

doi:10.16104/j.issn.1673-1891.2021.03.005

# 饲用高粱 3 个品质性状近红外模型的构建研究

王丽华, 蔡孟禹, 陈 蒙, 李杰勤\*

(安徽科技学院农学院, 安徽 凤阳 233100)

**摘要:**通过化学方法测定了 245 个高粱材料整株的蛋白质、中性洗涤纤维(NDF)、酸性洗涤纤维(ADF)的含量,并采集其整株粉碎样品的近红外光谱,构建了高粱 3 个饲用品质性状的近红外模型。结果表明:这 245 份高粱材料整株的蛋白质均值为 5.97%;变幅为 2.38%~13.48%,NDF 均值为 64.67%;变幅为 40.34%~82.45%,ADF 均值为 32.37%;变幅为 13.25%~52.86%,说明实验材料具有良好的代表性。相关性分析表明蛋白质与 NDF 和 ADF 之间都呈显著负相关,而 NDF 和 ADF 之间呈显著正相关。利用近红外光谱模型软件构建这 3 个饲用品质性状的近红外模型,利用偏最小二乘法和多元信号修正方法建立原始模型。进一步分析表明,优化 6 即二阶导数光谱、未滤噪、未优化波长且手动去除异常数据点的优化可获得 3 个品质性状的最优近红外模型。

**关键词:**高粱;蛋白质;NDF;ADF;近红外模型

**中图分类号:**S548 **文献标志码:**A **文章编号:**1673-1891(2021)03-0022-06

## Development of Near Infrared Model for Three Quality Traits of Feed Sorghum

WANG Lihua, CAI Mengyu, CHEN Meng, LI Jieqin\*

(College of Agriculture, Anhui Science and Technology University, Fengyang, Anhui 233100, China)

**Abstract:**The content of protein, neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) in 245 strains of sorghum were determined by chemical method. The near infrared spectra of whole plant were collected and the near infrared model was developed by the partial least square method (PLS). The results showed that the average protein content was 5.97%, with a variation range of 2.38%~13.48%, the average NDF content was 64.67%, varying between 40.34% and 82.45%, the average ADF content was 32.37% and the amplitude was 13.25%~52.86%. The correlation analysis showed that there was a significant negative correlation between protein and NDF and ADF, while NDF and ADF showed a significant positive correlation. The results showed that the near infrared model had a better predictive performance, and the optimization 6 was the best model for all three quality traits through the optimization study.

**Keywords:**sorghum; protein; neutral detergent fiber (NDF); acid detergent fiber (ADF); Near Infrared Model

## 0 引言

高粱是禾本科(Gramineae)高粱属(*Sorghum bicolor* L.)作物。根据用途不同,可以将高粱分为食用高粱、饲用高粱、能源用高粱、酒用高粱和帚用高粱。随着近年来人们生活水平的提高,饲用高粱在我国的种植面积越来越大,在畜牧业发展中发挥着越来越重要的作用<sup>[1]</sup>。蛋白质含量和纤维素含量是评价饲用高粱品质性状的重要指标。传统化学法测定饲用高粱蛋白质含量和纤维素含量的测定时间长、样品用量大、成本较高。因此,当育种中需

要对大量的材料进行筛选时,传统的化学法则成了提高筛选效率的瓶颈。

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<sup>[2]</sup>,在农业、食品、化工、医药等多个领域得到了广泛应用<sup>[3-7]</sup>。NIRS 技术还具有快速、无损特点,使其在测定完成后,样品无损且保持活性,所以在作物育种、种子质量检测等领域具有良好的应用前景。目前,在高粱的籽粒性状和饲用品质性状等方面也有一些近红外光谱应用的

收稿日期:2021-06-01

基金项目:安徽省高校自然科学基金项目(KJ2019A0811)。

作者简介:王丽华(1980—),女,河北定州人,实验师,硕士,研究方向:作物遗传育种。\*通信作者:李杰勤(1980—),四川宜宾人,教授,博士,研究方向:作物遗传育种。

