

Metodik för nära infraröd (NIR) analys av mark

Bo Stenberg, Precisionsodling och Pedometri, Institutionen för mark och miljö, SLU, Box 234, 532 23 Skara. Tel: 0511-67276, E-post: bo.stenberg@mark.slu.se

Bakgrund

En aktuell markkarta med jordart är ett mycket bra hjälpmedel för lantbrukaren för att kunna anpassa sina insatser i växtodlingen. Jordarten har stor betydelse för markens funktion som växtplats. Inte minst reglerar den i stor utsträckning vatten- och växtnäringsflöden. T.ex. är benägenheten för läckage och risken för gasformiga förluster via denitrifikationen starkt jordartsberoende. Jordarten karteras i allmänhet med ett prov per två eller tre ha, vilket är för glesst för att ge en uppfattning om jordartsvariationerna i fält. Ett sätt att förbilliga jordartsbestämningen och därmed kunna göra tätare analyser är att använda nära infraröd reflektans (NIR) spektroskopi, som är en mycket billig och snabb metod. Metoden erbjuds idag i viss utsträckning av t.ex. Eurofins för lerhaltsbestämning.

Eftersom NIR-spektrum inte är direkt avläsbart krävs kalibreringar mot kända referensprover analyserade med konventionella metoder. För lerhalt går det alltså att göra generella kalibreringar för hela eller större delar av Sverige. Däremot har det visat sig svårt att med generella kalibreringar bestämma ytterligare jordartsparametrar, t.ex. mullhalt, med enbart NIR-spektrum (780-2500 nm). Det finns dock internationella resultat som tyder på att även mullhalten skulle kunna bestämmas genom att analysera fuktigt prov och genom att inkludera den synliga delen av spektrum (350-780 nm), eller genom att begränsa metoden till lerjord, eftersom det finns indikationer på att hög sandhalt skulle störa analysen.

Ett sätt att ytterligare förbilliga analysen är att utnyttja möjligheten att med NIR göra analyserna direkt i fält. Detta medför naturligtvis ökad osäkerhet i analyserna till följd av varierande och mindre kontrollerbara förhållanden vid analysen. Framförallt kan man förvänta sig störningar från framförallt varierande vattenhalter.

I det nu rapporterade projektet har vi undersökt effekten av att inkludera även det synliga området (Vis; 350-780 nm) för analys av organiskt kol och lerhalt. Vi studerade även hur Vis-NIR analys vid olika standardiserade volymetriska vattenhalter påverkades, liksom efter olika standardiserade förbehandlingar av torra prov. Sandhaltens inverkan på möjligheten att bestämma halten organiskt kol studerades också. Enskilda spektrum studerades för att ge förståelse för hur framför allt vatten påverkar och interagerar med jordart.

Metod, resultat och diskussion är utförligt redovisade i Stenberg (2010) och i det följande lämnas en redogörelse i sammandrag.

Metod

Studien utfördes på 396 arkivjordar som relativt väl representerar svensk åkermark. Valda jordar begränsades dock till mullhalter upp till 12% (7% organiskt kol). Proven härstammar från monitoringprogrammet "Tillståndet i åkermarken" mellan 1988 och 1995 (Eriksson et al., 1997). Proven valdes så att lerhalt och mullhalt var helt oberoende av varandra. Jordproven var redan analyserade för jordart enligt ovanstående publikation.

Vis-NIR analyserades på lab med sammanlagt åtta olika förbehandlingar. I samtliga fall analyserades 40 ml prov som mättes upp i 10 cm vida Petriskålar. Först skakades Petriskålen hastigt i en cirkelrörelse på bordet. Detta skapar på ett enkelt sätt en jämn yta, men orsakar också en skiktning med de grövsta partiklarna överst. Denna behandling kallas *Skakade*. Inför nästa Vis-NIR analys hälldes provet upp på nytt enligt den metod vi normalt använder, dvs lufttorkad, väl blandad och med försiktighet så att storleksskiktning av jordpartiklar, mineralkorn och aggregat, undviks. Provet fördelades jämnt i skålen och plattades till med en pappskiva (*plattade*). Därefter torkades det plattade provet i 35°C under ett dygn innan Vis-NIR analys. Det torkade provet inkuberades därnäst i ett dygn i fuktkammare med 90% relativ luftfuktighet (90% RH). Därefter följde fyra behandlingar med återfuktning genom sekvensiell tillsats av avjoniserat vatten med sprejflaska till volymetriska vattenhalter (θ) om 12,5; 20 och 30%. Efter var och en av dessa tillsatser lämnades proven över natten under lock för att vattnet skall fördelas jämnt i provet. Slutligen tillsattes ytterligare 2 ml vatten med Vis-NIR analys omedelbart efteråt. Detta skapade en *Blöt* yta på somliga, särskilt leriga, prov.

