

绿豆主要营养品质近红外预测模型的构建与验证

王丽君, 刘三才, 么 杨, 任贵兴, 程须珍

(中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081)

摘要: 运用近红外法预测了中国绿豆主要营养品质蛋白质、淀粉和直链淀粉含量并比较绿豆粉和子粒两种不同样品类型的差异。102 份绿豆核心种质样品为试验材料, 采用近红外分析系统扫描了绿豆子粒和粉样品。光谱数据经预处理后, 构建了最小二乘回归预测和交互验证模型并获得了最优校正统计参数。绿豆粉样品最大 R^2 值和最小 $SECV$ 值蛋白质含量为 0.95 和 0.329, 淀粉含量 0.90 和 0.576, 直链淀粉含量 0.89 和 0.307, RPD 值为 3.08~4.61。子粒样品最大 R^2 值和最小 $SECV$ 值蛋白质含量为 0.90 和 0.404, 淀粉含量 0.88 和 0.643, 直链淀粉含量 0.85 和 0.426, RPD 值为 2.51~3.23。模型的稳健性采用外部验证法进行了评价。绿豆粉样品的平均差异为 1.0%~1.8%, 比子粒样品略低。结果表明绿豆粉 3 种组分的近红外预测方法具有快速和简单的特点, 可应用于绿豆品质的测定。子粒样品还具有无损种子结构, 保持种子活力的特点, 可在育种、种质资源创新等方面应用, 但其准确度还有待进一步的改善。

关键词: 绿豆; 近红外法; 蛋白质含量; 直链淀粉; 无损分析

The Development of Near-infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) Prediction Model for the Quality Components of Flour and Intact Seed in Mungbean

WANG Li-jun, LIU San-cai, YAO Yang, REN Gui-xing, CHENG Xu-zhen

(Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract: Near infrared reflectance spectroscopy was applied to determine the content of protein, starch, and amylose in mungbean in China. One hundred and two samples seeds were scanned in NIR systems (MPA, Bruker, Germany) with Infra soft software OPUS 6.5 version. The partial least-squares regression method was developed with cross validation after processing data. The best calibration statistics were obtained by optimization. In flour samples, the largest R^2 value and the lowest $SECV$ were detected for protein (0.95 and 0.329), for starch (0.90 and 0.576) and for amylose (0.89 and 0.307), and the residual prediction deviation (RPD) value were from 3.08 to 4.61, respectively. In intact seeds, the largest R^2 value and the lowest $SECV$ were found for protein (0.90 and 0.404), for starch (0.88 and 0.643) and for amylose (0.85 and 0.426), and RPD value were from 2.51 to 3.23, respectively. The robustness of the model was evaluated for external validation. The mean differences, which were found 1.0% to 1.8% in flour, were slightly lower than in intact seeds. NIRS prediction of the three compositions in the flour was applicable as a rapid and simple method. For intact seeds, this method was non-destructive and could preserve its vigorous vitality and could be used in seeds conservation and germplasm resources innovation. In the future, works need to be done to improve the accuracy in the intact seeds.

Key words: Mungbean; NIRS; protein content; amylose; non-destructive technique

绿豆 (*Vigna radiate* (L.) Wilczek) 原产西南 亚^[1], 是世界范围内的主要栽培豆种之一, 在亚洲、

收稿日期: 2013-01-28 修回日期: 2013-02-05 网络出版日期: 2013-08-09

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20130809.1211.008.html>

基金项目: 国家食用豆产业技术体系 (CARS-09-01A)

