

857

2006-2006

תקופת המחקר:

277-0046-06

קוד מחקר:

Subject: NIR SPECTROSCOPY IN RANGE SCIENCES

שם המחקר: שמוש בספקטרוסקופיה בתחום
NIR במדעי המרעה

Principal investigator: YAN LANDAU

חוקר ראשי: סרגי-יאן לנדאו

Cooperative investigator: DANI BARKAI, DORIT
KAVAVIA, RACHEL GABRIELI, LEVANA DVASHחוקרים שותפים: דני ברקאי, דורית כבביה,
רחל גבריאלי, לבנה דבש

Institute: Agricultural Research Organization (A.R.O)

מוסד: מינהל המחקר החקלאי, ת.ד. 6 בית דגן
50250תקציר

בדו"ח הנוכחי, אנו מתארים שני כיולים חדשים לטכנולוגיית NIRS במעבדת גדי"ש שיועמדו לרשות חוקרי המרעה והרעיה. תכולת ליגנין (H_2SO_4) היא תכונה חשובה של צמחים, מפני שהיא קשורה לנעכלות צמחים עבור בע"ח הקובעת את הערך האנרגטי. יצרנו קובץ דוגמאות הכולל שחתות של דגנים וקטניות (14), מרעה טבעי של מידגה (35) וכרי דשא (46) בשלבים פנולוגיים שונים וגרעינים (4). הדוגמאות כללו ליגנין 0.28 בין ל-6.85% מהחומר היבש. מאפייני הכיול טובים ($SECV=0.59\%$, $R^2=0.95$) כדי להרחיב את הערך הסיסטמי של מחקרי מרעה, החלנו, בשיטוף עם מעבדת שירות שדה גילת, החלנו בכיולי NIRS של תכונות קרקע: Ph , EC , $N-NO_3$, K , P , OM . זאת, בדוגמאות קרקע שמקורן במידגה (לס-הול) ורמת הנדיב (טרה רוסה). ערכי R^2 היו 0.99, 0.82, 0.95, 0.33, 0.83, 0.94 ערכי $SECV$ היו 0.24%, 3.8 ח"מ, 21.3, 2.2 ח"מ, 0.17 Ds/m , 0.12 pH . נראה כי יש לכיולי NIRS של חומר אורגני, K , וחומציות פוטנציאל לשמש במדעי המרעה. כבר נאספו קרקעות חול (ניצנים) ורנדזינה (ניר ישראל) לאימות הכיולים.

ד"ר' ביניים לקק"ל: תוכנית 06-0046-277

שימוש בספקטרוסקופיה בתחום NIR במדעי המרעה

NIRS-aided methods in range science

ע"י

המח' למשאבי טבע וגד"ש, המכון לגד"ש וגן, מינהל המחקר החקלאי, בית
דגן 50250

י. לנדאן, ל. דבש

S. Landau, L. Dvash, Department of Natural Resources and Agronomy,
Institute of Field and Garden Crops, ARO, Bet Dagan, 50250

vclandau@agri.gov.il

דצמבר 2006

הממצאים בד"ר' זה הנם תוצאות ניסויים ואינם מהווים המלצות לחקלאים

התימת החוקר

תקציר

בד"ח הנוכחי, אנו מתארים שני כיוולים חדשים לטכנולוגיית NIRS במעבדת גד"ש שיועמדו לרשות חוקרי המרעה והרעיה. תכולת ליגנין (H_2SO_4) היא תכונה חשובה של צמחים, מפני שהיא קשורה לנעכלות צמחים עבור בע"ח הקובעת את הערך האנרגטי. יצרנו קובץ דוגמאות הכולל שחתות של דגנים וקטניות (14), מרעה טבעי של מיגדה (35) וכרי דשא (46) בשלבים פנולוגיים שונים וגרעינים (4). הדוגמאות כללו ליגנין 0.28 בין ל-6.85% מהחומר היבש. מאפייני הכיול טובים ($SEC\% = 0.59$, $R^2 = 0.95$). כדי להרחיב את הערך הסיסטמי של מחקרי מרעה, החלטנו בשיטוף עם מעבדת שירות שדה גילת, החלטנו בכיולי NIRS של תכונות קרקע: pH, EC, N-NO₃, K, P, OM (רומה). ערכי R^2 היו: 0.99, 0.82, 0.95, 0.33, 0.83, 0.94. ערכי SEC% היו 0.24, 3.8 ח"מ, 21.3 ח"מ, 2.2 ח"מ, 0.17 dS/m, 0.12 יח' pH. נראה כי יש לכיולי NIRS של חומר אורגני, K, וחומציות פוטנציאל לשמש במדעי המרעה. כבר נאספו קרקעות חול (ניצנים) ורנדזינה (ניר ישראל) לאימות הכיולים.