Tabell 1. Beskrivande statistik för samtliga prov samt för undergrupper.

Parameter	Medel	SD	Omfång
Alla prov, n=396			
Organiskt C (%)	3,0	1,6	0,4-6,9
Lerhalt (%)	24	18	0-67
Sandhalt (%)	35	25	1-96
Kalibreringsprov, n=346			
Organiskt C (%)	3,0	1,6	0,4-6,9
Lerhalt (%)	24	18	0-67
Sandhalt (%)	35	25	1-96
Valideringsprov, n=50			
Organiskt C (%)	2,9	1,6	0,8-6,6
Lerhalt (%)	21	17	1-61
Sandhalt (%)	39	24	5-85
0-20% sand, n=148			
Organiskt C (%)	3,3	1,6	0,8-6,9
Lerhalt (%)	41	15	6-67
Sandhalt (%)	10	5	1-19
20-40% sand n=83			
Organiskt C (%)	3,1	1,5	0,8-6,7
Lerhalt (%)	22	10	1-51
Sandhalt (%)	29	6	20-39
40-60% sand, n=81			
Organiskt C (%)	2,9	1,6	0,8-6,9
Lerhalt (%)	13	7	0-30
Sandhalt (%)	50	6	41-59
60-80% sand, n=60			
Organiskt C (%)	2,9	1,8	0,8-6,8
Lerhalt (%)	6	4	0-17
Sandhalt (%)	68	6	60-79
80-100% sand, n=21			
Organiskt C (%)	1,7	1,1	0,4-4,2
Lerhalt (%)	2	2	2-7
Sandhalt (%)	85	4	80-96

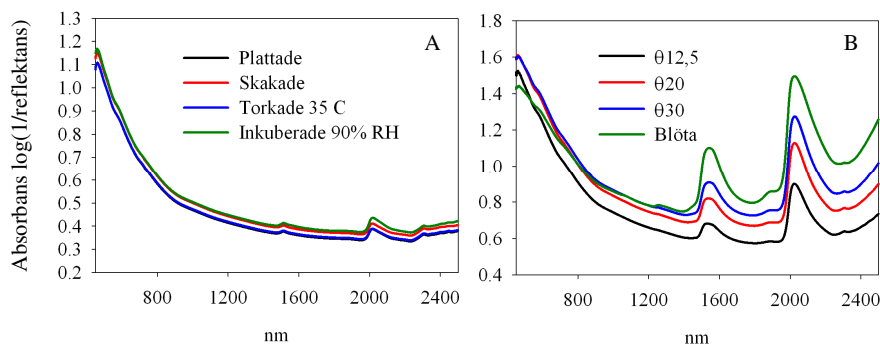
För kalibrering av Vis-NIR och NIR modeller för bestämning av organiskt kol och lerhalt användes Partial Least Squared Regression (PLS) i programvaran Unscrambler (www.camo.com). Av de 396 proven användes ett slumpmässigt urval på 346 till kalibrering och återstående 50 användes för oberoende validering (Tabell 1). För att fastställa antalet

komponenter i kalibreringarna användes korsvalidering (CV). För att studera inflytandet av sandinnehållet delades dessutom proven in i sandklasser enligt tabell 1. I dessa fall användes enbart korsvalidering. Samtliga PLS utfördes på de mätta reflektansspektrumen omräknade till synbar absorbans (Figur 1) transformerade till 1:a derivatan enligt differansmetoden.

