

近红外光谱法快速检测藜麦蛋白含量

张晋^{1,2,3}, 曹晓宁^{1,2,3*}, 田翔^{1,2,3}, 刘思辰^{1,2,3}, 秦慧彬^{1,2,3}, 乔治军^{1,2,3}

(1. 山西农业大学农业基因资源研究中心, 山西太原 030031; 2. 农业部黄土高原作物基因资源与种质创制重点实验室, 山西太原 030031; 3. 杂粮种质资源发掘与遗传改良山西省重点实验室, 山西太原 030031)

摘要 [目的] 建立一种藜麦粗蛋白含量快速、无损、简便的测定方法, 为藜麦的资源评价和品质育种提供技术支持。[方法] 以 100 份藜麦种质资源为材料, 其中 80% 为校正集, 20% 为验证集, 扫描得到藜麦近红外原始光谱, 利用 OPUS/QUAN T5.5 光谱定量分析软件建立藜麦蛋白质含量的快速检测模型。[结果] 采用一阶导数+矢量归一化光谱方法进行预处理, 结合化学方法测定数据建立藜麦粗蛋白近红外定量模型, 校正和预测效果最好, 藜麦粗蛋白近红外定量模型的交叉验证决定系数为 0.918 2, 外部验证决定系数为 0.915 1。[结论] 基于近红外光谱法(NIRS)测定藜麦籽粒的蛋白含量是完全可行的。

关键词 藜麦; 蛋白; 含量; 近红外光谱技术

中图分类号 TS210.7 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2021)09-0175-02

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2021.09.047



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Fast Detection of Protein Content of Quinoa by Near Infrared Spectroscopy

ZHANG Jin^{1,2,3}, CAO Xiao-ning^{1,2,3}, TIAN Xiang^{1,2,3} et al (1. Center for Agricultural Genetic Resources Research, Shanxi Agricultural University, Taiyuan, Shanxi 030031; 2. Key Laboratory of Crop Gene Resources and Genetic Improvement of Germplasm Enhancement on Loess Plateau Ministry of Agriculture, Taiyuan, Shanxi 030031; 3. Shanxi Key Laboratory of Genetic Resources and Genetic Improvement of Minor Crops, Taiyuan, Shanxi 030031)

Abstract [Objectives] In order to provide technical support for quinoa resource evaluation and quality breeding, and establish a fast, non-destructive, and simple method for determining quinoa protein content. [Method] A total of 100 quinoa varieties were selected, which 80% were used as the modeling set and 20% were used as the verification set. We collected 100 the near infrared spectra of quinoa, the OPUS/QUAN T5.5 software were used to preprocess the original near-infrared spectra data after scanning, and established the quantitative prediction model of quinoa kernel protein content. [Result] Through the preprocessing of first derivative and vector normalization spectral method, and set up the near infrared quantitative model of quinoa protein combining with the data of chemical method, whose calibration and prediction effect was best. Cross validation decision coefficient and external validation decision coefficient of protein by near infrared quantitative model were 0.918 2 and 0.915 1. [Conclusion] It is completely feasible to determine the protein content of quinoa grains based on near-infrared spectroscopy (NIRS).

Key words Quinoa; Protein; Content; Near infrared spectroscopy

藜麦(*Chenopodium quinoa* Willd.)原产于南美洲安第斯山地区,有 5 000~7 000 年种植历史^[1-3],具有耐寒、抗旱耐逆、耐盐碱等特性^[4]。由于其营养的均衡性^[5],被联合国粮农组织(FAO)推荐为适宜人类食用的“全营养食品”,在国内受到了越来越多的关注^[6-10]。藜麦籽粒蛋白质含量高^[11],溶解性好,容易被人体吸收利用,属于优质蛋白质^[12],富含多种氨基酸,尤其是植物蛋白中所缺乏的赖氨酸、色氨酸等^[12-13]。因此蛋白质含量作为评价藜麦品质的重要指标,对藜麦资源评价、育种材料的筛选具有重要作用。蛋白质含量的测定一般使用凯氏定氮法、高效液相色谱法^[14],这些方法步骤烦琐、速度慢、费用高、周期长,不适宜批量对藜麦资源品质评价、育种过程中早代材料的快速、无损检测。因此建立一种快速无损检测藜麦蛋白含量的模型和方法,对藜麦种质资源评价鉴定具有重要意义,同时将极大地推进育种进程,提高种质资源的利用效率。