第一作者研究方向为作物功能成分研究与利用。E-mail: wanglijun8706@hotmail.com

通信作者: 刘三才, 主要从事小麦种质资源和农作物品质分析。E-mail: liusancai@caas.net.cn

非洲和南美洲广泛种植。中国绿豆栽培历史悠久,种质资源丰富,近年来总产量保持在83万~97万t,居世界前列^[2-3]。绿豆除直接作为粮食食用外,还是重要的食品工业原料,可用于制作绿豆芽、绿豆糕和绿豆粉丝等产品。绿豆蛋白质含量为21%~28%,高于主要谷物水稻、小麦和玉米,是植物蛋白的重要来源^[4]。绿豆富含直链淀粉(30%~45%),是制作优质粉丝的上佳原料,用其制作的粉丝具有色泽白亮、蒸煮品质良好、口感好等特点,深受人们的喜爱^[5-6]。对绿豆营养品质的鉴定是绿豆研究和食品加工的重要课题之一。众所周知,农产品和食品品质分析的常规方法费时、费力和成本高。近红外反射光谱技术(NIRS, near-infrared reflectance spectroscopy)是一项新型物理测定技术,具有样品前处理简单、快速,可同时测定一种或多种化学成分含量的特点^[7]。NIRS是近20年来发展最快的光谱分析技术之一,在农业、食品、石油、化工、医药等多个领域得到了广泛的应用^[8-9]。近些年来NIRS技术的无损特点尤其引人注目,特别在对农作物的品质测定完成后,样品不仅无损,而且能保持种子的活力,因此在作物育种、种子质量检测、种质资源创新等领域显示出良好的应用前景^[10-12]。

近红外技术用于测定豆类品质研究已取得一定的进展。P. C. Williams等^[13]以豆类为试验材料,建立了NIRS的预测模型并应用在豆类的蛋白质育种中。N. Berardo等^[14]利用NIRS技术同时测定木豆中蛋白质、有机质等6种组分含量,获得了高的 R^2 值($R^2 > 0.96$)。A. G. Patil等^[15]利用NIRS无损技术测定大豆中脂肪酸,发现不同类型的脂肪酸预测效果有所不同,其中油酸和亚油酸内部检验的 $R^2 > 0.86$,预测效果较好,而另两种脂肪酸的 R^2 分别为0.78和0.63,预测准确性较差。近红外技术在绿豆品质的鉴定尚未见报道。

本研究的目的是评价利用近红外技术预测绿豆主要营养品质:蛋白质、淀粉和直链淀粉含量的潜力及比较绿豆豆粉和绿豆子粒2个样品类型在构建近红外模型时的差异,特别探讨非破坏性样品类型子粒样品的预测力。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料来自中国绿豆核心种质,共计102份。材料在种子来源、农艺特性上具有良好的代表性^[3]。每份材料分为重量约20g的3个试样,其中1个用于

参考方法,2个用于近红外技术分析。用于近红外技术的2个试样中一个为子粒样品,另一个为研磨后的粉状样品。102份材料中,82份用于近红外光谱模型的建立,包括参考方法样品、检验子粒样品、检验豆粉样品,另20份用于外部检验。样品分析前进行清选、80℃烘干4h。样品研磨后过60目筛,塑料袋保存。

1.2 参考方法

绿豆蛋白质含量测定按美国谷物化学学会标准进行^[16],其中蛋白质转换系数为6.25,试验允许相对误差为1.0%。淀粉含量测定按国际标准(ISO 10520)进行,绿豆淀粉的比旋光度为181.0,允许相对误差为1.0%^[17]。直链淀粉含量参照I. Chrastil^[18]推荐的方法进行,测定波长620nm,允许相对误差为1.0%。蛋白质、淀粉和直链淀粉含量以干基的%表示。参考方法每份样品设置平行样。

1.3 近红外法

样品光谱收集:采用Bruker公司生产的MPA近红外光谱仪,带有近红外定量分析漫反射镀金大积分球,自动样品旋转台,50mm石英杯。光谱扫描范围为15000~3300 cm^{-1} ,扫描64次,光谱分辨率为2 cm^{-1} 。每份子粒样品扫描2次,采集各样品的近红外光谱。子粒样品2次扫描的光谱用光谱处理软件合并成平均光谱用于建模^[19]。