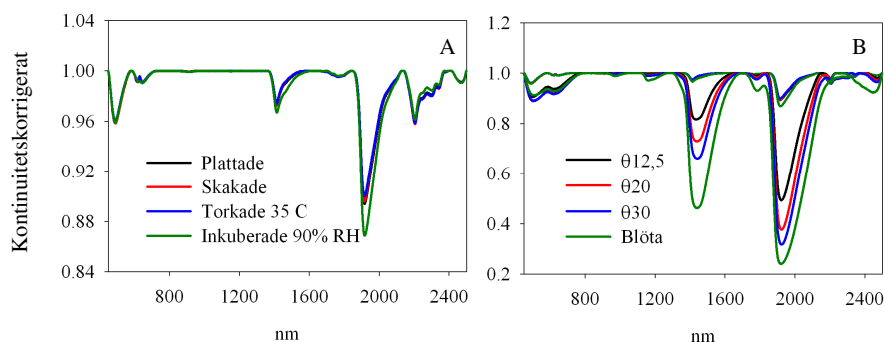
Resultat och diskussion

Behandlingarnas generella effekt på spektrum

De olika torra behandlingarna är alla mycket lika, särskilt *plattade* och 35°C . En viss baslinjeförskjutning, vilken framstår som högre absorbans, visas för *skakade* och $90\% \text{ RH}$ (Figur 1a). Beträffande de skakade är detta enbart synbart då skillnaden sannolikt beror på den grövre strukturen i ytan vilket ökar ljusspridningen. Vid en baslinjekorrektion som framhäver "topparna", s.k. kontinuitetskorregerade ("Continuum removed") spektrum (CR; Figur 2a) är det enbart $90\% \text{ RH}$ som avviker märkbart. För $90\% \text{ RH}$ beror skillnaden på faktisk ökad absorbans pga. en något ökad vattenhalt. Dessa skillnader framstår ännu tydligare för de återfuktade proven (Figur 1b). Mest uppenbar är de djupare och bredare vattentopparna vid 1400 och 1900 nm (Figur 2b).



Figur 1. Vis-NIR absorbansmedelspektrum av alla 396 prov vid respektive behandling. A) Torra behandlingar och B) återfuktade behandlingar.



Figur 2. CR Vis-NIR reflektansmedelspektrum av alla 396 prov vid respektive behandling. A) Torra behandlingar och B) återfuktade behandlingar (de torra från "A" ligger med som jämförelse).

Organiskt kol

Prediktionsförmågan av organiskt kol påverkades mycket lite av de torra behandlingarna (Tabell 2). Enda undantaget var 35°C som i den oberoende valideringen gav något bättre resultat. Eftersom motsvarande förbättring inte kan påvisas i korsvalideringen skulle det kunna vara en tillfällighet. Återfuktning av proven däremot uppvisar en oväntat påtaglig och konsekvent förbättring av resultaten. Vid $\theta 20$ och $\theta 30$ är sänkningen av RMSEP-värdet ca:

30%. För de *blöta* proven är förbättringen inte så stor. Med tanke på hur olika jordarter adsorberar vatten på kort tid är det snarast förvånande att det trots allt blev en liten förbättring. Vis-NIR uppvisar genomgående något bättre resultat än enbart NIR, men för de återfuktade proven är skillnaden liten.

Tabell 2. Korsvalideringsresultat (CV) för kalibreringsdata och kalibreringarnas Prediktionsförmåga (P) på motsvarande valideringsdata. Organiskt C (%) predikterat med våglängdsområdena Vis-NIR och NIR.

Behandling	Kalibreringsset (n=346)			Valideringsset (n=50)	
	F ^a	R ² _{CV}	RMSECV	R ² _P	RMSEP
Vis-NIR					
Plattade	8	0,71	0,87	0,71	0,88
Skakade	9	0,73	0,83	0,72	0,86
35°C	8	0,71	0,85	0,78	0,75
90% RH	9	0,70	0,88	0,70	0,89
θ 12,5	9	0,78	0,74	0,82	0,69
θ 20	9	0,84	0,64	0,85	0,63
θ 30	10	0,86	0,60	0,86	0,62
Blöta	11	0,82	0,67	0,80	0,74
NIR					
Plattade	6	0,68	0,90	0,62	1,00
Skakade	7	0,71	0,86	0,67	0,94
35°C	6	0,69	0,89	0,72	0,85
90% RH	7	0,67	0,91	0,67	0,94
θ 12,5	9	0,80	0,71	0,83	0,66
θ 20	9	0,85	0,62	0,85	0,63
θ 30	8	0,84	0,65	0,84	0,64
Blöta	9	0,80	0,71	0,80	0,72

a) F=antal komponenter i PLS-kalibreringen.