近红外光谱分析技术是近年来发展快速、最引人注目的

光谱分析技术^[15],具有适合多组分测定、分析速度快、测定过程无污染、操作简便、成本低等优点^[16],已成为品质分析的重要手段和发展方向^[17],在玉米、大豆、花生、谷子等作物中均广泛应用^[18-21]。目前关于藜麦籽粒蛋白含量近红外研究较少,曹晓宁等^[22-24]建立了基于近红外光谱法快速检测藜麦脂肪、纤维和淀粉的模型,石振兴等^[25]建立了基于藜麦籽粒的粗蛋白、粗脂肪和淀粉含量近红外预测模型,均未对藜麦籽粒蛋白含量的近红外模型进行研究。该研究基于藜麦籽粒蛋白质含量的真实值,利用 MPA 型傅立叶变换近红外光谱仪和 OPUS 建模软件,建立藜麦蛋白质近红外光谱分析模型,为藜麦品质育种与资源评价提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 试材 以中国农业科学院作物科学研究所外引室以及山西农业大学农业基因资源研究中心提供的 100 份藜麦品种(系)为试验材料。试验所需试剂为无水乙醇、硼酸、氢氧化钠、溴甲酚绿、浓硫酸、甲基红、硫酸铜和硫酸钾。

1.2 仪器 分析天平;电热恒温鼓风干燥箱;旋风磨(Foss Cyclotec1093);MPA 傅立叶变换近红外光谱仪(德国 Bruke 公司);FOSS 消化炉(2012 型);FOSS 全自动凯氏定氮仪(8400 型)。

1.3 试验方法

1.3.1 粗蛋白测定。根据 GB 5511—2008,利用凯氏定氮仪

基金项目 山西省农业科学院特色农业技术攻关项目(YGG17064);山西省农业科学院农业科技创新研究课题(YCX2018D2T03);国家农作物种质资源共享服务平台山西农作物种质资源平台(NICGR-2019-26);山西杂粮产业技术体系(2020-03)。

作者简介 张晋(1984—),男,山西永济人,助理研究员,从事种质资源创新及利用研究。*通信作者,副研究员,博士,硕士生导师,从事种质资源创新利用及抗逆生理生态机制研究。

收稿日期 2020-08-12;修回日期 2020-08-20

计算粗蛋白含量进行藜麦籽粒蛋白含量的测定,每份样品称取2份,每份0.5 g,准确至0.001 g。

1.3.2 近红外光谱的采集。将藜麦样品室温下放置7 d,平衡水分,并去除杂质。将近红外光谱仪器开机预热30 min,开始性能测试和白板参比,把样品装入样品杯(容积25 cm³),每次装样以容积的2/3最佳,并将藜麦籽粒表面刮平。利用近红外光谱仪采取藜麦样品的漫反射光谱扫描光程进行优化和选择,每样品扫描2次并取平均值,工作谱区为4 000~12 000 cm⁻¹。

1.3.3 近红外数学模型的建立。采用光谱定量分析软件和DPS软件,并利用软件中的自动优化功能,筛选建模的最佳光谱预处理方法、谱区范围和主因子数。将藜麦样品数据分为2组:校正集(80%用于建立近红外模型)和验证集(20%用于检验所建模型的精度)。为找到最优建模方法,内部验证采用校正样品集进行,利用建模之外的样品对模型进行外部检验,来确定最优模型。

2 结果与分析

2.1 藜麦原始光谱图与化学值 从图1可以看出,在光谱波段10 000~4 000 cm⁻¹藜麦存在多个吸收峰,其变化趋势一致但是不重合,说明该光谱图质量较高,待测样品的前处理能够达到试验要求;同时样品品质的多样性丰富,近红外光谱图能够覆盖较大范围,可用于快速检测模型的建立。

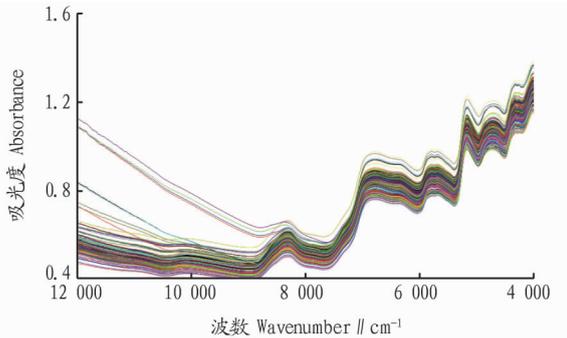


图1 藜麦样品近红外光谱图

Fig. 1 Near-infrared spectrum of quinoa sample

对藜麦样品蛋白含量进行分析,结果发现(表1),藜麦粗蛋白含量是12.92%~15.62%,平均值为14.63%,数据变幅较宽,适合建立近红外分析模型。

表1 校正集和验证集样品中蛋白含量分布

Table 1 The distribution of protein content in calibration set and verification set samples %