相关研究。刘敏轩等<sup>[8]</sup>建立了60份高粱及其近缘种籽粒中多酚类物质的近红外光谱模型;邵春莆等<sup>[9]</sup>建立了63份酒用高粱籽粒中总淀粉、直链和支链淀粉含量的近红外光谱模型;王勇生等<sup>[10]</sup>利用110份高粱构建了粗脂肪、粗纤维和灰分的近红外光谱模型。但是,这些研究主要集中在高粱的籽粒性状,饲用品质性状的研究较少,同时使用的材料数量也都较少。因此,建立一个具有广泛适应性的高粱饲用品质性状的近红外模型具有非常重要的意义。

本文利用化学法测定了245个高粱品种(系)全株的蛋白质、中性洗涤纤维(NDF)和酸性洗涤纤维(ADF)含量,并对这些样品进行近红外光谱扫描,构建了高粱3个饲用品质性状的近红外光谱分

析模型,简化了品质性状测定流程,提高了品质性状测定的工作效率,也降低了测定性状所需的费用,为饲用高粱的品质育种奠定了良好的基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料和样品处理

本试验选用国际半干旱热带作物研究所(ICRISAT)提供的高粱微核心种质材料,245个高粱品种(系)名称及来源地如表1所示。在245个高粱品种(系)抽穗前刈割地上部分,每个品系取3株,每个单株分别置于120℃杀青1h,105℃烘干72h,直至质量不发生改变。将烘干后的样品单株粉碎过孔径0.425mm筛。过筛样品用于后续的化学分析和近红外光谱扫描。

表1 245个高粱品种(系)的编号和来源

序号	来源地	序号	来源地	序号	来源地	序号	来源地	序号	来源地
1	USA	50	Japan	99	India	148	South Africa	197	Lesotho
2	USA	51	Pakistan	100	Ethiopia	149	South Africa	198	Lesotho
3	USA	52	South Africa	101	Sudan	150	South Africa	199	Lesotho
4	USA	53	Uganda	102	Sudan	151	Zambia	200	Lesotho
5	USA	54	Uganda	103	Bangladesh	152	Zambia	201	Lesotho
6	India	55	Kenya	104	Botswana	153	Ghana	202	Lesotho
7	India	56	Kenya	105	Botswana	154	Ethiopia	203	South Africa
8	China	57	Kenya	106	Zimbabwe	155	Ethiopia	204	South Africa
9	China	58	Sudan	107	India	156	Rwanda	205	China
10	China	59	Thailand	108	Senegal	157	Mali	206	Zimbabwe
11	India	60	Chad	109	Niger	158	Mali	207	Zimbabwe
12	South Africa	61	Chad	110	Niger	159	Mali	208	Zimbabwe
13	South Africa	62	USA	111	USA	160	Mali	209	Zimbabwe
14	South Africa	63	Ethiopia	112	USA	161	Mali	210	Zimbabwe
15	South Africa	64	Ethiopia	113	USA	162	Mali	211	Zimbabwe
16	Iran	65	Ethiopia	114	USA	163	Togo	212	Zimbabwe
17	Afghanistan	66	Ethiopia	115	USA	164	Benin	213	Zimbabwe
18	South Africa	67	Zimbabwe	116	USA	165	Madagascar	214	Zimbabwe
19	Egypt	68	Sudan	117	USA	166	South Africa	215	China
20	Nigeria	69	Australia	118	USA	167	South Africa	216	China
21	Kenya	70	USA	119	USA	168	South Africa	217	China
22	South Africa	71	Yemen	120	Indonesia	169	South Africa	218	China
23	India	72	Turkey	121	Kenya	170	Sudan	219	China
24	India	73	India	122	Malawi	171	Burkina Faso	220	China
25	India	74	Ethiopia	123	Malawi	172	Sierra Leone	221	China
26	India	75	Nicaragua	124	Syrian Arab	173	Morocco	222	China
27	India	76	Cuba	125	Botswana	174	South Africa	223	Korea
28	India	77	Venezuela	126	Botswana	175	South Africa	224	Korea
29	India	78	Mexico	127	Sri Lanka	176	Yemen	225	Korea
30	India	79	South Africa	128	MYA	177	Yemen	226	Korea
31	India	80	South Africa	129	Somalia	178	Yemen	227	Korea
32	India	81	South Africa	130	Somalia	179	Yemen	228	Cameroon
33	India	82	South Africa	131	Sudan	180	Yemen	229	Cameroon