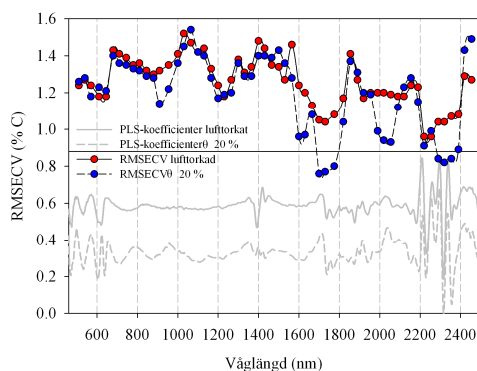
För att i någon mån simulera hur resultaten skulle bli vid analys vid befintlig, varierande, vattenhalt sattes ett dataset samman där de återfuktade behandlingarna bidrog med en fjärdedel av proven vardera. Korsvalidering utfördes sedan i fyra segment. Dels slumpmässigt, dels så att en vattenhalt i taget användes för validering (Tabell 3). I det förra fallet uppnåddes en liten förbättring, men i det senare en kraftig försämring. Detta är mycket intressant eftersom det indikerar att varierande vattenhalt inte behöver vara negativt för prediktionsförmågan bara kalibreringsproven inkluderar en variation av vattenhalter, sannolikt i kombination med en variation av jordarter. Som jämförelse gjordes motsvarande test med de torra behandlingarna, men i det fallet kunde ingen påtaglig skillnad påvisas.

Tabell 3. Korsvalideringsresultat för organiskt C (%) med blandade torra behandlingar och återfuktade behandlingar var för sig. Korsvalidering utförd i segment valda slumpmässigt respektive behandlingsvis. Enbart torra plattade som jämförelse.

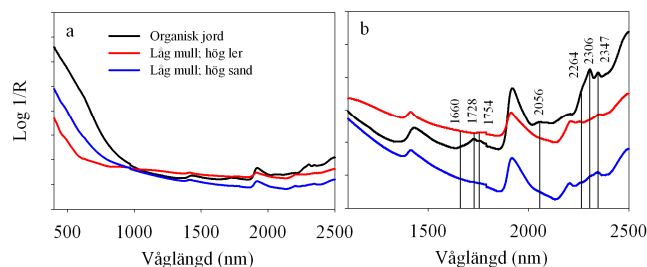
Dataset	F ^a	R ² _{CV}	RMSECV
Torra plattade, slumpmässig CV	8	0,72	0,86
Torra, slumpmässig CV	9	0,72	0,85
Återfuktade, slumpmässig CV	10	0,80	0,71
Torra, behandlingsvis CV	9	0,70	0,88
Återfuktade, behandlingsvis CV	10	0,58	1,0

a) F=antal komponenter i PLS-kalibreringen.

Genom att utföra korsvalideringar på dels *plattade*, dels θ 20 i sekvenser om 100 nm i 30 nm intervall (Figur 4) gavs en uppfattning om var i spektrum förbättrande förändringar skett. I figur 4 framstår då områden kring 1600, 1750, 2050 och 2350 nm som de viktigaste, samtliga i det nära infraröda området. Detta är också områden som ofta anges som absorptionsband för substanser och molekylgrupper i humus vilket illustreras i figur 5.

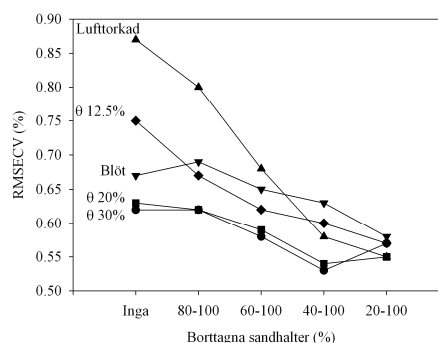
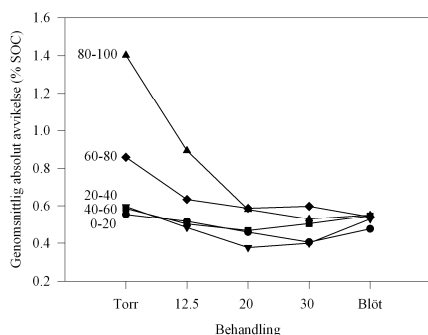


Figur 4. RMSECV för 100 nm sekvenser av spektrum från plattade och θ 20. Den horisontella linjen motsvarar RMSECV för torra Vis-NIR.



