

Marcin Chodak*

Zastosowanie spektroskopii w bliskiej podczerwieni (NIR) do oznaczania zawartości C, N, S, P i kationów metali w materii organicznej gleb leśnych

1. Wstęp

Poziomy organiczne (poziomy próchnicy nadkładowej, ektopróchnicy) [16] są jednym z najważniejszych komponentów gleb leśnych. Mogą one zawierać znaczne ilości składników niezbędnych dla wzrostu roślin [15], co jest szczególnie ważne w przypadku gleb mało zasobnych w te składniki [17]. Oprócz składników odżywczych poziomy organiczne mogą akumulować zanieczyszczenia rozprzestrzeniające się drogą powietrzną (np. metale ciężkie). Pomiar stężenia metali ciężkich w poziomach organicznych gleb został zaproponowany jako jedna z metod monitoringu depozycji metali ciężkich [3]. Skład chemiczny materii organicznej poziomów organicznych charakteryzuje się dużą zmiennością przestrzenną oraz profilową [8, 12, 20], dlatego też w przypadku badań wielkoobszarowych do kompleksowego scharakteryzowania jakości poziomów organicznych konieczne jest przeprowadzenie dużej ilości analiz. Aby zmniejszyć koszty wielkoobszarowego monitoringu gleb, potrzebne są szybkie i relatywnie tanie metody analityczne. Jedną z takich metod jest spektroskopia w bliskiej podczerwieni – NIR (ang. *near infrared*).

Spektroskopia NIR jest niedestrukcyjną techniką analityczną znaną z szybkości, dokładności oznaczeń, niskich kosztów i możliwości jednoczesnego oznaczania wielu składników i właściwości badanych materiałów [1]. Wykorzystuje ona promieniowanie w zakresie 750÷2500 nm, które jest absorbowane przez połączenia typu C-H, O-H, N-H, S-H, C-C itp. Składniki gleb nie absorbujące w tym zakresie mogą być oznaczane dzięki ich korelacjom ze składnikami absorbującymi promieniowanie NIR [2]. W ostatnich latach spektroskopia NIR znalazła zastosowanie w badaniach gleboznawczych i ekologicznych. W licznych pracach stwierdzono

* Akademia Górniczo-Hutnicza, Wydział Górnictwa i Geoinżynierii

przydatność NIR do oznaczania zawartości C, N i S, pojemności kationowymiennej, biomasy mikrobiologicznej i aktywności respiracyjnej gleb [6, 13].

Celem niniejszej pracy było ocenienie przydatności spektroskopii NIR do oznaczania zawartości C, N, P, S oraz całkowitych stężeń Na, K, Ca, Mg, Mn, Fe, Al, Zn, Cu, Cd i Pb w poziomach organicznych gleb leśnych.

2. Materiał i metodyka

2.1. Teren badań i pobór prób

Miejsce badań położone było w masywie Solling (Dolna Saksonia, Niemcy). Próbkę próchnicy nadkładowej pobrane zostały pod drzewostanami świerkowymi (*Picea abies* L.), bukowymi (*Fagus sylvatica* L.) i mieszanymi (bukowo-świerkowymi) zlokalizowanymi na lekko nachylonych stokach ($4\pm 7^\circ$) o ekspozycji wschodniej i północno-wschodniej. Miejsca poboru prób położone były na wysokości 400÷490 m n.p.m. w strefie klimatu górskiego (opad średnioroczny 1050 mm, średnia roczna temperatura 6,5°C) [14]. Gleby opróbowanych stanowisk sklasyfikowano jako brunatne i brunatne zbielicowane, rozwinięte na zwietrzałych piaskowcach pokrytych warstwą lessu o miąższości 20÷80 cm. Próchnicę sklasyfikowano jako typowy moder, moder-mor i mor [16]. Pod każdym z drzewostanów pobranych zostało dziesięć rdzeni próchnicznych (średnica 15 cm). Rdzenie te zostały pocięte na warstwy o grubości 1 cm reprezentujące podpoziomy surowinowy (O_i), detrytusowy (O_f) i epihumusowy (O_h). Próbkę ($n = 158$) zostały przesiane (2 mm), wysuszone w 60°C i drobno zmielone.

