数据采集过程中,通过多次累加平均和小波阈值去噪降低噪声。

2) 采用正交矢量相敏检测算法从吸收光谱信号中提取二次谐波信号。根据扫描和调制信号频率,设置合理的解调参考信号频率、相位、幅值、滤波器参数等。

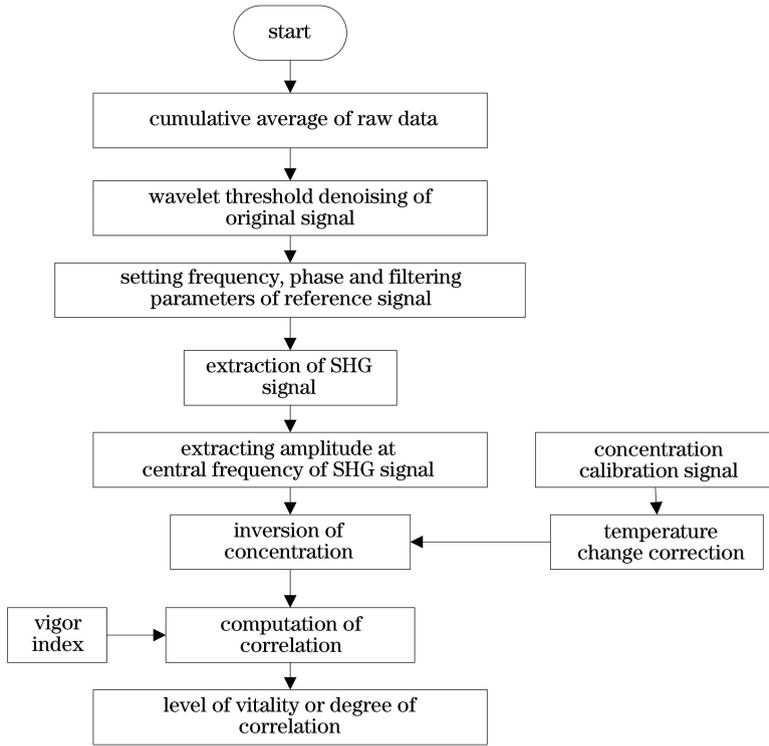


图 5 基于 TDLAS 技术的种子活力检测处理过程

Fig. 5 Flow chart of seed vigor detection processing based on TDLAS technology

3) 进行浓度反演。提取出二次谐波 (SHG) 波形信号, 获取其中心频率处的峰值电压幅值, 将经过标定的标准浓度信号与 SHG 信号峰值进行比值运算, 计算出气体浓度。在浓度反演过程中, 若温度变化较大, 还需要对温度进行修正。

4) 将反演出的浓度值与种子发芽实验获取的活力数据进行相关性计算, 计算出种子呼吸产生的 CO_2 浓度值与活力指数的相关性程度, 从而判定其活力等级。

4.1 正交矢量二次谐波信号的处理

信号解调时, 为避免相位误差带来的影响, 采用正交矢量相敏检测算法来提取二次谐波信号。正交矢量相敏检测算法的优点在于两路参考信号的相位差为 90° , 保证了初始相位变化时, 正交输出结果不变。该算法结构框图如图 6 所示, 其中 PSD 表示相敏检波器。

将经过波长调制后的吸收光谱信号 I 和参考信号 $V\sin(\omega t)$ 或 $V\cos(\omega t)$ 送入到乘法器 (相敏检测器) 中。其中, 参考信号 V 的频率设置为正弦波调制信号频率的 2 倍, 用来提取二次谐波。经过相敏检测后输出为信号 U , U 经过二级 IIR 低通滤波器滤波后输出解调后的信号 X 、 Y 两路 (两路信号正交), 然后再将两路正交分量经过平方、求和、开方得

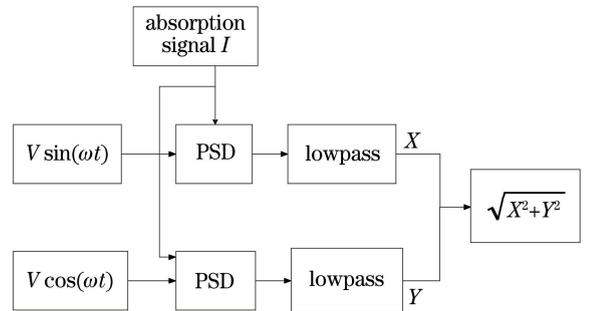


图 6 正交矢量二次谐波信号解调算法结构框图

Fig. 6 Structural block diagram of second harmonic signal demodulation algorithm based on orthogonal vector