分析模型的建立、优化与验证:校正模型用最小二乘(PLS, partial least squares)回归法构建。利用光谱软件OPUS 6.5进行光谱数据的处理和校正方程的建立。具体步骤包括:82份绿豆子粒或豆粉样品光谱数据和参考方法测定数据的导入, Savitzky-Golay积分光滑点数、光谱区间、数据预处理方式和检验模式的选择。本试验选择积分光滑点数为17、光谱区间为15000~3300 cm^{-1} 、10种数学处理方式和交叉检验模式。在执行软件的自动优化功能后,选择SECV最小的组合(包括最佳维数、光谱区间),建立校正方程,以获得与预测能力有关的参数。在PLS校正模型中最优方程的确定以交叉检验的PRESS值(prediction residual error sum of squares)最小为指标,该指标可以避免模型的过度拟合^[20]。校正方程计算所得的统计参数包括交叉检验决定系数(R^2)、交叉检验标准差(SECV)和预测偏差比值(RPD)。RPD定义为参考方法测定值的标准差(SD)与近红外预测模型中的SECV的比值($RPD = SD/SECV$),是运用于评价校正模型优劣程度的一个常用指标。如果RPD的值较高则模型准确预测组分值的概率越高^[21]。本文仅列出最优的模型并

开展讨论。

2 结果与分析

2.1 参考分析

利用参考方法所获得的绿豆蛋白质、淀粉和直链淀粉含量的平均值、最小值、最大值和标准差见表 1。

表 1 参考方法测定的绿豆蛋白质、淀粉和直链淀粉含量的主要统计结果

Table 1 Mean, minimum, maximum, and SD of composition determined in mungbean using the reference method

参数 Parameters	蛋白质含量 (%) Protein content	淀粉含量 (%) Starch content	直链淀粉含量 (%) Amylose content
样品数 No.	80	80	79
平均值 Mean	24.51	49.90	13.56
最小值 Min.	21.04	45.33	8.60
最大值 Max.	27.96	53.76	14.72
标准差 SD	1.517	1.867	1.061

样品数:剔除了异常样品后的样品数量,下同

The number of samples used to obtain the calibration model was after removing the outlier samples, the same as below

2.2 交叉检验

2.2.1 豆粉样品

绿豆豆粉样品每一组分的交叉检验统计参数和优化的数据处理方式、光谱区间列于表 2。校正方程见图 1(a)。依据校正方程所计算的绿豆样品预测值的平均值、最小值、最大值和标准差列于表 3。如表 3 所示,由 NIRS 方法所预测的蛋白质、淀粉和直链淀粉含量的平均值与参考方法相差很小,预测模型中的标准差蛋白质为 1.487、淀粉为 1.792、直链淀粉为 0.995,与参考方法所获得的值相比略低。各组分交叉检验所获得的校正方程的决定系数(R^2)都大于 0.89,SECV 都小于 0.6,其中蛋白质: $R^2 = 0.95$ 、SECV = 0.329,淀粉 $R^2 = 0.90$ 、SECV = 0.576,直链淀粉 $R^2 = 0.89$ 、SECV = 0.307(表 2)。绿豆粉样品中 RPD 值蛋白质、淀粉和直链淀粉都大于 3,分别为 4.61、4.24 和 3.08(表 2)。本试验中交叉检验蛋白质的 R^2 与 P. C. Wiliams 等^[13]报道的豆类所获得的 R^2 值范围(0.89 ~ 0.96)较为一致;淀粉的 R^2 值高于 P. C. Garnsworthy 等^[23]报道的小麦 R^2 值(0.78);直链淀粉的 R^2 值略低于

从表 1 可以看出 3 个主要营养品质的变幅蛋白质含量为 21.04% ~ 27.96%,淀粉含量为 45.33% ~ 53.76%,直链淀粉含量为 8.60% ~ 14.72%。结果显示了绿豆主要营养品质较广泛的变异,与李迺开等^[22]报道的较为一致。从样品中组分的变异性可以判定这批样品适合构建近红外分析模型。