续表

序号	来源地	序号	来源地	序号	来源地	序号	来源地	序号	来源地
34	India	83	South Africa	132	Zambia	181	Yemen	230	Uganda
35	India	84	Argentins	133	Ethiopia	182	Yemen	231	Uganda
36	India	85	Botswana	134	Ethiopia	183	Yemen	232	Uganda
37	India	86	Cameroon	135	Ethiopia	184	Yemen	233	Burundi
38	India	87	Cameroon	136	Ethiopia	185	Yemen	234	Zaire
39	India	88	Cameroon	137	Ethiopia	186	Swaziland	235	Algeria
40	India	89	Cameroon	138	Gambia	187	Swaziland	236	Yemen
41	India	90	Cameroon	139	Mozambique	188	Swaziland	237	Yemen
42	India	91	Cameroon	140	Yemen	189	Swaziland	238	Yemen
43	Uganda	92	Cameroon	141	Yemen	190	Swaziland	239	India
44	Nigeria	93	Cameroon	142	Tanzania	191	Swaziland	240	India
45	Nigeria	94	Cameroon	143	Tanzania	192	Swaziland	241	Somalia
46	Nigeria	95	Cameroon	144	Tanzania	193	Swaziland	242	Tanzania
47	Nigeria	96	Cameroon	145	India	194	Swaziland	243	Honduras
48	Nigeria	97	India	146	South Africa	195	Lesotho	244	Kenya
49	Nigeria	98	India	147	South Africa	196	Lesotho	245	India

## 1.2 化学分析方法

### 1.2.1 样品处理

称取 1 g 左右样品粉末,记录其质量,放入消化管中。先加少量水润湿,再加入 5 mL 浓硫酸,在消化炉上先进行预热,再将消化炉温度设定在 380 ℃ 进行消煮,时间为 20 min;消煮液冷却后,加入过氧化氢 20 滴,继续预热并消煮;重复 3~4 次,直至液体变为透明,继续加热,将其中的过氧化氢完全受热分解后,冷却并移至 100 mL 容量瓶中,用蒸馏水定容至 100 ml 后装瓶、编号。

### 1.2.2 蛋白质、NDF 和 ADF 质量分数测定

蛋白质含量测定采用全自动连续流动分析仪(Seal AutoAnalyzer AA3);NDF 和 ADF 测定采用全自动纤维分析仪(美国 ANKOMA200i)。

## 1.3 近红外光谱数据采集及模型建立

### 1.3.1 粉末样品的光谱数据采集

试验采用 Antaris II(Thermo Fisher)近红外光谱分析仪。将样品装满旋转样品杯,在 3 999.63 ~ 10 000.00  $\text{cm}^{-1}$  谱区范围扫描 64 次,分辨率设置为 8.0/cm,采集样品的吸收光谱。为了消除空气影响,在扫描样品前扫描背景光谱,扫描次数和样品扫描次数相同。

### 1.3.2 近红外模型的建立和优化

将扫描的光谱数据导入 TQ Analyst 软件中,并在软件中输入化学分析方法所测得蛋白质、NDF 和 ADF 的数据。通过软件设置通用选项为偏最小二乘(PLS)回归,并选择光程类型选项为多元信号修正(MSC)。这是因为粉末样品光谱采集时,由于样品颗粒尺寸、均匀性等的影响,光程无法保持恒定,