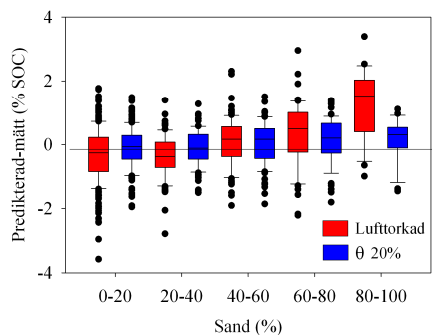
Figur 5. Exempelspektrum som indikerar viktiga absorptionsband för humus.

En delförklaring till förbättringen ges av figur 6 som dels visar att felen i de torraste kalibreringarna främst kan härledas till de sandigaste proven (Figur 6a), dels, följdriktigt, visar att kalibreringarna blir bättre om de begränsas till prover utan mycket sand (Figur 6b).

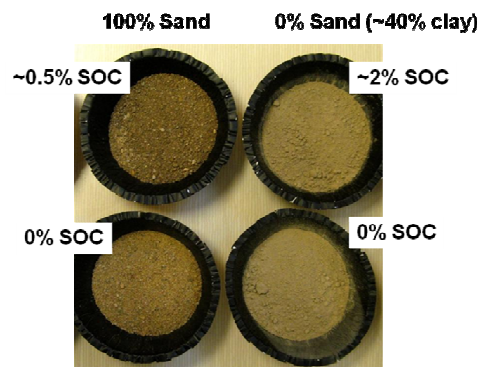


Figur 6. Effekt av sandjordar på bestämning av organiskt C. A) Genomsnittliga prediktionsfel fördelat på sandklasser för de olika behandlingarna samt B) effekt på prediktionsförmågan när sandklasser successivt tas bort från korsvaliderade kalibreringar.

Av figur 7 framgår dessutom att felen inte bara är större i de höga sandklasserna. De är dessutom huvudsakligen orsakade av överprediktion, särskilt för sandhalter över 80% där bara några enstaka prov underpredikteras. Det är dessutom denna snedfördelning som nästan helt elimineras med återfuktning. Överprediktionen förklaras förmodligen med att humusen framträder tydligare i sandjord eftersom den totala ytan av mineralfraktionen är så mycket mindre i sandjord än i lerjord. Fenomenet kan ses med blotta ögat då en ren sand mörknar påtagligt redan vid låga mullhalter, medan färgen på lerjord knappt påverkas alls (Figur 8).

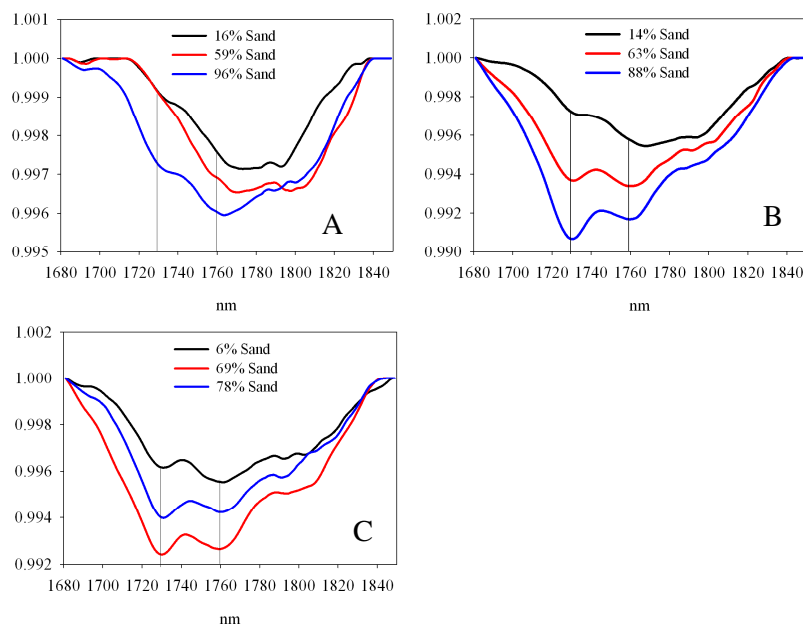


Figur 7. Box-viskar plottar av individuella prediktionsfel i sandklasser. Medelvärdesstreck, box för 10/90 percentil, spröt för 5/95 percentil och punkter för övriga.