到输出信号 V_{out} 。

在实验过程中, 为了尽可能降低噪声干扰的影响, 对原始信号进行 20 次累加平均, 并进行光强归一化、滤波等预处理, 得到较为光滑的原始吸收光谱信号。设置扫描范围使一个扫描周期内有两个 CO_2 吸收峰, 如图 7 所示。选择其中的两个吸收峰为处理对象, 计算出两个吸收峰的浓度值, 并取其平均值, 得到种子呼吸时产生的 CO_2 浓度。

4.2 小波阈值去噪

采集的信号会受到各种噪声干扰, 质量一般较差。为了提高信号质量, 通常要对信号进行一定程度的去噪处理, 以滤除高频噪声。TDLAS 数据处

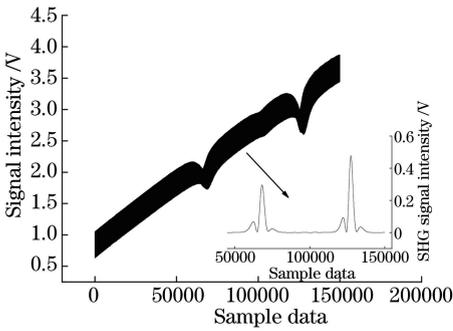


图 7 两个吸收峰的吸收光谱信号

Fig. 7 Absorption spectral signals of two absorption peaks
 理中常用的方法是采用累加平均方法,然而累加平均也不宜进行太多次,这是因为一方面累加次数太多不仅耗时,而且对采集卡内存的要求也较高,另一方面累加平均法在弱吸收信号、大噪声信号的处理中也有一定局限性。TDLAS 数据处理中还常用到对信号本身进行滤波的办法,如小波阈值去噪方法等。本研究在数据处理中采用小波阈值去噪方法对原始信号进行滤波,以降低噪声的干扰。一维信号模型的表达式为

$$s(t) = f(t) + \epsilon \cdot n'(t), \quad (9)$$

式中: $s(t)$ 为含噪信号; $f(t)$ 为有用信号; $n'(t)$ 为随机噪声; ϵ 为随机噪声幅值系数。

小波阈值降噪的基本思想是利用小波把含噪信号 $s(t)$ 分解到多尺度中,然后在每一个尺度下把属于噪声的小波系数去除,保留并增强属于信号的小波系数,最后重构出小波降噪后的信号^[20]。小波基和分解尺度均对小波信噪比(SNR)有影响,采用强制降噪、默认阈值降噪、给定阈值降噪、硬阈值降噪、软阈值降噪等方法对 TDLAS 测量数据进行降噪,在分解尺度 j 为 4、5、6 三种情况下进行测试,基小波选择为 db5,得到的信噪比如表 1 所示。

表 1 不同尺度下采用不同方法降噪后的信噪比

Table 1 Signal-to-noise ratios obtained with different noise reduction methods at different scales

Noise reduction method	SNR /dB		
	($j=4$)	($j=5$)	($j=6$)
Forced noise reduction	64.22	68.36	67.54
Default threshold denoising	59.31	59.01	58.83
Given threshold denoising	63.38	64.33	63.91
Hard threshold denoising	57.73	58.27	57.89
Soft threshold denoising	62.68	64.03	62.88

强制阈值等方法虽然信噪比较好,但是对信号波形损伤较大,影响波形细节,所以一般选择分解尺度为 5,这里没有展开讨论。从表中可以看出,在

TDLAS 数据的预处理中,分解尺度为 5 时,采用软阈值方法的效果较好。

4.3 浓度标定

利用二次谐波反演种子呼吸时产生的 CO_2 浓度,在反演之前需要进行浓度标定。在浓度标定过程中,使用 10 cm 长直通型吸收池作为标定池。在相同的实验条件下,再将测量系统中有效光程为 16 m 的基于多次反射池的种子呼吸 CO_2 浓度检测池换成直通标定池,将高纯度 CO_2 气体(体积分数为 99.999%)充入到标定池中,数分钟后密闭标定池。测量获取的标定信号,并解调获取其二次谐波,依据朗伯比尔定律,再依据标定信号的二次谐波,利用气体比值法计算待测气体的浓度。