故采用 MSC 消除影响。波长设置为原始波长 3 999.63~10 000.00 nm。运行软件建立模型,记录校正标准偏差(RMSEC)及其相关系数、预测标准偏差(RMSEP)及其相关系数和使用因子数。此时建立的模型为原始模型,通过以下几步分别设置不同的优化,记录 RMSEC 及其相关系数、RMSEP 及其相关系数和使用因子数。优化方法如下:

优化 1:选择光谱数据格式为一阶导数光谱。

优化 2:选择光谱数据格式为二阶导数光谱。

优化 3:在二阶导数光谱基础上,选择滤噪方法为 Savitzky - Golay,其 Data points 参数为 7, Polynomial order 参数为 3。

优化 4:在二阶导数光谱基础上,选择滤噪方法为 Norris derivative,其 Segment length 参数为 5, Gap between segments 参数为 5。

优化 5:在二阶导数光谱基础上,不选择滤噪,选择自动优化波长。

优化 6:在模型中观察,手动去除异常数据点,其他同优化 2。

## 1.4 数据的处理

化学分析方法测得的数据导入 SPSS 数据处理软件中,计算数据的平均值,变幅、变异系数及相关系数。

## 2 结果与分析

### 2.1 245 份高粱全株蛋白质、NDF、ADF 质量分数及其相关性

从表 2 可知,245 个高粱全株的这 3 个性状的变异系数较大,分别为 30.47%,11.11%,16.68%,说

明材料间的差异较大,试验材料具有较强的代表性。

表 2 高粱的蛋白质、NDF、ADF 的化学法测定值统计 %

品质性状	均值±标准差	变幅	变异系数
蛋白质	5.97±1.82	2.38~13.48	30.47
NDF	64.67±7.18	40.34~82.45	11.11
ADF	32.37±5.40	13.25~52.86	16.68

进一步对这 3 个性状进行相关性分析,结果表明:蛋白质与 NDF 和 ADF 极显著负相关,NDF 和 ADF 极显著正相关(表 3)。相关性的分析,对于近红外模型的构建有一定的参考价值,可以用于构建模型的结果检验。

表 3 高粱全株蛋白质含量、NDF 和 ADF 间的相关性分析

	蛋白质	NDF	ADF
蛋白质	1		
NDF	-0.262**	1	
ADF	-0.261**	0.875**	1

注:“\*\*”表示在 0.01 水平显著相关。

## 2.2 245 份高粱秸秆品质性状模型的建立、优化及分析

### 2.2.1 近红外光谱优化分析

有应用价值的近红外光谱模型应具有较高的光谱分辨率和灵敏度的特点,并且其相关系数高、预测误差小<sup>[3]</sup>。在未进行任何优化时,生成的光谱图较粗糙(图 1)。从图 1 可以看出,在不同波段有几个较为明显的峰。进一步对原始光谱进行一阶导数和二阶导数优化,对光谱进行一阶导数优化后,相比原始模型,峰的数量和幅度明显增加(图 2a)。对光谱进行二阶导数处理后,峰的数量和幅度进一步增加,但噪声峰也明显增加(图 2b)。进一步滤波处理后(图 2c 和 2d),峰的平滑度增加,噪声明显较小。这说明一阶导数和二阶导数处理后,滤波处理是必不可少的步骤。

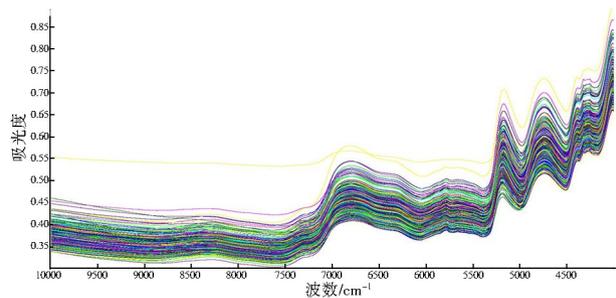
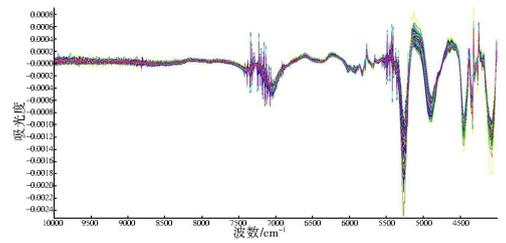