2.2. Analizy chemiczne

Zawartości C i N oznaczono przy użyciu analizatora automatycznego CHN firmy Vario. Zawartości pozostałych pierwiastków (P, S, Na, K, Ca, Mg, Mn, Fe, Al, Zn, Cu, Cd i Pb) oznaczono metodą ICP-AES (atomowa spektrometria emisyjna z wzbudzeniem plazmowym) po mineralizacji ciśnieniowej w stężonym HNO_3 [11].

2.3. Analizy spektralne

Reflektancja próbek została zmierzona w zakresie 400÷2500 nm (Vis-NIR) przy użyciu spektrofotometru Foss NIRSystems. Reflektancja każdej próbki została zmierzona dwukrotnie, a widmo końcowe było średnią z obu pomiarów. Do dalszej obróbki i przekształcania danych użyto wartości absorbancji (A) obliczonej ze wzoru $A = \log(1/\text{reflektancja})$.

2.4. Zastosowanie spektroskopii NIR do oznaczania zawartości pierwiastków w glebach – kalibracja i walidacja

Spektroskopia NIR jest metodą pośrednią wymagającą dwóch etapów – etapu kalibracji, w którym rozwijane są empiryczne modele (równania) pozwalające na oszacowanie zawartości analizowanych składników w glebie w oparciu o skomplikowane dane spektralne, oraz etapu walidacji, w którym przydatność rozwiniętych równań kalibracyjnych jest testowana przy użyciu niezależnego zestawu próbek.

W opisywanym eksperymencie pobrane próbki zostały losowo podzielone na dwa zestawy o równej liczebności ($n = 79$). Jeden z zestawów (zestaw kalibracyjny) został użyty do rozwinięcia równań kalibracyjnych, natomiast drugi zestaw (walidacyjny) został użyty do przetestowania uzyskanych modeli kalibracyjnych. Do rozwinięcia równań kalibracyjnych została zastosowana zmodyfikowana metoda cząstkowych najmniejszych kwadratów MPLS (*Modified Partial Least Squares*). Metoda MPLS wykorzystuje całą dostępną informację spektralną i jest uważana za metodę najlepiej nadającą się do analizy danych spektralnych [18].

Równania kalibracyjne zostały rozwinięte w oparciu o surowe dane spektralne oraz w oparciu o widma przekształcone. Przekształcenia widm objęły obliczenie pochodnych pierwszego i drugiego rzędu na fragmentach widm o różnej długości oraz wygładzenie widm na fragmentach o różnej długości. Ponieważ optymalny sposób przekształcania widm nie jest znany [7], najlepszy sposób przekształcenia widm (tj. sposób, dzięki któremu można uzyskać najdokładniejsze modele kalibracyjne) został wybrany metodą prób i błędów z zastosowaniem procedury walidacji krzyżowej. Kryterium wyboru optymalnego modelu był najmniejszy błąd standardowy walidacji krzyżowej SEC (*Standard Error of Cross-Validation*) [7]. Najlepsze modele kalibracyjne prezentuje tabela 1. W kolumnie „Przekształcenie” pierwsza liczba oznacza rząd pochodnej, druga – długość segmentu, na którym została policzona pochodna, a trzecia – długość segmentu, na którym widma zostały wygładzone.

Walidacja rozwiniętych modeli kalibracyjnych polegała na analizie regresji pomiędzy wartościami stężeń poszczególnych pierwiastków oznaczonymi metodami standardowymi a wartościami oznaczonymi za pomocą spektroskopii NIR. Do oceny przydatności rozwiniętych równań kalibracyjnych użyto następujących parametrów: współczynnika korelacji (r), współczynnika regresji (a) oraz wielkości RPD wyliczonej jako stosunek odchylenia standardowego w danych uzyskanych metodami standardowymi do błędu standardowego oszacowania SEP (*Standard Error of Prediction*).