4.4 温度变化的修正

测量环境温度和压力发生变化,均会对二次谐波峰值产生影响。本文实验均在空气环境下或相同气压的氧气环境下操作,测量过程可以不考虑压力变化。但是不同天气、不同时刻测量时的温度变化较大,因此需要对不同温度下的测量结果进行修正。在同样的调制系数下,温度升高,二次谐波峰值就会降低。在 $0\sim 45\text{ }^\circ\text{C}$ 范围内, CO_2 气体二次谐波信号峰值的变化(体积分数为 0.1%)如图 8 所示。

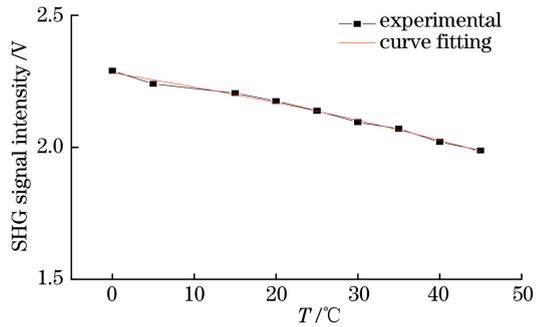


图 8 温度变化修正关系图

Fig. 8 Correction diagram of temperature change

通过三次多项式拟合得到的拟合结果为 $Y = 2.2819T^3 - 0.0052T^2 - 1.48 \times 10^{-5}T + 3.754 \times 10^{-7}$ 。将不同温度下的二次谐波信号峰值修正为常温 $20\text{ }^\circ\text{C}$,设定 $20\text{ }^\circ\text{C}$ 为参考温度 T_0 ,任意时刻的温度为 T ,此时,未经修正的二次谐波峰值为 F_0 ,修正后的二次谐波峰值为 $F(T)$ 。修正公式^[21]为

$$F(T) = \frac{B_3 T_0^3 + B_2 T_0^2 + B_1 T_0 + B_0}{B_3 T^3 + B_2 T^2 + B_1 T + B_0} \cdot F_0. \quad (10)$$

5 实验与结果分析

5.1 材料准备

实验采用的种子是由浙江农林大学提供的 2017

年夏授粉后收获期分别为 30 d、40 d、50 d 的甜玉米种子,其活力等级分别为低、高、中。将收获的玉米种子自然风干后干燥冷藏于 4 ℃ 的环境中,从中选取大小、干燥程度、饱满程度相差不大的玉米种子 5 g 作为一个样本,三种不同活力等级样本共计 15 份。

5.2 甜玉米种子呼吸 CO₂ 浓度的测定

实验过程中,先将玉米种子吹洗干净,忽略微生物呼吸产生的 CO₂ 的影响,预处理后浸泡 24 h 再进行测量(以破除休眠状态,浸泡后的种子回干后可以继续使用,对种子无损伤),测量过程中先将种子放入呼吸腔再密封。开始测量后启动原始光谱数据记录,再根据前述方法,从实验中采集的光谱数据中提取出二次谐波信号,并反演出 CO₂ 浓度,连续测量 8 h 左右,将 5 次测量结果取平均值。获得的甜玉米种子呼吸浓度变化曲线如图 9 所示。

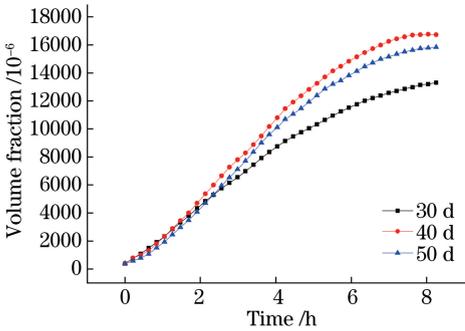


图 9 不同收获期甜玉米种子的呼吸变化曲线
Fig. 9 Respiration curves of sweet maize seeds in different harvests