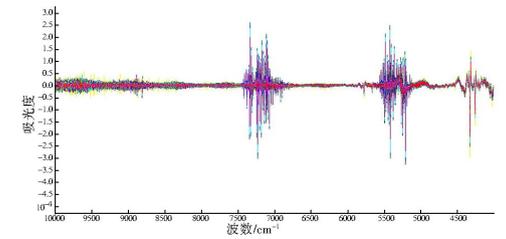
图 1 原始模型光谱

### 2.2.2 蛋白质含量模型建立、优化及分析

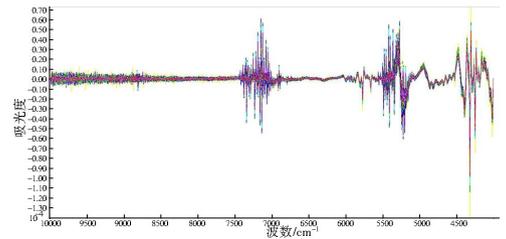
将全株蛋白质含量的数据与不同优化条件的的光谱进行模型构建(表 4)。相比于未优化模型,优化 2,4 和 6 的 RMSEC 都小于未优化模型,而优化



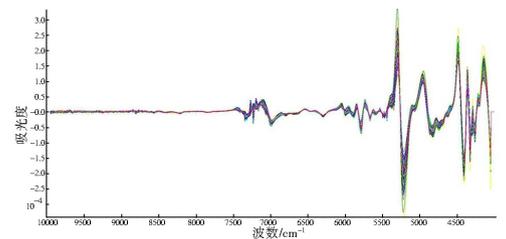
a.一阶导数优化光谱



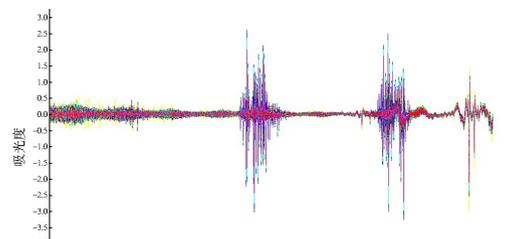
b.二阶导数优化光谱



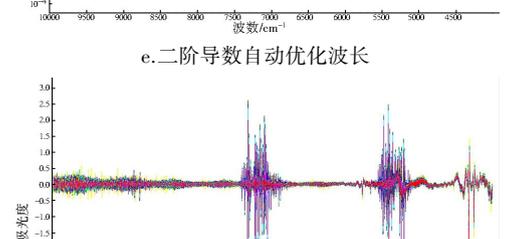
c.二阶导数 SG 滤噪



d.二阶导数 ND 滤噪



e.二阶导数自动优化波长



f.二阶导数去除异常点

图 2 光谱优化图

1,3,5 则大于未优化模型。优化 6 的 RMSEC 最小,为 0.990,相关系数最大,为 0.821 5;其 RMSEP 值也较小。

### 2.2.3 NDF 含量模型建立、优化及分析

将全株 NDF 的数据与不同优化条件的光谱进行模型构建(表 5)。由表 5 可知,这些优化条件下, RMSEC 和 RMSEP 相差不大。说明用全株 NDF 含量数据进行模型构建具有很好的拟合性。在这些

优化条件中,优化 6 的 RMSEC 和 RMSEP 值都最小,而且 RMSEC 相关系数的值也最大,达到 0.905 7;RMSEP 相关系数也较大,为 0.863 4,排第 2 名。这说明,优化 6 是最优的模型。另外,相比于未优化模型,6 个优化模型中只有优化 5 的 RMSEC 略大于未优化模型,这 6 个优化模型的 RMSEP 值都小于未优化模型,而且 RMSEC(除优化 5)和 RMSEP 对应的相关系数都大于未优化模型。