Tabela 1. Statystyka kalibracji i walidacji dla rozpatrywanych pierwiastków

Pierwiastek	Kalibracja				Walidacja					
	przekształcenie	rozstęp	SECV	r	a	b	rozstęp	SEP	r	RPD
C [mg g ⁻¹]	2,4,4	122,5÷502,5	26,1	0,95	0,97	1,2	131,9÷503,0	24,7	0,97	4,0
N [mg g ⁻¹]	1,10,5	5,6÷22,8	1,69	0,93	0,99	0,0	6,0÷23,4	1,66	0,91	2,3
P [mg g ⁻¹]	2,4,4	0,48÷1,15	0,09	0,81	0,96	0,0	0,57÷1,19	0,10	0,71	1,4
S [mg g ⁻¹]	1,10,5	0,75÷2,71	0,26	0,90	0,98	0,0	0,97÷2,72	0,18	0,91	2,3
Na [mg g ⁻¹]	2,10,10	0,06÷0,25	0,02	0,93	1,01	0,0	0,06÷0,24	0,02	0,91	2,2
K [mg g ⁻¹]	2,10,10	0,64÷4,99	0,34	0,96	1,02	0,0	0,71÷4,50	0,32	0,94	2,9
Ca [mg g ⁻¹]	1,4,4,	0,51÷9,16	1,35	0,84	1,05	0,0	0,63÷9,31	1,13	0,81	1,7
Mg [mg g ⁻¹]	2,10,10	0,29÷2,06	0,21	0,83	1,01	0,0	0,28÷2,86	0,24	0,78	1,5
Mn [mg g ⁻¹]	2,4,4	0,51÷9,16	0,36	0,90	1,38	0,0	0,03÷2,14	0,21	0,80	1,8
Fe [mg g ⁻¹]	2,20,10	0,60÷8,78	0,82	0,93	0,94	0,0	0,74÷8,93	0,82	0,90	2,2
Al [mg g ⁻¹]	2,20,10	0,7÷20,7	1,1	0,98	1,00	0,0	1,0÷20,8	1,33	0,96	3,7
Zn [mg kg ⁻¹]	2,4,4	23,1÷113,7	15,0	0,82	0,97	0,0	31,8÷105,8	12,6	0,69	1,3
Cu [mg kg ⁻¹]	2,4,4	10,2÷54,7	9,7	0,87	1,02	-0,8	6,4÷52,2	5,2	0,85	1,6
Cd [mg kg ⁻¹]	2,4,4	0,05÷0,81	0,09	0,85	0,99	-0,01	0,05÷0,67	0,08	0,85	1,7
Pb [mg kg ⁻¹]	1,20,10	28,8÷621,8	65,2	0,93	1,01	0,0	32,1÷561,6	52,5	0,88	2,0

Jednostki podane w pierwszej kolumnie odnoszą się do rozstępów analizowanych pierwiastków, wartości błęd standardowego walidacji krzyżowej (SECV), wartości błęd standardowego oznaczenia (SEP) oraz intersepcji (b). W kolumnie „Przekształcenie” pierwsza liczba oznacza rząd pochodnej, druga długość segmentu, na którym została policzona pochodna, a trzecia długość segmentu, na którym widma zostały wygładzone. RPD jest stosunkiem odchylenia standardowego w danych uzyskanych metodami standardowymi do SEP.

Wartość SEP wyliczona została z wzoru

$$SEP = ((n - 1)^{-1} \sum_{i=1...n} (y_i - x_i)^2)^{0,5},$$

gdzie:

- n – liczba próbek w zestawie walidacyjnym,
- y_i – wartość oznaczona metodą standardową,
- x_i – wartość oznaczona metodą spektroskopii NIR.

Zastosowano następujące kryteria przydatności rozwiniętych równań kalibracyjnych:

- współczynnik korelacji $r \geq 0,95$, współczynnik regresji $1,05 \geq a \geq 0,95$ – oznaczenie bardzo dobre;
- $r = 0,90 \div 0,94$, $a = 0,90 \div 1,10$ – oznaczenie dobre;
- $r \geq 0,80$, $a = 0,80 \div 1,20$ – oznaczenie satysfakcjonujące.

