

近红外光谱分析技术及其在牧草种子质量监督检验上的应用前景

任卫波^{1,2}, 韩建国^{1*}, 张蕴薇¹, 郭慧琴³

1. 中国农业大学草地研究所, 北京 100094
2. 中国农业科学院草原研究所, 内蒙古 呼和浩特 010010
3. 内蒙古农业大学生物工程学院, 内蒙古 呼和浩特 010018

摘 要 近红外光谱(NIRS)的分析技术是一项高效、快捷检测样品中某种物质成分的分析新方法,近年来在农业、食品、医药、化工、纺织、环保等领域得到了广泛的应用。文章简要介绍了NIRS技术产生和探测的基本原理、方法和技术特点,回顾了其在植物种子研究方面的应用情况,然后从种子品种鉴定、种子纯净度鉴定、种子发芽率测定、种子水分含量和生活力测定等四个方面阐述了NIRS分析技术应用于牧草种子质量监督检验的意义和潜在价值。最后得出结论应用NIRS技术能降低种子检验成本、提高检验效率,还有助于扩大常规种子检验的范围和用途,因此NIRS应用于牧草种子质量检验有着重要的理论和实际意义。

关键词 近红外反射光谱法(NIRS); 牧草; 种子质量监督检验

中图分类号: S812 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0593(2008)03-0555-04

引 言

牧草生产是畜牧业的基础,优良的牧草种子是保证牧草生产的重要前提。牧草种子质量检验是种子品质和贸易的重要环节。常规的种子质量检验主要包括品种纯度、种子净度、种子活力、种子水分、种子健康度等内容。然而符合国际标准的种子检验往往需要专门的检测设备、专业检测人员,而且检测时间长,耗费人力和财力。

近红外光谱技术(near infrared reflectance spectroscopy, NIRS)是利用物质在近红外光谱区特定的吸收特性快速检测样品中某一种或多种化学成分含量的方法^[1],具有快速、准确、高效、低成本及同时可检测多种成分(最多可达六种组分)等优点。随着NIRS硬软件系统的不断改进和更新,其应用领域不断扩大,由最初的农业领域迅速扩大到食品、医药、化工、纺织、环保等许多领域^[2]。目前,尽管NIRS技术在其他领域发展很快,但其在农业上的应用仍是主要领域^[3]。近些年来,NIRS技术在油菜^[4]、小麦^[5]、花生^[6]等作物种子化学成分含量分析成为新的热点之一。

已有的研究表明,通过建立玉米、水稻种子水分、生活力的近红外光谱分析模型,傅里叶变换红外光谱法(FT-

NIR)可以有效的预检测出玉米、水稻种子的水分、生活力,满足种子快速检测的需要^[7]。这些研究表明,将红外光谱技术应用于牧草种子质量检验是很有发展前途的,有着广阔的应用前景。

1 NIRS 分析机理及误差来源

1.1 NIRS 原理

近红外光主要是指波长在780~2500 nm范围内的电磁波。近红外光谱是由有机分子振动的倍频或合频能对特定波段电磁波产生吸收而形成的谱带。光谱记录的是有机分子中单个化学键的倍频和合频信息,主要是与H有关的集团,如O—H, N—H, C—H键^[8]。不同种类的化学键,能形成特定的吸收光谱。

近红外光谱主要分为两种:透射光谱和反射光谱。透射光谱(波长范围700~1100 nm)是将待测样品置于光源与检测器之间,检测器检测的光为透射光或与样品分子作用后的光;反射光谱(波长范围1100~2500 nm)指光源与检测器在同一侧,检测器检测的是样品以各种方式反射回来的光。反射光又可分为两种:规则反射与漫反射。其中利用漫反射来进行分析的成为漫反射光谱法,多用于混浊样品和固体颗粒

收稿日期:2006-11-26, 修订日期:2007-02-26

基金项目:国家科技攻关计划课题项目(2004BA528B-1),北京市教委共建项目(XK100190552, JD100190531)和中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(中国农业科学院草原研究所)资助