J. G. Wu^[24]报道的水稻直链淀粉的 R^2 值(0.95)。

OPU6.5 提供的数学处理方法和光谱区间选择有助于提高 R^2 和降低 SECV 值,从而优化预测模型。表 2 显示了获得的优化预测模型中相应的光谱数据预处理方法和光谱区间。从表 2 可以看出,绿豆蛋白质和淀粉含量的光谱数据的数据预处理方法都为 1stD,并且有相同的光谱区间(5030 ~ 4600 cm^{-1})。一般认为与蛋白质含量相关的光谱数据的预处理 1stD 法较其他方法好^[11,14],但不同的作物或研究之间光谱区间也有所不同。J. S. Shenk^[25]报道了与大豆蛋白质含量相关的 6 个滤光片波长范围为 1680 ~ 2310 nm 或 5952 ~ 4329 cm^{-1} ,这与本试验结果较为一致,而另一有关向日葵的研究中最优光谱范围为 400 ~ 2500 nm 或 25000 ~ 4000 cm^{-1} 。绿豆直链淀粉的数据预处理为 1stD + SNV,与 J. G. Wu 等^[24]在研究水稻直链淀粉时采用的预处理较为一致。

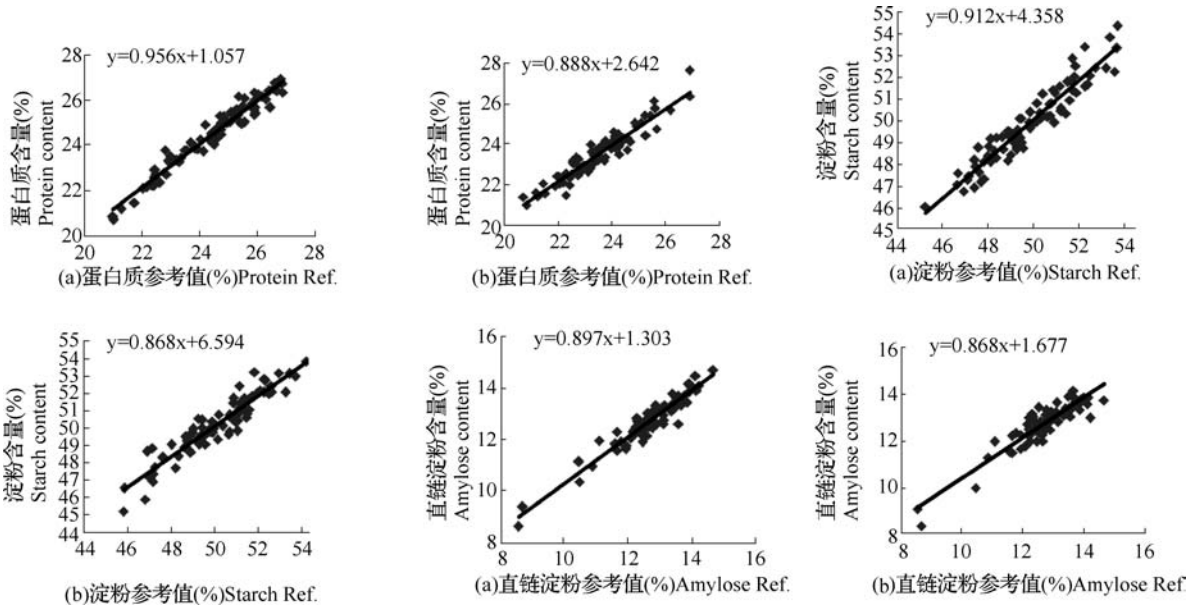
2.2.2 子粒样品 绿豆子粒样品的平均光谱与豆粉样品存在明显的差别(图 2)。因此,分别构建这