表 4 蛋白质含量模型优化结果对比

优化	波长/cm <sup>-1</sup>	RMSEC	相关系数	RMSEP	相关系数	因子数
未优化	3 999.63~10 000.00	1.09	0.795 8	1.24	0.814 0	8
优化 1	3 999.63~10 000.00	1.11	0.771 6	1.27	0.824 6	6
优化 2	3 999.63~10 000.00	0.995	0.820 2	1.44	0.777 6	6
优化 3	3 999.63~10 000.00	1.18	0.735 3	1.34	0.809 9	4
优化 4	3 999.63~10 000.00	1.06	0.786 4	1.27	0.823 7	7
优化 5	4277.34~4 300.48	1.43	0.571 7	1.74	0.650 8	6
优化 6	3 999.63~10 000.00	0.990	0.821 5	1.44	0.778 9	6

表 5 NDF 含量模型优化结果对比

优化	波长/cm <sup>-1</sup>	RMSEC	相关系数	RMSEP	相关系数	因子数
未优化	3 999.63~10 000.00	0.044 5	0.814 7	0.045 1	0.789 8	5
优化 1	3 999.63~10 000.00	0.039 6	0.856 1	0.042 0	0.837 3	7
优化 2	3 999.63~10 000.00	0.039 5	0.857 0	0.037 0	0.859 7	5
优化 3	3 999.63~10 000.00	0.039 9	0.853 8	0.039 7	0.842 7	5
优化 4	3 999.63~10 000.00	0.039 8	0.854 9	0.037 1	0.873 8	9
优化 5	4 254.20~4 354.48	0.044 7	0.812 9	0.040 5	0.825 9	8
优化 6	3 999.63~10 000.00	0.030 5	0.905 7	0.036 2	0.863 4	6

### 2.2.4 ADF 含量模型建立、优化及分析

将全株 ADF 的数据与不同优化条件的光谱进行模型构建。从表 6 可知, RMSEC 在 6 种优化条件下相差不大。说明用全株 ADF 含量数据进行模型构建具有很好的拟合性。在这些优化条件中,优化

1 和 6 的 RMSEC 小于未优化模型,所有的 RMSEP 都小于未优化模型。相比于优化 1,优化 6 模型的 RMSEP 值更小,而其对应的相关系数也大于优化 1。因此,综合考虑 RMSEC 和 RMSEP,优化 6 是最优模型。

表 6 ADF 含量模型优化结果对比

优化	波长/cm <sup>-1</sup>	RMSEC	相关系数	RMSEP	相关系数	因子数
未优化	3 999.63~10 000.00	0.030 1	0.815 5	0.064 2	0.388 0	6
优化 1	3 999.63~10 000.00	0.026 4	0.861 8	0.063 6	0.445 3	8
优化 2	3 999.63~10 000.00	0.030 3	0.818 1	0.045 0	0.695 2	5
优化 3	3 999.63~10 000.00	0.030 9	0.804 2	0.057 3	0.503 9	6
优化 4	3 999.63~10 000.00	0.031 5	0.795 6	0.059 2	0.461 6	5
优化 5	4 254.20~4 269.63 4 304.34~4 412.33 5 122.01~5 133.58	0.031 1	0.801 8	0.056 0	0.536 3	5
优化 6	3 999.63~10 000.00	0.027 0	0.847 8	0.055 0	0.552 1	5

## 3 讨论与结论

近红外光谱分析是复杂、重叠光谱分析,测定

样品不经预处理,故样品的状态、测定方式以及测定的条件都会影响测定结果<sup>[11]</sup>。因此得到的光谱模型是由样品待测成分、样品背景成分、测量条件、

测定环境等信息变量的复杂参数构成<sup>[12]</sup>。为了构建较为理想的近红外模型,本文选择了245份不同来源的高粱品种(系),其均值、变幅及变异系数说明这些试验材料来源丰富且具有代表性。祝诗平等<sup>[13]</sup>研究发现过孔径0.425 mm筛的样品 $r^2$ 值最高(0.936 4),建模效果最好,本试验样品也选择过40目筛,旨在尽可能保留高粱整株成分,有助于模型构建。