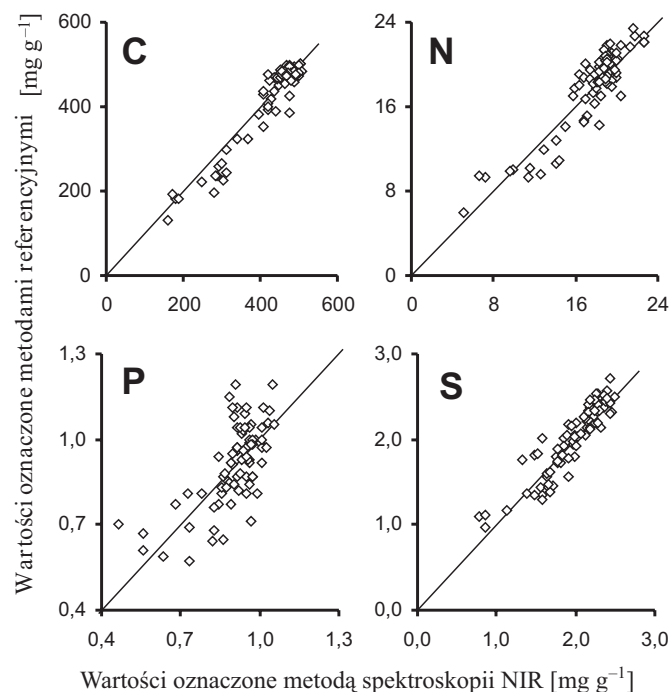
Wartości $r < 0,80$ i $a > 1,20$ lub $a < 0,80$ uznano za niesatysfakcjonujące. Wartości $RPD > 2,0$ charakteryzowały modele przydatne do oznaczeń ilościowych, $RPD = 1,4 \div 2,0$ to modele nadające się do zgrubnego szacowania, natomiast $RPD < 1,4$ wskazywało na niską dokładność oznaczeń NIR, nie nadającą się do analiz ilościowych [4].

3. Wyniki i dyskusja

Równania kalibracyjne pozwalające na co najmniej satysfakcjonujące oznaczenia zostały rozwinięte dla wszystkich rozpatrywanych pierwiastków ($r \geq 0,81$; $a = 0,94 \div 1,05$) z wyjątkiem Mn ($r = 0,90$; $a = 1,38$). Wartości SECV były niewielkie w porównaniu z rozstępem wartości analizowanych pierwiastków, co wskazuje na potencjalną przydatność rozwiniętych modeli do analiz ilościowych.

Walidacja rozwiniętych modeli kalibracyjnych wykazała, że spektroskopia NIR umożliwia bardzo dokładne oznaczenie zawartości C ($r = 0,97$; $a = 1,05$; $RPD = 4,0$) oraz dokładne oznaczenie zawartości N i S ($r = 0,91$ dla obu pierwiastków; $a = 1,03$ i $1,00$ odpowiednio dla N i S; $RPD = 2,3$ dla obu pierwiastków – tab. 1, rys. 1). Zdolność spektroskopii NIR do oznaczania C, N i S w roślinach, materii organicznej gleb oraz w glebach była opisywana przez wielu autorów [7, 9, 13]. Wyniki przedstawione w niniejszej pracy potwierdzają przydatność spektroskopii NIR do oznaczania zawartości tych pierwiastków i wskazują na jej użyteczność w badaniach wielkoobszarowych.