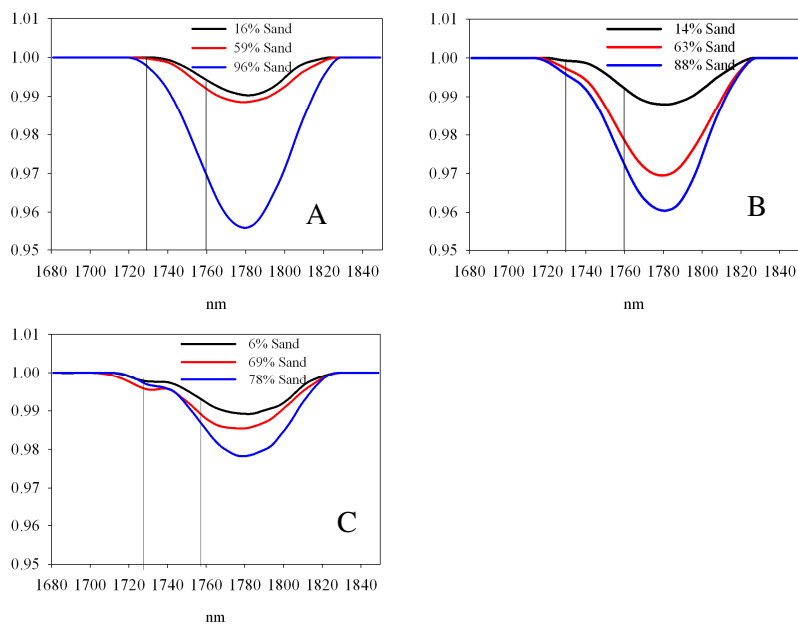


Figur 8. Exempel på färgförändring i sand respektive lerhalt vid förekomst av humus.

Varför överprediktionen i sand försvinner i NIR-området vid återfuktning är däremot svårt att förklara. Genom att titta på individuella kontinuitetskorrigerade spektrum med olika kol- och sandhalter är det tydligt att t.ex. absorptionsbanden vid 1750 nm är betydligt mer markerade vid höga sandhalter i torra prov. Vid endast 0,8% kol är de karaktäristiska banden vid 1730 och 1760 nm tydliga enbart vid den högsta sandhalten (Figur 9). Det bör noteras att dessa absorptionsband är mycket svaga och knappt synliga i ett absorptionsspektrum (Figur 5). Vid $\theta 20$ är den mest framträdande egenskapen en liten vattentopp vid 1780 nm (Figur 10). Denna topp blir bredare och högre ju mer sand pga. den sämre vattenadsorptionen. Vattentoppen döljer helt 1760-bandet, men 1730- bandet framträder som en skuldra som är ungefär lika framträdande för alla sandhalter.



Figur 9. Torra CR spektrum exempelprov med så lika kolhalt som möjligt vid tre sandnivåer så lika som möjligt för respektive kolhalt. A) 0,8% kol, B) 2,9% kol och C) 6,6-6,9% kol.



Figur 10. CR spektrum från exempelprov vid θ 20 med så lika kolhalt som möjligt vid tre sandnivåer så lika som möjligt för respektive kolhalt. A) 0,8% kol, B) 2,9% kol och C) 6,6-6,9% kol.

Ett förslag till förklaring till den uteblivna överprediktionen av återfuktade prov är att den starkare inverkan av vatten vid hög sandhalt motverkar starkare inverkan av organiskt material. Denna förklaring skulle kunna gälla även vid 2050-bandet där vattnets 1900-band breder ut sig, men vid 2350-banden finns ingen specifik absorption av vatten, så där måste förklaringen vara en annan.