表 2 绿豆粉近红外检验模型的统计参数

Table 2 Validation statistical parameters for the NIRS determined in mungbean flour

品质性状 Quality traits	样品数 No.	最佳维数 Rank	处理方法 Pretreatment methods	光谱区间(cm^{-1}) Spectroscopy segments	检验模型 Validation		
					R^2	SECV	RPD
蛋白质含量 (%) Protein content	80	4	一阶导数 1stD	5030 ~ 4600	0.95	0.329	4.61
淀粉含量 (%) Starch content	80	5	一阶导数 1stD	5030 ~ 4600	0.90	0.576	4.24
直链淀粉含量 (%) Amylose content	79	5	一阶导数 + 标准正态变量 1stD + SNV	12489 ~ 6094, 4605 ~ 4243	0.89	0.307	3.08

1stD: First derivative, SNV: Standard normal variable



a: 绿豆粉; b: 绿豆子粒 a: Flour samples, b: Intact seeds

图 1 两种不同样品近红外预测值与参考值的比较

Fig. 1 Comparison of reference values with the values predicted by the calibration model in mungbean for protein, starch, and amylose content

表 3 近红外法测定的绿豆粉的蛋白质、淀粉和直链淀粉含量统计结果

Table 3 Mean, minimum, maximum, and SD of composition obtained in mungbean flour using NIRS

参数 Parameters	蛋白质含量 (%) Protein content	淀粉含量 (%) Starch content	直链淀粉含量 (%) Amylose content
样品数 No.	80	80	79
平均值 Mean	24.53	49.89	13.51
最小值 Min.	20.73	46.02	8.65
最大值 Max.	26.91	54.41	14.71
标准差 SD	1.487	1.792	0.995

2 个样品类型的 NIRS 预测模型是十分必要的。

表 4 显示了绿豆子粒样品各组分交叉检验的统计参数,校对方程见图 1(b)。从表 4 可以看出蛋白质获得高的交叉检验决定系数 ($R^2 = 0.90$) 和低的预测标准偏差 ($SECV = 0.404$)。淀粉和直链淀粉获得较高的 R^2 和 $SECV$ 值,其中淀粉为 $R^2 = 0.88$ 、 $SECV = 0.643$,直链淀粉为 $R^2 = 0.85$ 、 $SECV =$

0.426。3 个组分的预测偏差比值 RPD 大于 2.5。从 R^2 、 $SECV$ 和 RPD 和图 1(b) 所示的校对方程看,绿豆子粒样品构建的 NIRS 模型也具有较好的预测效果。绿豆子粒样品各组分的统计参数 R^2 和 RPD 要低于豆粉样品(表 4), $SECV$ 高于豆粉样品(表 2)。从表 5 可以看出子粒样品的近红外预测蛋白质平均值为 24.01%,比参考方法的测定值和豆粉

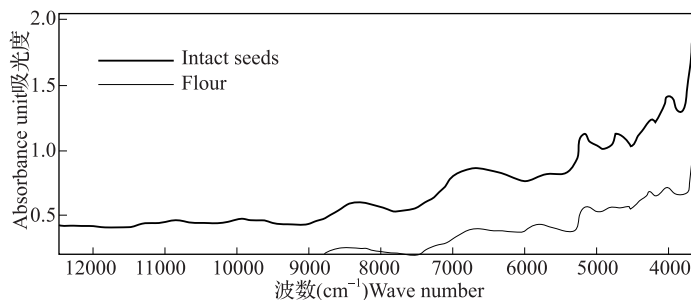


图 2 绿豆子粒和绿豆粉样品平均光谱的比较

Fig. 2 Comparison of average spectra from intact seeds samples and flour samples in mungbean

样品的预测值要低;而淀粉和直链淀粉的预测平均值则比豆粉样品的值略高。表 4 显示的子粒样品各组分的 *RPD* 也低于豆粉样品。这说明子粒样品构建校正模型预测的准确性与豆粉样品相比有一定程度的降低。