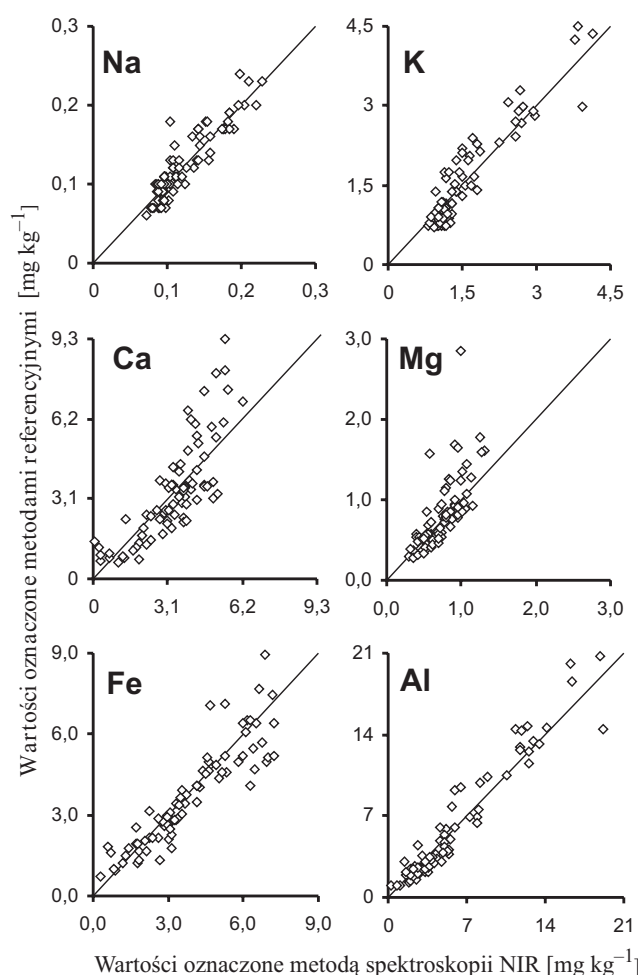
Parametry statystyczne uzyskane w etapie walidacji równań kalibracyjnych rozwiniętych do oznaczania P ($r = 0,71$; $a = 0,67$; $RPD = 1,4$) sugerują niewielką przydatność spektroskopii NIR do oznaczania zawartości tego pierwiastka w próbkach materii organicznej.



Rys. 1. Walidacja spektroskopii NIR. Analiza regresji wartości zmierzonych metodami referencyjnymi i oznaczonych metodą spektroskopii NIR dla C, N, P i S. Linia ciągła wskazuje wartości 1:1

Jednakże w innych pracach stwierdzono zdolność spektroskopii NIR do oznaczania zawartości tego pierwiastka w poziomach organicznych i materiałach roślinnych [5, 10]. Połączenia P nie absorbują promieniowania w zakresie NIR, dlatego do oznaczania zawartości P wykorzystuje się wtórne zależności pomiędzy zawartością P a zawartościami C, N i S [10]. Stąd oznaczenia P przy użyciu spektroskopii NIR są z reguły mniej dokładne niż oznaczenia C, N i S. Niepowodzenie w oznaczaniu P w niniejszym eksperymencie mogło wynikać ze zbyt małej ilości próbek dostępnych do kalibracji. Chodak i inni [5], wykazali przydatność spektroskopii NIR do oznaczania P w materii organicznej w eksperymencie, w którym do rozwinięcia równań kalibracyjnych użyto znacznie większej liczby próbek ($n = 195$). Liczba próbek konieczna do rozwinięcia skutecznych modeli kalibracyjnych jest różna dla różnych pierwiastków. Shepherd i Walsh [19] stwierdzili, że dla niektórych właściwości gleby już niewielka liczba próbek dostępnych do kalibracji pozwala na rozwinięcie dobrych modeli, podczas gdy dla innych właściwości gleby liczba próbek kalibracyjnych musi być znacznie większa. Uzyskane wyniki wskazują, że zastosowanie spektroskopii NIR do oznaczania zawartości P może wymagać kalibracji przy użyciu dużej liczby próbek.