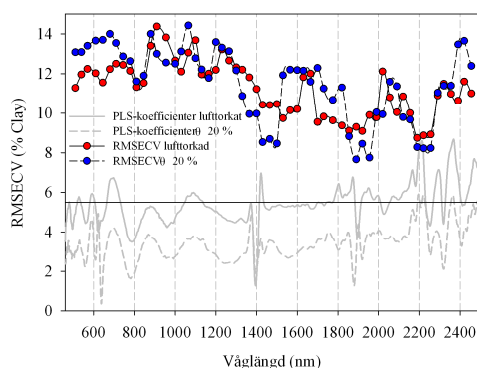
Tabell 4. Korsvalideringsresultat (CV) för kalibreringsdata och kalibreringarnas prediktionsförmåga (P) på motsvarande valideringsdata. Lerhalt (%) predikterat med våglängdsområdena Vis-NIR och NIR.

Behandling	Kalibreringsset (n=346)			Valideringsset (n=50)	
	F ^a	R ² _{CV}	RMSECV	R ² _P	RMSEP
Vis-NIR					
Plattade	7	0,90	5,55	0,89	5,38
Skakade	7	0,89	6,05	0,88	5,79
35°C	7	0,90	5,55	0,86	6,05
90% RH	7	0,90	5,57	0,88	5,62
θ 12,5	9	0,93	4,67	0,92	4,54
θ 20	9	0,93	4,82	0,91	4,94
θ 30	8	0,92	5,15	0,89	5,54
Blöta	9	0,89	6,01	0,86	6,06
NIR					
Plattade	6	0,89	5,84	0,89	5,40
Skakade	6	0,87	6,34	0,87	5,80
35°C	6	0,89	5,80	0,87	5,87
90% RH	6	0,89	5,94	0,88	5,66
θ 12,5	6	0,89	5,92	0,90	5,06
θ 20	8	0,91	5,42	0,90	5,08
θ 30	6	0,90	5,74	0,88	5,79
Blöta	8	0,87	6,52	0,89	5,33

a) F=antal komponenter i PLS-kalibreringen.

Lerhalt

Liksom för kolet förbättrades prediktionsförmågan av lerhalt med återfuktning, men inte lika mycket (ca:15%; Tabell 4). Däremot var det ingen konsekvent skillnad mellan NIR och Vis-NIR. Detta återspeglas också av den sekventiella kalibreringen och korsvalideringen i figur 11 där det synliga området uppvisar mycket låg prediktionsförmåga, särskilt i återfuktat tillstånd. Förbättringen av återfuktning återfinns istället vid vattentopparna vid 1400 och 1900 nm. Förbättringen förklaras sannolikt med den större vattenadsorptionsförmågan hos ler vilket gör att den spektrala absorptionen i dessa band avtar med ökad lerhalt och sambandet stärks. I torra prov absorberar istället vatten på olika sätt associerat till lermineral vid 1400 och 1900 nm, men vid något kortare våglängder än fritt vatten. Absorbansen hos torra prov ökar därför vid dessa band med lerhalten. Vid 2200 nm absorberar hydroxyljoner bundna till aluminium i lermineralen. Fritt vatten absorberar dock inte där, men prediktionsförmågan förbättras ändå vid återfuktning. Ett förslag till förklaring är att 1900-toppen breder ut sig mot detta område vid återfuktning, men att effekten försvagas vid hög lerhalt. Eventuellt samspelar dessa båda effekter av lerhalten vid 2200 nm och förstärker varandra.



Figur 11. RMSECV för 100 nm sekvenser av spektrum från plattade och 20. Den horisontella linjen motsvarar RMSECV för torra Vis-NIR.

Vid simulerad kalibrering av lerhalt med prover vid naturlig vattenhalt påvisades endast små effekter på prediktionsförmågan av lerhalt. Endast den behandlingsvisa korsvalideringen av återfuktade prov uppvisade en märkbar försämring (Tabell 5).

Tabell 5. Korsvalideringsresultat för lerhalt (%) med blandade torra behandlingar och återfuktade behandlingar var för sig. Korsvalidering utförd i segment valda slumpmässigt respektive behandlingsvis. Enbart torra plattade som jämförelse.

Dataset	F ^a	R ² _{CV}	RMSECV
Torra plattade, slumpmässig CV	7	0,90	5,5
Torra, slumpmässig CV	7	0,89	5,7
Återfuktade, slumpmässig CV	9	0,88	6,2
Torra, behandlingsvis CV	7	0,88	6,1
Återfuktade, behandlingsvis CV	8	0,83	7,7

a) F=antal komponenter i PLS-kalibreringen.