作者简介:任卫波,1979年生,中国农业科学院草原研究所助理研究员 e-mail: rppcaucau@163.com

*通讯联系人 e-mail: grasslab@public3.bta.net.cn

粒如作物和牧草籽实^[8]。

1.2 NIRS 分析原理

NIRS 是利用被测物质中不同组分在近红外光谱区特殊的吸收光谱,再结合相关的定标方程来达到快速估测样品各组分含量的目的。被测样品的实际光谱是多种组分反射光谱的集合。各组分含量的具体测定是基于各组分最佳波长的选择,并参照标准回归方程来完成的^[9]。

$$C_{\text{NIRS}} = B_0 + B_1 A_1 + B_2 A_2 + \dots + B_x A_x$$

$B_0, \dots, B_x$ 为回归系数(也是在第 K 个波长点的吸收常数), $A_1, \dots, A_x$ 为在第 K 个波长点的吸收强度, C_{NIRS} 为近红外光谱分析的某个化学成分含量。

2 NIRS 分析技术的特点

相对于传统化学分析, NIRS 在检测样品成分过程中主要有以下特点^[10, 11]: (1) 保持样品的完整性, 近红外光谱分析检测样品成分时不需要破坏样品, 也不需要检前处理; (2) 可同时检测一份材料多项指标, 在常规化学分析中, 检测同一材料的不同组分往往需要不同的检测方法, 不仅消耗大量化学试剂, 污染环境, 而且还消耗大量的样品。采用 NIRS 及时分析可一次完成多个组分分析内容, 高效快捷, 样品用量也少; (3) 操作简单, 对测试人员无专业化要求; 检测过程也不需要任何化学药品, 安全无污染, 检测成本低。 (4) 随着数据的积累和模型优化, 测试范围和精度可不断提高; (5) 可以进行远程分析。由于红外光谱具有较好的传输性能, 可通过光纤进行远离采样现场的样品分析, 实现在线分析和远程监控。

3 应用 NIRS 技术于牧草种子质量检验的意义

NIRS 分析技术应用于牧草种子质量检验的意义主要体现在以下两个方面。

植物原样无损分析和多成分技术: NIRS 分析采用原样分析测定(无需样品处理和粉碎), 检验完成后种子仍可用于繁育后代, 而且基于不同的标准模型, 仅通过一次扫描的光谱图就可以对种子的多项指标进行分析, 这不仅降低了检验时样品的消耗, 简化检验流程, 节约检验成本和时间。

远程分析技术: 常规的符合国际标准的种子检验往往限于专业设备和专业技术人员, 只能在国际种子协会 ISTA 授权的实验室才能完成并出具具有一定法律效力的种子检验报告用于解决种子贸易纠纷。为了完成检验, 待测样品种子往往需要邮寄或专人远程送到这些实验室才能完成, 费时费力。近红外远程分析技术可以有效的解决这一问题, 只要待测地有近红外终端, 将近红外扫描数据通过网络发回检验实验室, 往往只需几分钟就可以获得检验结果, 这样可以为种子节约大量时间, 有利于促进种子贸易的繁荣。

4 NIRS 在牧草种子质量检验的应用及其前景

作为农牧业生产最基本的生产资料, 种子的质量是影响其种用价值的最重要特征。种子质量一般包括两方面内容: 第一是种用质量, 主要表示种子的物理净度、发芽率、种子含水量灯室内常规检验指标; 第二是种子的品种质量, 指种子在基因构成以及遗传稳定性方面的质量, 通常是通过种子认证以及田间检验来判定。种子质量检验就是对生产上使用的牧草种子的质量进行检测、鉴定和分析, 确定其使用价值^[12]。