从图 9 中可以看出:1)在开始后的 2 h 内,呼吸变化规律不是很明确,呼吸曲线有交织,2 h 以后呼吸变化趋势逐渐明晰;2)不同种子的呼吸强度均逐渐增加;3)呼吸强度的变化速度呈先快后慢的趋势;4)不同收获期种子呼吸强度的变化量各不相同,其中经过 8 h 呼吸后,甜玉米授粉收获期为 30 d、40 d、50 d 的种子呼吸变化量分别为 13026×10^{-6} 、 16747×10^{-6} 、 15788×10^{-6} 。计算各种种子 CO₂ 浓度的变化率后可知,收获期为 40 d 的种子的呼吸变化速率最大,收获期为 30 d 的种子的呼吸变化速率最小,收获期为 50 d 的种子介于两者之间。

表 3 种子呼吸强度与活力指数的相关系数

Table 3 Relationship between respiratory intensity and vigor index of seed

Parameter	Value							
	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h
Correlation coefficient	0.004	0.678	0.994	0.963	0.954	0.953	0.945	0.937
Degree of correlation	Uncorrelated	Medium correlation	Significant correlated	Significant correlated	Significant correlated	Significant correlated	Highly correlated	Highly correlated

5.3 呼吸强度与活力的相关性分析

为了分析呼吸强度与种子活力等级的相关性,还需要对同一批种子进行活力测定。采用发芽出苗实验方法进行种子活力的测定,活力指数^[22]的计算公式为

$$V_i = S \sum \frac{G_i}{D_i} = S \times G, \quad (11)$$

式中: V_i 为活力指数; D_i 为发芽实验的第几天; G_i 第几天的发芽数量; S 为种苗的生长量; G 为发芽指数。经过发芽实验获得了甜玉米种子的活力指数,如表 2 所示。通过发芽实验可知收获期为 40 d 的玉米种子的活力指数最高,收获期为 30 d 的种子的活力指数最低,将活力指数划分为高、中、低三个等级。

表 2 甜玉米不同收获期的种子活力指数

Table 2 Seed vigor index of sweet maize in different harvests

Index	Value		
	30 d	40 d	50 d
Vigor index	14.09	62.12	36.89
Vigor grade	Low	High	Medium

根据活力指数将种子呼吸变化量与种子活力指数进行相关性分析,计算呼吸强度与活力等级的相关性,计算公式为

$$r_{XY} = \frac{\sum_{i=1}^N (X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^N (X_i - \bar{X})^2} \sqrt{\sum_{i=1}^N (Y_i - \bar{Y})^2}}, \quad (12)$$

式中: \bar{X} 、 \bar{Y} 为平均值; r_{XY} 为相关系数; X_i 为第 i 个样本种子的呼吸变化量; Y_i 为第 i 个样本种子的活力指数; N 为总的样本数。为表征相关程度,设定 5 个相关度等级, $|r_{XY}| \geq 0.95$ 为显著性相关, $0.85 \leq |r_{XY}| < 0.95$ 为高度相关, $0.5 \leq |r_{XY}| < 0.85$ 为中度相关, $0.3 \leq |r_{XY}| < 0.55$ 为低度相关, $|r_{XY}| < 0.3$ 为极弱性相关(可认为不相关)。表 3 给出了 30~50 d 共 5 个不同收获期种子呼吸强度与活力指数的相关系数。

从表3中可以看出:在前2 h内,呼吸强度变化与活力等级的相关度较低,但从2 h后选取的5个时间段(即3~8 h)的种子呼吸强度与活力指数存在较高的相关性,相关系数大于0.9,均属于高度相关关系。因此,可以采用呼吸3~8 h内的CO₂浓度的高低来判定种子的活力等级。

以上结论为利用种子呼吸强度进行种子活力分级提供了实验验证,该方法相较于国际种子协会推荐的幼苗生长测定法、抗冷测定法、加速老化试验法、电导率测定法和酶活性测定法等种子活力检测方法,速度更快,时间可缩至数小时,而且该操作方法简单,不破坏种子,是一种快速无损的检测方法。

6 结 论

本文基于TDLAS技术在实验室搭建了一套种子呼吸CO₂浓度的测量系统,通过检测CO₂浓度的变化量来检测种子活力。在实验室中对甜玉米种子授粉后30 d、40 d、50 d收获的种子进行了CO₂呼吸测试,并对种子进行了发芽和出苗实验,以检测其活力指数。通过对甜玉米种子进行连续8 h的测量,选取3~8 h中间这6个时刻的CO₂浓度值,与种子活力指数进行相关性计算,获得的相关性指数大于0.9,呼吸强度与活力指数呈高度相关性,6个时刻中呼吸产生的CO₂浓度的变化量与活力指数的相关系数的平均值为0.957。该实验结果表明,种子呼吸CO₂强度变化与种子活力等级具有高度相关性,且稳定性较好。TDLAS技术能够在数小时内测出种子活力的强弱。与传统的发芽实验等种子活力分级检测方法相比,所提方法具有快速无损的优点,为进一步开发基于种子呼吸CO₂浓度变化检测种子活力等级设备提供了有益的探索。