从表 4 可以看出子粒样品的近红外优化模型中蛋白质和淀粉的数据预处理方式与豆粉的都是 1stD,但不同的是光谱范围较宽,而且有 2 个区间。V. Roussel 等^[8]报道蛋白质和淀粉的特征光谱区间分别为 6896 ~ 4091 cm^{-1} 和 6896 ~ 4273 cm^{-1} (1450

~ 2444 nm , 1450 ~ 2330 nm),本研究的蛋白质、淀粉及直链淀粉含量有一个光谱区间在此范围,但子粒样品的优化区间还包括了 12489 ~ 7498 cm^{-1} ,其原因并不十分清楚。子粒样品中直链淀粉的数据预处理方式则不同于豆粉样品,为多元散射校正(MSC, multiplicative scatter correction),光谱范围也较宽。MSC 主要是消除颗粒分布不均匀及颗粒大小产生的散射影响^[19],这说明在构建 NIRS 预测模型时样品的物理状态(豆粉或子粒)对光谱与组分关系的影响是不同的。

表 4 绿豆子粒近红外检验模型的统计参数

Table 4 Validation statistical parameters for the NIRS determined in mungbean grains

品质性状	样品数	最佳维数	处理方法	光谱区间(cm^{-1})	检验模型 Validation		
Quality traits	No.	Rank	Pretreatment methods	Spectroscopy segments	R^2	SEC	RPD
蛋白质含量(%) Protein content	80	4	1stD	12489 ~ 7498, 4605 ~ 4243	0.90	0.404	3.23
淀粉含量(%) Starch content	80	5	1stD	12489 ~ 7498, 6102 ~ 4597	0.88	0.643	2.90
直链淀粉含量(%) Amylose content	79	5	MSC	12489 ~ 6094, 4605 ~ 4243	0.85	0.426	2.51

表 5 近红外法测定的绿豆子粒样品的蛋白质、淀粉和直链淀粉含量主要统计结果

Table 5 Mean, minimum, maximum, and SD in calibration set using NIRS in intact seeds of mungbean

参数 Parameters	蛋白质含量(%) Protein content	淀粉含量(%) Starch content	直链淀粉含量(%) Amylose content
样品数 No.	80	80	78
平均值 Mean	24.01	50.08	13.58
最小值 Min.	21.06	45.9	8.341
最大值 Max.	27.68	54.34	14.16
标准差 SD	1.214	1.763	0.987

2.3 外部检验

近红外技术预测模型的稳健性(robustness)利用不属于校正模型样品的外部检验样品进行了检验。首先分别运用绿豆粉样品和子粒样品的校正方程和光谱数据计算各组分的预测值,然后与参考方法的测定值比较,结果见表 6。豆粉样品参考方法和 NIRS 法两者间的平均差异从 1.0%(淀粉)至 1.8%(直链淀粉);子粒样品两

者间的平均差异为 1.1% ~ 3.4%。蛋白质、淀粉和直链淀粉 3 个组分平均值的配对 *t* 检验表明在 0.05 的显著水平下差异不显著。这说明利用两类样品构建的模型可用于绿豆蛋白质、淀粉和直链淀粉的预测。表 6 中参考方法和 NIRS 法两者的差异,随样品类型的不同,组分间有所差异,蛋白质和淀粉含量两类样品显著差异小,但直链淀粉含量差异较大。

表 6 参考方法和近红外法测定值的差异检验

Table 6 Differences test between the reference method and the NIRS method

样品类型	品质性状	显著水平($P < 0.05$)	平均差异(%)	相差范围(%)
Sample type	Quality traits	Significance level	Mean differences	Differences range
绿豆子粒 Grains	蛋白质含量(%) Protein content	0.097	1.7	0.1 ~ 5.5
	淀粉含量(%) Starch content	0.994	1.1	0.1 ~ 3.3
	直链淀粉含量(%) Amylose content	0.228	3.4	0.1 ~ 6.8
绿豆粉 Flour	蛋白质含量(%) Protein content	0.126	1.4	0.1 ~ 4.3
	淀粉含量(%) Starch content	0.367	1.0	0.1 ~ 3.8
	直链淀粉含量(%) Amylose content	0.162	1.8	0.1 ~ 7.5