4.1 品种鉴别

优良品种往往具有高产、优质、抗病抗逆性强等优点, 对于提高产量, 改良品质, 加强对逆境(寒、旱、盐碱)抗性, 减小病虫害危害等方面有着重要的意义。优良品种的获得往往倾注了育种家多年的心血和努力劳动, 所以优良品种^[13], 种子的价格往往高于普通种子。为了获取暴利, 少数商家不惜以假充真, 以次充好, 严重影响种子市场的健康发展。因此种子质量检验最重要的一环就是优良品种的鉴别。然而优良品种的优点往往很难从种子的外观上加以鉴别, 一般要通过在田间种植后才能逐步表现出来, 鉴定时间长, 费时费力, 因此常规的室内种子检验并不包括品种鉴别。NIRS 技术的出现为室内检验优良品种提供了可能。研究表明, 通过建立苹果的近红外指纹图谱, 再结合适当的数据分析技术, 可以有效的对苹果品种进行鉴别, 识别准确率达到 100 %^[14]。道地山药的鉴别也有成功的报道^[15]。利用近红外光谱技术通过建立优良品种的特异指纹图谱, 我们就利用 NIRS 技术在实验室内完成优良品种高效、快速的鉴别, 填补了常规室内检验的这一空白。

4.2 种子纯净度检验

种子在收获、加工过程中往往会混入一些杂质, 主要分为两种: 一种为无生命杂质如石块, 沙砾等; 另一种为有生命杂质如野生杂草种子等。如果种子中混入的杂质过多, 尤其是野生杂草种子, 将会给生产带来很大的麻烦, 比如加大了除草的成本, 而且由于养分竞争, 先生长的杂草将大大抑制优质牧草的生长, 严重时甚至会导致建植失败。因此种子物理纯净度检验也很重要。常规的室内检验往往需要专业人员, 仔细的将样品中的杂质一一挑出, 费时费力。NIRS 技术用于种子物理纯净度检验将使得这个检验项目变得轻松快捷。

4.3 种子标准发芽率检验

种子发芽率是影响种子出苗的重要指标, 也是目前种子质量检验中最常规最经典的检验指标之一。然而常规的种子发芽率检验, 需要在人工气候培养箱内进行, 而且检验一般需要 1~2 周才能完成。通过建立种子标准发芽率与近红外吸收光谱之间的回归模型, 我们就可以利用 NIRS 技术对待测种子的发芽率进行快速检测, 大大缩短发芽时间, 提高检验效率。

4.4 种子水分和生活力检验

在种子质量检验过程中,需要测定样品种子的水分和生活力。按照国际种子检验标准测定种子水分和生活力,不仅需要预处理如生活力测定就需要事先将种胚切开,用化学试剂染色,而且需要不同的方法和程序,费工费时,测定完成后种子样品基本上被破坏,不再具备使用价值如水分含量测定时种子需要经历高温烘干,测定完成后种子不在具有生命力。研究表明,利用傅立叶变换近红外光谱法可以快速测定玉米,水稻种子和其他植物的水分和生活力,从而满足种子质量检验的快速,高效^[16]。

5 总 结

近红外光谱分析技术(NIRS)应用于饲草营养分析、草

坪管理及土壤养分分析、草类植物样品组分分析等方面已取得很大的进展^[11]。据不完全统计,用NIRS法分析的植物已涉及36个属上百种植物包括谷物、豆类、蔬菜、牧草和经济作物等^[17]。已分析过的植物组织包括叶、茎、全株和种子等,所测品质指标已多达几十种,包括水分、蛋白、纤维、淀粉、糖分、脂肪、油分、灰分等,其中牧草粗蛋白、酸性洗涤纤维等NIRS已被国际标准化委员会认可^[18]。NIRS法所测定的植物类型和指标有不断扩大的趋势,如有报道用NIRS分析估算牧草的矿质元素和微量元素^[18,19]。但是如何充分利用NIRS技术于牧草种子质量检验的基础研究尚不充分,尤其是如何更好的将NIRS技术与牧草种子质量检验技术更好的结合,还需要进一步深入和广泛的研究,但我们相信将NIRS技术应用于种子质量检验是非常必要的,有着重要的理论和现实意义。