在模型的优化上,光程选择MSC, 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<sup>[14]</sup>,说明样品的物理状态对光谱的扫描影响不同。方彦等<sup>[15]</sup>认为采用二阶导数处理效果最好,其次为一阶导数处理,而三阶导数处理效果最差,本研究中也发现二阶导数光谱可以很好地优化近红外模型,降低RMSEC值,在以后的建模过程中,可以着重使用二阶导数光谱优化;平滑处理是滤除噪声的常见方法,方彦等<sup>[15]</sup>将平滑波长点设定为6,本研究滤噪优化在对比原始模型数据后发现,滤噪

有一定的优化效果,可以为优化模型提供参考,滤噪是为了减弱以至消除各种噪声对光谱信息的影响,但在减弱的过程中也可能会影响到正常的光谱信息;在光波范围优化后,其RMSEC值会有不同程度的改变,但对结果的影响不大;异常样品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<sup>[16]</sup>,本试验中3个饲用品质性状的近红外模型构建都选择了优化6即二阶光谱下,未滤噪优化,光谱范围未优化,手动去除异常样品的模型为最优模型,说明异常样品的剔除对不同品质性状模型的优化具有很好的效果。

综合来看,本研究构建了高粱蛋白质、NDF和ADF的近红外模型,其RMSEC值分别为0.990, 0.030 5, 0.027 0,其RMSEC相关系数分别为0.821 5, 0.905 7, 0.847 8。其值在不同优化中数值最优或相对较优,因此,构建的模型都有一定的应用价值。

#### 参考文献:

- [1] 王晓娜,徐春城,温定英,等.不同测定方法对青贮饲料中NDF和ADF含量的影响[J].草业科学,2012,29(1):144-149.
- [2] 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.
- [3] 李佳佳,洪慧龙,万明月,等.基于近红外光谱的大豆茎秆化学组分含量检测模型构建与应用[J].中国农业科学,2021,54(5):887-900.
- [4] 吴鹏,宋海燕,杨威,等[J].食品工业科技,2020,41(22):227-231.
- [5] 耿锐.近红外光谱分析技术在油品分析中的应用[J].化工设计通讯,2020,46(9):34+69.
- [6] 杨桂玲,范文昌,郭成栓.不同来源陈皮药材的近红外光谱法分析[J].时珍国医国药,2020,31(4):870-871.
- [7] 岑忠用,雷顺新,雷蕾,等.近红外光谱法鉴别6种根茎类中药材[J].华中农业大学学报,2021,6:1-7.
- [8] 刘敏轩,王赞文,韩建国.高粱籽粒中多酚类物质的傅立叶变换近红外光谱分析[J].分析化学,2009,37(9):1275-1280.
- [9] 邵春甫,李长文,王珊,等.近红外光谱应用于高粱中总淀粉、直链淀粉与支链淀粉的定量分析[J].粮油食品科技,2016,24(2):60-64.
- [10] 王勇生,李洁,王博,等.基于近红外光谱扫描技术对高粱中粗脂肪、粗纤维、粗灰分含量的测定方法研究[J].中国粮油学报,2020,35(3):181-185.
- [11] 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.
- [12] 甘莉,孙秀丽,金良王,等.NIRS定量分析油菜种子含油量、蛋白质含量数学模型的创建[J].中国农业科学,2003,36(12):1609-1613.
- [13] 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.
- [14] Users' manual in OPUS spectroscopic software 6 version [Z]. Germany:Bruker Optik GmbH,2008:18-19.
- [15] 方彦.近红外光谱测定玉米蛋白质含量校正模型的建立[J].光谱实验室,2011,28(3):1050-1053.
- [16] 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(8):796-800.