מבוא

בדיקות הרכב כימי ב-NIRS (Near Infrared Spectrometry) מבוסס על העובדה כי החזר האנרגיה בתחום 1100 עד 2500 ננומטר שונה במולקולות בעלות קשרים אורגניים (CN, OH, CH) שונים. המידע נגזר מוויברציות של אטומי מימן הקשורים לפחמן וחמצן. כל דבר המשפיע על חוזק קשרי המימן, ז"א, סוג הקשרים הכימיים, המסתכם במרכיבים כימיים משאיר חותם ספקטראלי המפוענח ע"י מחשב בפחות מדקה (Norris et al., 1976). קביעת הרכב כימי ב-NIRS מחייבת רק ייבוש וסחינה של הדוגמאות. מכאן, שעלותו נמוכה יותר. עובדה זאת הייתה המניע העיקרי של המחקר הנוכחי. יתרונותיה נוספים של שיטה זו הם בכך שלאחר שנבנתה משוואת כיול למרכיב מסוים, ניתן לקחת כל דוגמא ולקבל תוצאה ללא צורך בחומרים כימיים. תוצאות הבדיקה בשיטת NIRS מתקבלות תוך מספר שניות, אין הרס של הדוגמא כמו בשיטות אחרות, כך שניתן לחזור על אותה אנליזה בשלב מאוחר יותר.

עיקרי הניסויים: כיוולים חדשים ב-2005

1. ליגנין H_2SO_4

א. כימיה רטובה

הליגנין מדוגמאות צומח לאחר המסה ב-ADF (ז"א, אחרי המסת ח"י בדטרגנט חומצי כמתואר ב-Goering and Van Soest (1987). השארית עובדה עם חומצה גופריתנית 72%. שחתות של דגנים וקטניות (14), מרעה טבעי של מיגדה (35) וכרי דשא (46) בשלבים פנולוגיים שונים וגרעינים (4) שימשו לחישוב ריכוז ליגנין. הדוגמאות כללו ליגנין 0.28 בין ל-6.85% מהחומר היבש.

ב. NIRS

NIRS מאחר ושיטת NIRS הנה שיטה בלתי ישירה, ישנם מספר שלבים הכרחיים שבעזרתם ניתן לבנות משוואות כיול המאפשרות למכשיר ה-NIR לקשר בין נתוני הספקטראליים של חומר מסוים לבין מרכיביו הכימיים. השלבים הם:

- איסוף דוגמאות המייצגות את אוכלוסיית המטרה
- אנליזה כימית שלהן לצורך קבלת נתוני reference.
- סריקת הדוגמאות במכשיר NIR בטווח שבין 2498nm – 1100.
- טיפול מקדים בגרפים הספקטראליים בכדי לנטרל השפעות כגון רטיבות, גודל חלקיק ופיזור אור (light scattering) העלולות לעוות את הספקטרה הרצויה.
- בניית משוואת כיול ע"י מודל הכיול מתאים.
- אימות (validation) משוואת הכיול ע"י מגוון דוגמאות שעברו אנליזה כימית בשיטות קלאסיות ומשמשות לצורך זה.
- לאחר ביצוע השלבים הללו ניתן לסרוק דוגמאות בלתי ידועות ולקבל נתונים על המרכיב הרצוי ע"י בדיקה פשוטה בספקטרומטר בתחום ה-NIR.

הדוגמאות נסרקו בספקטרופוטומטר מתוצרת (Tecator, Hoganas, Foss NIRSystems 5000 Sweden) בתחום אורכי הגל שבין 1,108nm ל- 2,498nm. במרווחים של 2nm. חישוב הבליעה (Absorption)

נעשה על בסיס המשוואה $A = \log(1/R)$.

על מנת לנטרל השפעות הנובעות מרטיבות, גודל חלקיק ופיזור אור (light scattering) העלולות לעוות את הספקטרה הרצויה, קיימות מספר שיטות לטיפול מתמטי בנתונים הספקטראליים. בניסוי זה השתמשנו בשיטת SNV (Standard Normal Variate) ו-de-trend (Barnes et 1989) בשילוב של גזירה מתמטית בנגזרת ראשונה או שנייה. דוגמאות חריגות אותרו בעזרת 2 מאפיינים: (H-outliers; T-outliers). T-outliers אלה דוגמאות בעלות הפרש גדול בין הערך המצוי שלה (reference value) לערך החזוי. הסרת דוגמא כזו משלב בניית משוואת הכיול הנה דרך אחת לשפר את דיוק הכיול, אך עם זאת לא בהכרח שיתקבל שיפור באיכות החיזוי של משוואת הכיול בחיזוי של דוגמאות בלתי ידועות. H-outlier הנה דוגמא בעלת בליעה ספקטראלית מאוד שונה מהבליעה הספקטראלית הממוצעת (של שאר הדוגמאות). דוגמאות כזו עלולות להשפיע באופן ניכר על מודל הכיול. לכן יש לבדוק אם הבליעה השונה הינה תוצאה של טעות. באם זו טעות יש להוציאה מכלל הדוגמאות כדי לא לפגוע בדיוק של הכיול. באם הבליעה השונה באופן חריג אינה תוצאה של טעות, ע"י השארתה, ישנה אפשרות להרחיב את טווח השימוש בכיול ה"ל" (Shenk et al, 1995). סולקו חריגים בעלי T ו-H העולים על 1.5 ו-2.5, בהתאמה.