样品 Sample	平均值 Mean	最小值 Minimum	最大值 Maximum
校正集 Calibration set	14.63	12.92	15.62
验证集 Verification set	14.52	13.21	15.34

2.2 蛋白模型的建立 利用软件中的自动优化功能,发现采用一阶导数+矢量归一化法进行光谱预处理方法建立的蛋白含量校正模型的校正效果最好,交叉验证决定系数为0.918 2,标准误(RMSECV)为0.155(图2),说明通过此种方法建立的快速检测模型是可行的,可应用于大批量藜麦籽粒

蛋白含量的快速检测。

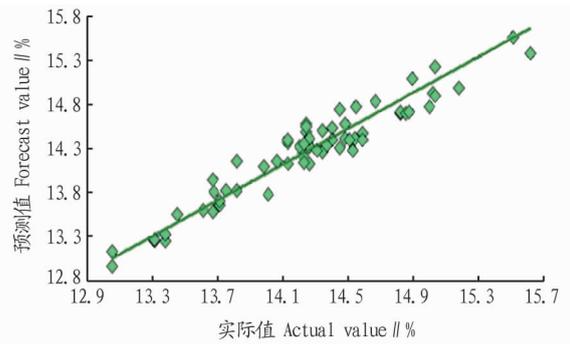


图2 藜麦蛋白含量交叉检验模型

Fig. 2 Cross-check model of quinoa protein content

2.3 藜麦蛋白模型外部检验 利用验证集的20份藜麦样品对该研究所建模型质量(预测效果)进行评价,结果发现,该模型的外部验证决定系数为0.915 1,预测标准误为0.224,由此可见预测值与实际值之间没有显著差异,说明近红外光谱仪测定的藜麦蛋白质含量的结果是可靠的。

3 讨论与结论

近红外光谱分析技术在应用中的准确性受到多种因素的影响^[26]。建标样品的数量和质量是建立快速检测模型的基础,直接影响到结果的准确性。蒋焕煜等^[27]研究发现温度对模型精度有一定的影响,样品的温度在10和20℃下模型的精度较高。王京宇等^[28]研究发现水分含量也会影响利用近红外测定蛋白质含量结果的准确性。样品粒度的变化可以对散射系数和吸光度产生影响,进而影响整个图谱发生变化^[29]。胡新中等^[30]研究发现蛋白质含量与颗粒度、灰分含量和颗粒度呈显著正相关。待测样品的处理和使用及预处理方法的不同也会影响近红外光谱分析结果的准确性^[31]。该研究利用MPA傅立叶变换近红外光谱仪对100份藜麦籽粒样本进行光谱扫描,通过光谱定量分析软件进行光谱预处理、数学方法运算及回归统计分析,建立了藜麦完整籽粒蛋白含量预测模型,决定系数较高、误差小、可靠性较好,但今后的工作中仍需补充藜麦资源种类和数量,对模型进行校正和优化^[32],保证模型的准确性和稳定性。基于此方法建标的藜麦样本是完整的、籽粒无破损,满足了快速、无损检测要求,为藜麦品质的评价指标如氨基酸含量的快速检测奠定了基础。

参考文献

- [1] FAO. Quinoa: An ancient crop to contribute to world food security [R]. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization, 2011.
- [2] IQBAL M J, REDDY O U K, EL-ZIK K M, et al. A genetic bottleneck in the 'evolution under domestication' of upland cotton *Gossypium hirsutum* L. examined using DNA fingerprinting [J]. Theoretical and applied genetics, 2001, 103(4): 547-554.
- [3] 王晨静, 赵习武, 陆国权, 等. 藜麦特性及开发利用研究进展 [J]. 浙江农林大学学报, 2014, 31(2): 296-301.
- [4] JACOBSEN S E, MUJICA A, JENSEN C R. The resistance of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to adverse abiotic factors [J]. Food reviews international, 2003, 19(1/2): 99-109.
- [5] REPO-CARRASCO R, ESPINOZA C, JACOBSEN S E. Nutritional value and use of the Andean crops quinoa (*Chenopodium quinoa*) and kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) [J]. Food reviews international, 2003, 19(1/2): 179-189.