3 讨论

本试验结果证明了 NIRS 技术预测绿豆的主要

营养组分蛋白质、淀粉和直链淀粉含量的潜在价值。利用 NIRS 技术预测绿豆中蛋白质和淀粉可以获得与参考方法一致的结果,直链淀粉可获得较为一致

的结果。从校正模型的预测参数 R^2 、 SEC 和 PRD 看,绿豆豆粉和子粒两类样品都有较好的预测效果,相比较而言,豆粉样品的预测准确性高于子粒样品,因此,构建的模型都有一定的应用价值。子粒样品模型的构建由于在光谱采集完成后,样品保持无损状态或活种子的状态,因此对于粮食保存、农作物育种、种质资源创新等领域有潜在的,甚至是粉状样品不能替代的作用。

异常样品(outlier)是近红外预测模型的构建过程中经常遇见的一个问题,对其合理的剔除,有利于提高预测模型的预测精度^[26]。本研究在预备试验中对绿豆样品的光谱数据采用主成分分析法初选出82份材料为样品集,利用样品集通过MPA近红外光谱仪分析软件,检查参考方法数据与光谱数据的拟合程度,发现有些材料被保留或剔除时对模型的参数影响较大,蛋白质和淀粉含量剔除了2份,直链淀粉剔除了3份,有效地降低了预测参数 SEC 和提高了 R^2 和 PRD 。形成异常样品的潜在原因很多,参考方法所获得的数据如蛋白质含量高可能是非蛋白氮,而蛋白氮与非蛋白氮对近红外光的反应是不同的;直链淀粉含量的标准分析法受不可控因素影响较大,测定结果的不确定度也较大,而这种不确定度也会传递到近红外预测值。

绿豆子粒样品近红外模型的预测精度低于粉状样品,这一现象可能与子粒样品、粉状样品对近红外光谱的反应不同而形成的试验误差不同有关。祝诗平等^[27]开展了粉末样品颗粒大小对花椒挥发油近红外光谱定量预测的影响研究,发现过120目筛的 R^2 为0.902,而过20目筛的为0.874,说明较粗的颗粒误差较大。本研究中粉状样品通过60目筛较为均匀,而子粒样品颗粒大小不等,这种差异对近红外光的吸收、反射会有所不同。无损分析方法中每一样品子粒的大小不能控制,但构建模型的样品集则应尽可能多地选择颗粒大小不同的样品,以增加样品的代表性。因此,在今后模型更新时对异常样品类型和增加颗粒大小不同的样品应予以足够的注意。