参 考 文 献

- [1] Perry D A. Report of the vigour test committee 1974-1977[J]. Seed Science and Technology, 1978, 6(1): 159-181.
- [2] Huang Z C, Huang S Z. Study on non-destructive method in seed vigor determination: II the relationship between respiratory rate and cabbage seed vigor[J]. Seed, 1998, 17(5): 3-5.
黄真池, 黄上志. 不破坏种子活力测定方法研究: II 种子活力与呼吸速率的关系[J]. 种子, 1998, 17(5): 3-5.
- [3] Yu Z, Fang F, Peng Z D, *et al.* New technologies for detecting seed vigor[J]. Seed, 2012, 31(8): 52-55.
- [4] Jia W, Mao P S. Review on the near infrared spectroscopy in seed quality testing research [J]. Seed, 2013, 32(11): 46-51.
贾婉, 毛培胜. 近红外光谱技术在种子质量检测方面的研究进展[J]. 种子, 2013, 32(11): 46-51.
- [5] Zhu L W, Ma W G, Hu J, *et al.* Advances of NIR spectroscopy technology applied in seed quality detection [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2015, 35(2): 346-349.
朱丽伟, 马文广, 胡晋, 等. 近红外光谱技术检测种子质量的应用研究进展[J]. 光谱学与光谱分析, 2015, 35(2): 346-349.
- [6] Li H H, Lu W, Du C W, *et al.* Study on rapid and non-destructive detection of rice seed vigor based on photoacoustic spectroscopy combined with LS-SVR [J]. Chinese Journal of Lasers, 2015, 42(11): 1115003.
李欢欢, 卢伟, 杜昌文, 等. 基于光声光谱结合LS-SVR的稻种活力快速无损检测方法研究[J]. 中国激光, 2015, 42(11): 1115003.
- [7] Song L, Wang Q, Wang C Y, *et al.* Qualitative analysis of single rice seed vigor using near infrared reflectance spectroscopy[J]. Grain Storage, 2015, 44(1): 20-23.
宋乐, 王琦, 王纯阳, 等. 基于近红外光谱的单粒水稻种子活力快速无损检测[J]. 粮食储藏, 2015, 44(1): 20-23.
- [8] Yu D, Cheng W M, Wang Q, *et al.* Construction of analysis model of rice seed components based on near infrared reflectance spectroscopy[J]. The Journal of Light Scattering, 2015, 27(4): 384-389.
余鼎, 程维民, 王琦, 等. 基于近红外光谱技术的水稻种子成分分析模型的建立[J]. 光散射学报, 2015, 27(4): 384-389.
- [9] Zhang T T, Zhao B, Yang L M, *et al.* Determination of wheat seeds vigor based on electronic nose [J]. Journal of China Agricultural University, 2018, 23(9): 123-130.
张婷婷, 赵宾, 杨丽明, 等. 基于电子鼻技术的小麦种子活力鉴别[J]. 中国农业大学学报, 2018, 23(9): 123-130.
- [10] Wu X F, Zhao G W, Qi H N. Inspect rice seed vigor of conventional rice by hyperspectral imaging with chemometric methods [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2017, 45(29): 12-14.
吴小芬, 赵光武, 祁亨年. 高光谱技术在常规水稻种子活力检测中的应用[J]. 安徽农业科学, 2017, 45(29): 12-14.
- [11] Jiang C Y, Sun M X, Li Y X, *et al.* Breath analysis