产生开裂的效果待麻秆略微膨胀,表皮有一定外翘时进行去除韧皮部的操作,这样能有效去除韧皮部,防止对试验产生干扰。完成去除韧皮部后再进行烘干至重量不再发生变化、体积不再变大。研磨过筛后继续放入烘箱备用,防止麻秆粉在常态下吸收水分干扰试验。

在品种的选择上选择了现今产量较高的 4 种工业大麻品种,试验结果覆盖面相对足够,并且在选择麻秆的位置也有所考量,选取的位置均为距根部 1 m 处区域,有效地防止了根部和茎部连接处对试验的干扰。

4 结论

该试验利用 ICP-MS 灵敏度高、线性范围宽、分析速度快、操作相对简便的优势测定工业大麻秆芯粉中 5 种重金属含量。工业大麻为一种生物量快、富集性强的物种,因此种植工业大麻也会作为土壤修复的一种手段,这也就导致了可能会有用于土壤修复的工业大麻被滥用的情况,这样在使用前对每批次工业大麻秆的重金属进行测定就很重要。使用该方法可为工业大麻秆芯粉的质量控制提供参考依据。

参考文献

- [1] 李臻,王雁,KWAN PATRICK. 大麻二酚在癫痫治疗中的研究进展[J]. 中华神经科杂志,2019,52(7):586-591.
- [2] 高欣,陈克利,张恒,等. 工业大麻秆芯纤维素吸水树脂快速合成及性能研究[J]. 昆明理工大学学报(自然科学版),2014,39(5):96-100,

108.

- [3] 张建新. 大麻秆芯超细粉体抗老化与微孔物理交联作用[C]//中国工程院化工、冶金与材料工学部第七届学术会议论文集. 北京:中国工程院,2009.
- [4] 李晓平,陈冲. 工业大麻秆的显微构造和纤维形态研究[J]. 纤维素科学与技术,2010,18(3):28-33,38.
- [5] 许艳萍,吕品,张庆澄,等. 不同工业大麻品种对田间 5 种重金属吸收积累特性的比较[J]. 农业资源与环境学报,2020,37(1):106-114.
- [6] 陈炜彬,黄俊生,池泳浩,等. 火焰原子吸收法测定植物叶片中 Pb、Cd、Cu、Zn 含量[J]. 广东微量元素科学,2004,11(7):48-51.
- [7] 赵世恒,王连春,陈健,等. 微波消解-原子荧光法测定樱桃样品中 Hg、As 污染[J]. 现代农业,2020(5):9-10.
- [8] 魏艳. 讨论以 4.00 ug 为标准用极谱法测量液体样中镉含量的适应性[J]. 甘肃冶金,2019,41(5):66-69.
- [9] THOMAS R J. Review of ICP-MS interferences [M]//THOMAS R J. Measuring heavy metal contaminants in cannabis and hemp. Boca Raton: CRC Press,2020.
- [10] 王杰. 大麻秆芯粉生物质橡胶复合材料的制备及结构与性能的研究[D]. 北京:北京化工大学,2011.
- [11] LI X P, WANG S Q, DU G B, et al. Variation in physical and mechanical properties of hemp stalk fibers along height of stem[J]. Industrial crops & products, 2013,42:344-348.
- [12] VÄISÄNEN T, KILPELÄINEN P, KITUNEN V, et al. Effect of steam treatment on the chemical composition of hemp (*Cannabis sativa* L.) and identification of the extracted carbohydrates and other compounds[J]. Industrial crops and products, 2019,131:224-233.
- [13] 周杨,李昱旺,沈成,等. 工业大麻茎秆力学模型的试验分析[J]. 农业工程学报,2016,32(9):22-29.
- [14] 王春红,王利剑,左恒峰,等. 汽车用大麻秆粉/聚乳酸复合材料的制备、成型工艺及性能[J]. 汽车安全与节能学报,2019,10(4):511-517.