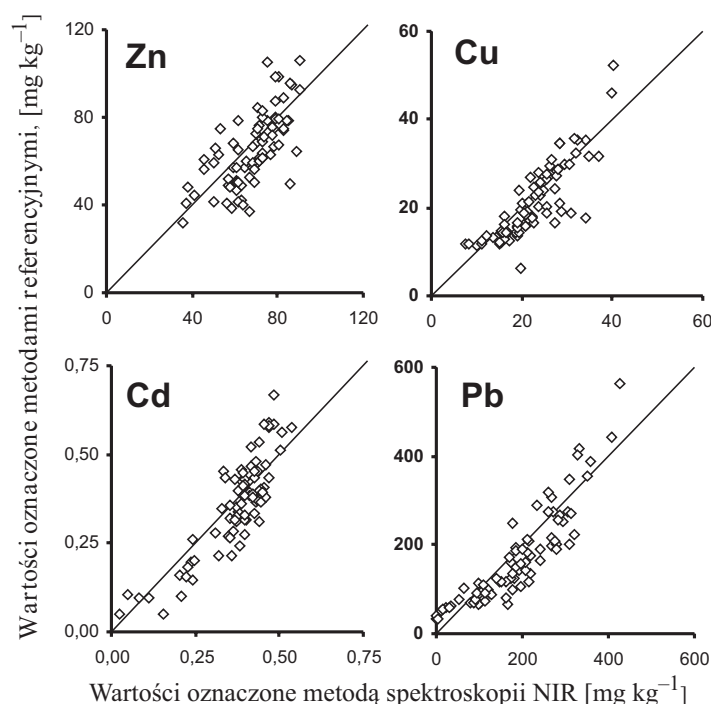
Spektroskopia NIR pozwoliła na oznaczenie zawartości Na, K, Fe i Al z dokładnością wystarczającą do oznaczeń ilościowych w badaniach wielkoobszarowych ($r = 0,90 \pm 0,94$; $a = 0,89 \pm 1,10$; $RPD \geq 2,2$). Modele uzyskane dla Ca i Mn nadały się jedynie do zgrubnego szacowania zawartości tych pierwiastków w materii organicznej, natomiast w przypadku Mg uzyskane równania kalibracyjne nie pozwoliły na oznaczenia ilościowe. Błąd w oznaczaniu Ca i Mg był największy dla próbek o najwyższej zawartości tych pierwiastków. W próbkach tych zawartości Ca i Mg oznaczone za pomocą spektroskopii NIR były wyraźnie niedoszacowane (rys. 2).



Rys. 2. Walidacja spektroskopii NIR. Analiza regresji wartości zmierzonych metodami referencyjnymi i oznaczonych metodą spektroskopii NIR dla Na, K, Ca, Mg, Fe i Al. Linia ciągła wskazuje wartości 1:1

Niepowodzenie w oznaczaniu Ca i Mg wynikało prawdopodobnie z obecności próbek pochodzących ze stanowisk nawożonych dolomitą. Po usunięciu próbek pobranych w drzewostanach dolomitowanych z zestawu kalibracyjnego i walidacyjnego uzyskano równania kalibracyjne pozwalające na dokładniejsze oszacowanie zawartości Ca i Mg w analizowanych próbkach (Ca: $r = 0,85$; $a = 0,94$; SEP = $0,67 \text{ mg g}^{-1}$; RPD = 2,0; Mg: $r = 0,83$; $a = 1,07$; SEP = $0,16 \text{ mg g}^{-1}$; RPD = 1,8; $n = 65$ dla obu pierwiastków).

Spektroskopia NIR pozwoliła na dokładne oznaczenie zawartości Pb ($r = 0,88$; $a = 0,94$; RPD = 2,0). Modele kalibracyjne dla Cu i Cd pozwoliły osiągnąć dokładność wystarczającą do zgrubnego szacowania zawartości tych pierwiastków (wartości RPD = 1,6 i 1,7 odpowiednio dla Cu i Cd), jakkolwiek w przypadku Cu wystąpiło kilka obserwacji nietypowych, w których oszacowania były mniej dokładne (rys. 3). W przypadku Zn, pomimo uzyskania potencjalnie przydatnych modeli kalibracyjnych, oszacowania w etapie walidacji nie były wystarczająco dokładne ($r = 0,69$; RPD = 1,3).



Rys. 3. Walidacja spektroskopii NIR. Analiza regresji wartości zmierzonych metodami referencyjnymi i oznaczonych metodą spektroskopii NIR dla Zn, Cu, Cd i Pb. Linia ciągła wskazuje wartości 1:1

4. Podsumowanie i uwagi końcowe

Prezentowane wyniki wskazują, że spektroskopia NIR może być metodą przydatną w monitoringu jakości materii organicznej gleb. Pozwala ona na oszacowanie zawartości licznych pierwiastków w badanych materiałach z dokładnością wystarczającą dla badań wielkoobszarowych. Analiza NIR jest metodą tanią, umożliwiającą wykonanie w krótkim czasie dużej liczby analiz. Należy jednak pamiętać, że metoda ta nie może zastąpić standardowych metod chemicznych, które niezbędne są na etapie kalibracji. Ponadto, z uwagi na konieczność wykonania dość dużej liczby oznaczeń metodami referencyjnymi oraz niższą w porównaniu z metodami standardowymi precyzję oznaczeń, zastosowanie spektroskopii NIR jest uzasadnione jedynie w badaniach materii organicznej gleb prowadzonych na szeroką skalę. W badaniach takich spektroskopia NIR stanowić może doskonałe uzupełnienie metod standardowych, pozwalając na znacznie dokładniejsze oszacowanie rozpatrywanych właściwości materii organicznej gleb na znacznych obszarach.