- using laser spectroscopy techniques: development and future[J]. Chinese Journal of Lasers, 2018, 45(2): 0207015.
- 姜琛昱, 孙美秀, 李迎新, 等. 激光光谱技术在呼吸气体分析中的发展与未来[J]. 中国激光, 2018, 45(2): 0207015.
- [12] Nie W, Kan R F, Yang C G, *et al.* Research progress on the application of tunable diode laser absorption spectroscopy [J]. Chinese Journal of Lasers, 2018, 45(9): 0911001.
- 聂伟, 阚瑞峰, 杨晨光, 等. 可调谐二极管激光吸收光谱技术的应用研究进展[J]. 中国激光, 2018, 45(9): 0911001.
- [13] Zhang Z R, Sun P S, Pang T, *et al.* Application of laser absorption spectroscopy for identification gases in industrial production processes and early safety warning[J]. Optics and Precision Engineering, 2018, 26(8): 1925-1937.
- 张志荣, 孙鹏帅, 庞涛, 等. 激光吸收光谱技术在工业生产过程及安全预警标识性气体监测中的应用[J]. 光学精密工程, 2018, 26(8): 1925-1937.
- [14] Lu H, Zhang G, Zhang G X, *et al.* Study on simultaneous detection of CO₂ and H₂O based on TDLAS [J]. Jiangsu Science & Technology Information, 2018, 35(5): 41-43.
- 陆恒, 张刚, 张国贤, 等. 基于 TDLAS 的二氧化碳和水汽同时检测技术研究[J]. 江苏科技信息, 2018, 35(5): 41-43.
- [15] Li M, Guo J J, Ye W Q, *et al.* Study on TDLAS system with a miniature multi-pass cavity for CO₂ measurements [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2018, 38(3): 697-701.
- 李萌, 郭金家, 叶旺全, 等. 基于微型多次反射腔的 TDLAS 二氧化碳测量系统[J]. 光谱学与光谱分析, 2018, 38(3): 697-701.
- [16] Zhang K K, Liu S X, Chen S Z, *et al.* TDLAS carbon dioxide concentration detection system and its pressure compensation[J]. Instrument Technique and Sensor, 2016(1): 53-55, 69.
- 张可可, 刘世萱, 陈世哲, 等. 基于 TDLAS 的二氧化碳浓度检测系统及压强补偿研究[J]. 仪表技术与传感器, 2016(1): 53-55, 69.
- [17] Yuan S, Kan R F, He Y B, *et al.* Tunable diode laser spectroscopy system for carbon dioxide monitoring[J]. Chinese Journal of Lasers, 2014, 41(12): 1208003.
- 袁松, 阚瑞峰, 何亚柏, 等. 基于可调谐半导体激光光谱大气 CO₂ 监测仪[J]. 中国激光, 2014, 41(12): 1208003.
- [18] Lu W Y, Zhu X R, Li Y S, *et al.* Comparison of direct absorption and wavelength modulation methods for online measurement of CO₂ by TDLAS [J]. Infrared and Laser Engineering, 2018, 47(7): 0717002.
- 卢伟业, 朱晓睿, 李越胜, 等. TDLAS 直接吸收法和波长调制法在线测量 CO₂ 的比较[J]. 红外与激光工程, 2018, 47(7): 0717002.
- [19] Chen J Y, Liu J G, Zhang Y J, *et al.* Methane sensor based on tunable diode laser absorption spectroscopy [J]. Journal of Atmospheric and Environmental Optics, 2007, 2(2): 146-149.
- 陈玖英, 刘建国, 张玉钧, 等. 一种基于 TDLAS 谐波探测技术的甲烷传感器[J]. 大气与环境光学学报, 2007, 2(2): 146-149.
- [20] Zhao M F, Tang P, Tang B, *et al.* Research on denoising of UV-vis spectral data for water quality detection with compressed sensing theory based on wavelet transform [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2018, 38(3): 844-850.
- 赵明富, 唐平, 汤斌, 等. 基于小波变换的压缩感知理论对水质检测紫外-可见光谱数据的去噪研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2018, 38(3): 844-850.
- [21] Zhang Z F, Zou D B, Chen W L, *et al.* Temperature influence in the TDLAS detection of escaping ammonia[J]. Opto-Electronic Engineering, 2014, 41(6): 32-37.
- 张增福, 邹得宝, 陈文亮, 等. TDLAS 逃逸氨检测中温度影响的研究[J]. 光电工程, 2014, 41(6): 32-37.
- [22] Li Z, Liao T Q, Feng Q C, *et al.* A system design on cucumber seed vigor index detection based on image processing[J]. Seed, 2015, 34(6): 111-115.
- 李振, 廖同庆, 冯青春, 等. 基于图像处理技术的黄瓜种子活力指数检测系统设计[J]. 种子, 2015, 34(6): 111-115.