参 考 文 献

- [1] ZHANG Zi-yi, CHEN Xue-xiu, REN Peng(张子仪,陈雪秀,任 鹏). Analytical Technology of Near Infrared Spectroscopy(近红外光谱分析技术). Beijing: China Agricultural Press(北京:中国农业出版社), 1992.
- [2] Williams P C, Norris K H. Near-Infrared Technology: In the Agricultural and Food Industries, St. Paul. Mina: American Association of Cereal Chemist, 2001. 43.
- [3] Norris K H, Bames R F, et al. J. Animal Sci., 1976, 43(4): 897.
- [4] GAN Li, SUN Xiur-li, JIN Liang, et al(甘 莉,孙秀丽,金 良,等). Scientia Agricultura Sinica(中国农业科学), 2003, 36(12): 1609.
- [5] PENG Yu-kui, LI Jun-ying(彭玉魁,李菊英). Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica(西北农业学报), 1996, 5(3): 31.
- [6] YU Shan-lin, ZHU Yur-jie, MIN Ping, et al(禹山林,朱雨杰,闵 平,等). J. Peanut Sci. (花生学报), 2003, 32(supp.): 138.
- [7] KANG Yue-qiong, HAO Feng(康月琼,郝 风). Seed(种子), 2004, 23(7): 10.
- [8] SU Cai-zhu, YIN Ping-he(苏彩珠,尹平河). Physical Testing and Chemical Analysis(Part B:: Chemical Analysis)(理化检验-化学分册), 2003, 39(2): 126.
- [9] Norris K H. Applied Spectroscopy Reviews, 1992, 27(4): 325.
- [10] XU Guang-tong, YUAN Hong-fu, LU Wan-zhen(徐广通,袁洪福,陆婉珍). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2000, 20(2): 134.
- [11] FAN Shi-fu(范世福). Analytical Instrumentation(分析仪器), 1991, (3): 83.
- [12] HAN Jian-guo(韩建国). Application of Forage Seed Scicence(实用牧草种子学). Beijing: China Agricultural University Press(北京:中国农业大学出版社), 1997.
- [13] YUN Jin-feng(云锦凤). Breeding of Forage and Grass(牧草与饲用作物育种). Beijing: China Agricultural Press(北京:中国农业出版社), 2000.
- [14] HE Yong, LI Xiao-li, SHAO Yong-ni(何 勇,李晓丽,邵咏妮). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(5): 850.
- [15] SUN Su-qin, TANG Jun-ming, YUAN Zi-ming, et al(孙素琴,汤俊明,袁子明,等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2003, 23(2): 258.
- [16] JIANG Ze-hui, HUANG An-ming(江泽慧,黄安民). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(8): 1464.
- [17] Coleman S W, Murray I. Animal Feed Science and Technology, 1993, 44: 237.
- [18] Clark D H, Cary E E, Mayland H F. Agron. J., 1989, 81: 91.
- [19] Clark D H, Mauland H F, Lamb R C. Agron. J., 1987, 79: 485.

The Application of Near-Infrared Reflectance Spectroscopy in Seeds Quality Certification

REN Wei-bo^{1,2}, HAN Jian-guo^{1*}, ZHANG Yun-wei¹, GUO Hui-qin³

1. Institute of Grassland Science, China Agricultural University, Beijing 100094, China

2. Grassland Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Huhhot 010010, China

3. Institute of Bioengineer Science, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010018, China

Abstract Near infrared reflectance spectroscopy is a newly developed method capable of analyzing the content of specific compound in the detected sample quickly and efficiently. Near infrared reflectance spectroscopy has been widely used in many fields such as agriculture science, food industry, medical industry, chemical engineering and protection of environment and so on. In the present paper firstly the principle, technique method and merits of near infrared reflectance spectroscopy were described. Then the application of near infrared reflectance spectroscopy to the seeds of many crops, i. e. wheat, rice, rape and apple, was reviewed and discussed in brief. Based on this introduction, the potential value of the application of near infrared reflectance spectroscopy to the grass seeds quality certification was discussed in the four areas, i. e. the grass seed variety discrimination, the standard percentage rate of grass seed germination testing, the scale of the content of grass seed moisture, and the evaluation of the grass seed vigor and the purity of grass seed. Finally, it was concluded that the application of near infrared reflectance spectroscopy to the grass seed quality certification is significant both in the academic and the technical areas because near infrared reflectance spectroscopy will not only improve the efficiency of grass seed certification, saving manual work and testing time, but also help expand the extent and application of routine quality certification of grass seeds.

Keywords Near infrared reflectance spectroscopy(NIRS); Grass; Seed testing

(Received Nov. 26, 2006; accepted Feb. 26, 2007)

Corresponding author