参考文献

- [1] Bisht I S, Mahajan R K, Patel D P. The use of characterisation data to establish the Indian mung bean core collection and assessment of genetic diversity [J]. Genet Resour Crop Ev, 1988, 45: 127-133
- [2] 程须珍, 王素华. 中国绿豆产业发展与科技应用[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2002: 3-8
- [3] 王丽侠, 程须珍, 王素华, 等. 中国绿豆应用型核心样本农艺性状的分析[J]. 植物遗传资源学报, 2009, 10(4): 589-563
- [4] USDA. Nutrient database for standard reference [M]. Washington: US Department of Agriculture, 2001: 14
- [5] Galvez F C F, Resurreccion A V A, Ware G O. Process variables, gelatinized starch and moisture effects on physical properties of mung bean noodles [J]. J Food Sci, 1994, 59: 378-386
- [6] Collado L S, Mabesa L B, Oates C G, et al. Beta-type noodles from heat moisture treated sweet-potato starch [J]. J Food Sci, 2001, 66: 604-609
- [7] Osborne B G, Fearn T, Hindle P H. Practical near infrared spectroscopy with applications in food and beverage analysis [M]. UK: Longman Scientific and Technical, 1993: 227
- [8] Roussel V, Branlard G, Vezine J C, et al. NIRS analysis reveals temporal trends in the chemical composition of French bread wheat accessions cultivated between 1800 and 2000 [J]. J Cereal Sci, 2005, 42: 193-203
- [9] Ceng H Y, He Y. Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality [J]. Trends Food Sci Tech, 2007, 18: 72-83
- [10] Delwiche S R, McKenzie K S, Webb B D. Quality characteristics in rice by near infrared reflectance analysis of whole grain milled samples [J]. Cereal Chem, 1996, 73: 257-263
- [11] Fassio A, Cozzolino D. Non-destructive prediction of chemical composition in sunflower seeds by near infrared spectroscopy [J]. Ind Crop Prod, 2004, 20: 321-329
- [12] Nang H H, Becker H C, Mollers C. Non-destructive analysis of rapeseed quality by NIRS of small seed samples and single seeds [J]. Euphytica, 2007, 153: 7-34
- [13] Williams P C, Stevenson S G, Starkey P M, et al. The application of near infrared reflectance spectroscopy to protein-testing in pulse breeding programs [J]. J Sci Food Agri, 1987, 29: 285-292
- [14] Berardo N, Dzwelab B H, Hove L, et al. Near infrared calibration of chemical constituents of *Cajanus cajan* (pigeon pea) used as forage [J]. Anim Feed Sci Tech, 1997, 69: 201-206
- [15] Patil A G, Oak M D. Nondestructive estimation of fatty acid composition in soybean [*Glycine* (L.) Merrill] seeds using near-infrared transmittance spectroscopy [J]. Food Chem, 2010, 120: 1210-1217
- [16] American Association of Cereal Chemists. AACC 46-10, Crude protein-improved Kjeldahl method [S]. St Paul, Minnesota: American Association of Cereal Chemists, 1999
- [17] International Organization for Standardization. ISO 10520, Native starch-Determination of starch content-Ewers polarimetric method [S]. Switzerland: International Organization for Standardization, 1997
- [18] Christill. Improved colorimetric determination of amylose in starches or flours [J]. Carbohydr Res, 1987, 159: 154-158
- [19] Users manual in OPUS spectroscopic software 6 version [M]. Germany: Bruker Optik GmbH, 2008: 18-19
- [20] Naes T, Isaksson T, Fearn T, et al. A user-friendly guide to multivariate calibration and Classification, NIR Publications [M]. UK: Chichester, 2002: 420
- [21] Williams P C, Norris K. Near-infrared technology in the agricultural and food industries [M], 2ed. St Paul, Minnesota, USA: American Association of Cereal Chemists, 2001: 330
- [22] 李遵开, 张玉良. 粮食作物品质鉴定的优选方法[M]. 北京: 农业出版社, 1991: 113-115
- [23] Garnsworthy P C, Wiseman J, Fegeros K. Prediction of chemical, nutritive and agronomic characteristics of wheat by near infrared spectroscopy [J]. J Agr Sci, 2000, 135: 409-417
- [24] Wu J G, Shi C H. Calibration model optimization for rice cooking characteristics by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) [J]. Food Chem, 2007, 103: 1054-1061
- [25] Shenk J S, Westerhaus M O, Hoover M R. Analysis of forages by infrared reflectance [J]. J Dairy Sci, 1979, 62: 807-812
- [26] 褚小立, 王艳斌, 陆婉珍. 近红外光谱定量校正模型的建立及应用[J]. 理化检验: 化学分册, 2008, 44(8): 796-800
- [27] 祝诗平, 王刚, 杨飞, 等. 粉末样品颗粒大小对花椒挥发油近红外光谱定量预测的影响研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28(4): 775-779