Slutsatser

Tidigare indikationer på att organiskt kol och multhalt skulle predikteras bättre om NIR-spektrum förstärks med den synliga delen av spektrum styrktes. Motsvarande fenomen kan inte alls visas för lerhalt, men slutsatsen är att Vis-NIR är att föredra framför enbart NIR.

Vid Vis-NIR analys av torra prov finns det ingen anledning att överdriva standardiseringen av provens förbehandling utan man kan fokusera på en rationell hantering. Det är emellertid fortfarande viktigt att provet är representativt och att avståndet till NIR-proben (dvs. provets tjocklek) är standardiserat även om det inte testades här.

Prov med hög sandhalt (>60 %) tenderar att bli överpredikterade med avseende på organiskt kol i torra prov. Eventuellt kan detta problem överbryggas med någon icke linjär ”data mining” teknik, tex. Neurala nätverk eller regression trees. Detta bör undersökas.

Både organiskt kol och lerhalt blir bättre predikterade vid en standardiserad vattenhalt på 20-30 vol-%. Problemet med överpredikterat organiskt kol försvinner helt. Att återfukta proven är dock inte särskilt tilltalande som metod eftersom proceduren kompliceras, och får man förmoda fördyras, avsevärt även om det säkert går att automatisera i hög grad. Alternativa kalibreringsmetoder är därför att föredra.

I olika vetenskapliga rapporter uttrycks ofta en oro för att varierande vattenhalter i fält skulle orsaka stora problem för analys direkt i fält, även om undantag finns. Den simulering av detta vi gjorde genom att sätta samman ett dataset med blandade vattenhalter visade dock att så inte behöver vara fallet. Det är dock viktigt att kalibreringsproven representerar en spännvidd av vattenhalter för olika jordarter. Eventuellt kan prediktion av organiskt kol t.o.m. vinna på det. Sannolikt skall analys vid vattenmättnad undvikas, men eventuella vattenhaltsgränser återstår att fastställas.

Referenser

- Eriksson, J., Andersson, A. and Andersson, R., 1997. Tillståndet i svensk åkermark. 4778, Naturvårdsverket, Stockholm.
- Stenberg, B., 2010. Effects of soil sample pretreatments and standardised rewetting as interacted with sand classes on Vis-NIR predictions of clay and soil organic carbon. *Geoderma*, 158(1-2): 15-22.

Publikationer inom projektet

Huvudpublikationen som tar upp material och metod i detalj och redovisar en mer djupgående diskussion är:

Stenberg, B., 2010. Effects of soil sample pretreatments and standardised rewetting as interacted with sand classes on Vis-NIR predictions of clay and soil organic carbon. Geoderma, 158(1-2): 15-22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2010.04.008>

Dessutom finns resultaten i någon mån representerade i:

Stenberg, B., Rossel, R.A.V., Mouazen, A.M. and Wetterlind, J., 2010. Visible and Near Infrared Spectroscopy in Soil Science. Advances in Agronomy, Vol 107, 107: 163-215. [http://dx.doi.org/10.1016/S0065-2113\(10\)07005-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0065-2113(10)07005-7)

Båda artiklarna är dessutom parallellpublicerade i SLU's öppna arkiv Epsilon: <http://www.slu.se/en/library/publish/search-the-epsilon-databases-2/>

Resultatredovisning

Resultaten har redovisats muntligt vid två internationella vetenskapliga konferenser. De har mottagits med stort intresse eftersom de till skillnad från det "Black Box och Trial and Error" tänkande som är dominerande i liknande studier ger ny kunskap om hur vatten påverkar NIR-spektrum och vilken betydelse det har för prediktionskapaciteten av markparametrar. Betydelsen för den fortsatta forskningen för fördjupad förståelse inom området och för hur kalibreringar skall utformas och vilka begränsningar som kan förväntas antas vara stor.

Konferenserna var:

Pretreatment of soil samples for reduced Vis-NIR predictions error of soil organic carbon. Oral presentation at the EGU General Assembly, Vienna April 13-18 2008. Ca: 100 åhörare.

The water influence on vis-NIR spectra, a tool for normalizing the matrix heterogeneity between samples. Oral presentation at Quantitative Applications of Soil Spectroscopy, 15-16 April 2010, Potsdam Germany. Ca: 50 åhörare.