(上接第 176 页)

- [6] 周海涛,刘浩,么杨,等. 藜麦在张家口地区试种的表现与评价[J]. 植物遗传资源学报,2014,15(1):222-227.
- [7] 王艳青,李勇军,李春花,等. 藜麦主要农艺性状与单株产量的相关和通径分析[J]. 作物杂志,2019(6):156-161.
- [8] 董艳辉,王育川,温鑫,等. 藜麦育种技术研究进展[J]. 中国种业,2020(1):8-13.
- [9] 梅丽,郭自军,王立臣,等. 15 份藜麦资源在北京地区的生态适应性评价[J]. 中国农业大学学报,2019,24(9):27-36.
- [10] 李信恺,王建丽,尚晨,等. 不同藜麦材料在哈尔滨地区的适应性研究[J]. 草业学报,2019,28(9):202-208.
- [11] 石振兴,杨修仕,么杨,等. 60 份国内外藜麦材料子粒的品质性状分析[J]. 植物遗传资源学报,2017,18(1):88-93.
- [12] VEGA-GÁLVEZ A, MIRANDA M, VERGARA J, et al. Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), an ancient Andean grain: A review[J]. Journal of the science of food and agriculture, 2010,90(15):2541-2547.
- [13] RUALES J, NAIR B M. Nutritional quality of the protein in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds[J]. Plant foods for human nutrition, 1992,42(1):1-11.
- [14] WRIGHT K H, PIKE O A, FAIRBANKS D J, et al. Composition of *Atriplex hortensis*, sweet and bitter *Chenopodium quinoa* seeds[J]. Journal of food science, 2002,67(4):1383-1385.
- [15] 严衍禄,赵龙莲,李军会,等. 现代近红外光谱分析的信息处理技术[J]. 光谱学与光谱分析,2000,20(6):777-780.
- [16] 严衍禄,陈斌,朱大洲,等. 近红外光谱分析的原理、技术与应用[M]. 北京:中国轻工业出版社,2013:1-6.
- [17] 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,2005:1-20.

- [18] 于翠红,樊翠芹,张丽,等. 玉米子粒粗蛋白近红外模型的建立[J]. 河北农业科学,2019,23(6):101-105.
- [19] 李建国,薛晓梦,张照华,等. 单粒花生主要脂肪酸含量近红外预测模型的建立及其应用[J]. 作物学报,2019,45(12):1891-1898.
- [20] 王翠秀,曹见飞,顾振飞,等. 基于近红外光谱大豆蛋白质、脂肪快速无损检测模型的优化构建[J]. 大豆科学,2019,38(6):968-976.
- [21] 田翔,刘思辰,王海岗,等. 近红外漫反射光谱法快速检测谷子蛋白质和淀粉含量[J]. 食品科学,2017,38(16):140-144.
- [22] 曹晓宁,田翔,赵小娟,等. 基于近红外光谱法的藜麦脂肪含量快速检测[J]. 湖北农业科学,2016,55(18):4796-4798.
- [23] 曹晓宁,田翔,王君杰,等. 基于近红外光谱法快速检测藜麦纤维含量[J]. 安徽农业科学,2016,44(15):17-19.
- [24] 曹晓宁,田翔,赵小娟,等. 基于近红外光谱法快速检测藜麦淀粉含量[J]. 江苏农业科学,2017,45(4):147-149.
- [25] 石振兴,朱莹莹,杨修仕,等. 藜麦粉末中主要营养成分近红外预测模型的建立及验证[J]. 粮食与油脂,2017,30(12):55-57.
- [26] 胡超,白史且,张玉,等. 近红外光谱技术(NIRS)及其在牧草品质检测中的应用[J]. 草业与畜牧,2013(4):40-46.
- [27] 蒋焕煜,谢丽娟,彭永石,等. 温度对叶片近红外光谱的影响[J]. 光谱学与光谱分析,2008,28(7):1510-1513.
- [28] 王京宇,郑家丰. 水分含量对近红外测定蛋白质结果的影响[J]. 粮食与饲料工业,2001(10):48-49.
- [29] 赵丽丽,赵龙莲,李军会,等. 傅里叶变换近红外光谱仪扫描条件对数学模型预测精度的影响[J]. 光谱学与光谱分析,2004,24(1):41-44.
- [30] 胡新中,魏益民,张国权,等. 近红外谷物品质分析仪工作稳定性研究[J]. 粮食与饲料工业,2001(6):46-47.
- [31] 刘建学,吴守一,方如明. 大米直链淀粉含量的近红外光谱分析[J]. 农业工程学报,2000,16(3):94-96.
- [32] 于海燕,应义斌,刘燕德. 农产品品质近红外光谱分析结果影响因素研究综述[J]. 农业工程学报,2005,21(11):160-163.