Literatura

- [1] Batten G.D.: *An appreciation of the contribution of NIR to agriculture*. Journal of Near Infrared Spectroscopy, 6, 1998, 105–114
- [2] Ben-Dor E., Banin A.: *Near infrared analysis (NIR) as a method to simultaneously evaluate spectral featureless constituents in soils*. Soil Science, 159, 1995, 259–270
- [3] Brumelis G.L., Lapina O., Nikodemus O., Tabors G.: *Use of the O horizon of forest soils in monitoring metal deposition in Latvia*. Water Air and Soil Pollution, 135, 2002, 291–309
- [4] Chang C-W., Laird D.A.: *Near-infrared reflectance spectroscopic analysis of soil C and N*. Soil Science, 167, 2002, 110–116
- [5] Chodak M., Ludwig B., Khanna P., Beese F.: *Use of near infrared spectroscopy to determine biological and chemical characteristics of organic layers under spruce and beech stands*. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 165, 2002, 27–34
- [6] Chodak M., Khanna P., Horwath B., Beese F.: *Near infrared spectroscopy for determination of total and exchangeable cations in geologically heterogeneous forest soils*. Journal of Near Infrared Spectroscopy (w druku)
- [7] Cofteaux M.M., Berg B., Rovira P.: *Near infrared reflectance spectroscopy for determination of organic matter fractions including microbial biomass in coniferous forest soils*. Soil Biology and Biochemistry, 35, 2003, 1587–1600
- [8] Fournier R.E., Morrison I.K., Hopkin A.A.: *Short range variability of soil chemistry in three acid soils in Ontario, Canada*. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 25, 1994, 3069–3082

- [9] Fystro G.: *The prediction of C and N content and their potential mineralisation in heterogenous soil samples using Vis-NIR spectroscopy and comparative methods*. Plant and Soil, 246, 2002, 139–149
- [10] Gillon D., Houssard C., Joffre R.: *Using near-infrared reflectance spectroscopy to predict carbon, nitrogen and phosphorus content in heterogeneous plant material*. Oecologia, 118, 1999, 173–182
- [11] Heinrichs H., Brumsack N., Loftfield N., König N.: *Verbessertes Druckaufschlußsystem für biologische anaorganische Materialien*. Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde, 149, 1986, 350–353
- [12] Ilvesniemi H.: *Spatial and temporal variation of soil chemical characteristics in the pine sites in southern Finland*. Silva Fennica, 25, 1991, 99–108
- [13] Ludwig B., Khanna P.K., Bauhus J., Hopmans P.: *Near infrared spectroscopy of forest soils to determine chemical and biological properties related to soil sustainability*. Forest Ecology and Management, 171, 2002, 121–132
- [14] NMELF (Niedersächsisches Ministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten). *Waldentwicklung Solling*. Fachgutachten. 1996
- [15] Prescott C.E., Maynard D.G., Laiho R.: *Humus in northern forests: friend or foe?* Forest Ecology and Management, 133, 2000, 23–36
- [16] *Roczniki Gleboznawcze*, 40, 1989
- [17] Rode M.W.: *The interaction between organic layer and forest growth and forest development on former heathland*. Forest Ecology and Management, 114, 1999, 117–127
- [18] Shenk J.S., Westerhaus M.O.: *Near infrared reflectance analysis with single and multiproduct calibrations*. Crop Science, 33, 1993, 582–584
- [19] Shepherd K.D., Walsh M.G.: *Development of reflectance spectral libraries for characterization of soil properties*. Soil Science Society of America Journal, 2002, 66, 988–998
- [20] Wessel W.W., Tietema A.: *Metal distribution across different pools in the organic layer of a forest under acid deposition and its consequences for metal dynamics*. Plant and Soil, 171, 1995, 341–350