ההתאמה בין Reference values לבין ערכים ספקטראליים נעשתה בשיטת Modified Partial Least Squares לצורך בניית משוואת כיול השתמשנו בתוכנת ISI (Shenk and Westerhaus, 1989).

שני קריטריונים שימשו לקביעת איכות של משוואות כיוול: קוויות (הנאמדת ע"י החלק היחסי של השונות בנתונים המצויים (reference data) המוסברת ע"י משוואת הכיוול, R^2 ומהימנות הנאמדת ע"י שגיאת התקן של האימות המוצלב (Standard error of cross-validation-SECV). באימות שנעשה בשיטת Cross validation תוכנת WINISI חילקה את הדוגמאות לסטים פנימיים שחלקם שימשו לכיוול וחלקם לאימות, לסרוגין. אופן המהימנות SECV היא שונות ההפרשים בין ערכים חזויים וערכים מצויים כאשר המשוואה מיושמת על הסט של דוגמאות לאימות שלא נטל חלק בכיוול.

התוצאות מובאות בטבלה 1: ניתן לחזות ליגנין במהימנות של 0.6%.

טבלה 1: ביצועי כיוול של ליגנין (H_2SO_4) ב-NIRS.

Constituent	Type	N	Mean	SD	SEC	RSQ	SECV
ADL%	1	89	3.1139	2.4176	0.5238	0.9531	0.5897

2. תכונות קרקע

מקור דוגמאות הקרקע היה במיגדה (לס-חול, 59) ורמת הנדיב (סרה רוסה, 49).

א. כימיה רטובה

pH – נבדק ישירות בעיסה רוויה של קרקע (saturated soil).

EC – נבדק במיצוי עיסה רוויה (saturated soil extract) ונמדד ביחידות dS/m דציסימנס למטר.

$N-NO_3$ ואשלגן – נבדקים במיצוי של הקרקע בתמיסת סידן כלורי ע"י ריאקצית צבע

(קולורומטרית) בשיטת NAS.

P – נבדק במיצוי אולסן (במקטע הזמין לצמח) בתמיסת נתון ביקרבונט.

חומר אורגני – נבדק בשיטה של שריפה רטובה (חימצון עם חומצה כרומית).

ב. NIRS

ראה 1.1

טבלה 2: ביצועי כיוול של תכונות קרקע ב-NIRS.

Constituent	N	Mean	SD	SEC	RSQ	SECV	Maths*
pH	100	7.223	0.4261	0.1059	0.9382	0.1203	2
EC, dS/m	95	1.2333	0.3606	0.1304	0.8693	0.1545	1
N mg/kg	89	3.9427	2.2132	1.4989	0.5413	1.7721	1
P mg/kg	94	11.1713	4.9548	2.002	0.8367	3.841	1
K mg/kg	100	103.313	49.863	10.9493	0.9518	21.3587	2
OM%	93	2.1165	1.9292	0.1581	0.9933	0.1709	1

הכיוול לחומר אורגני טוב ומאפשר מהימנות של 0.17% בתחום של עד 6%. גם כיוול ה-pH טוב: מהימנויות של 0.12 יחידות pH. הכיוול של K קוי אולם שגיאת התקן של האימות המוצלב (אמזן למהימנות) גבוהה מדי (21 ד"מ). לא נראה כי יש סיכוי לקבוע $\text{NO}_3\text{-N}$ בקרקע בעזרת NIRS. לגבי P ו-EC, לא ניתן עדיין לקבוע את פוטנציאל השיטה ויש להרחיב את השונוות הספקטראלית.

דיון

התוצאות לגבי היכולת של NIRS בחיזוי ליגנין (ADF) מתאימות לדווחי הספרות (Brinkmann et al., 2002). בתחום 9-47%, מהימנות הכיוול הייתה 1.33%. דעות חוקרים חלוקות לגבי הצידוק שבשימוש ב-NIRS לבדיקות קרקע. זאת, מפני שרק קשרים אורגניים "נראים" בתחום ה-NIR ויסודות רבים נמצאים בקרקע בצורה מינראלית. לגבי חומר אורגני בקרקע, מיגבלה זו לא קיימת וקיימת הסכמה שד"א בקרקע נקבע בהצלחה ע"י NIRS (Salgo et al., 1998; Reeves et al., 1999). בתחום תכולות ד"א דומה לשלנו, מהימנות החיזוי הייתה 0.28% בהונגריה (Salgo et al., 1998). Reeves et al., 1999 ואחרים אחריו דווחו על הצלחה בחיזוי סה"כ N בקרקע. בניגוד, החנקן המינראלי הנקבע באופן שגרתי במעבדת גילת לא יכול להקבע ע"י NIRS. לגבי K, הראו Confalioni et al. (2001) קוויות של 0.70 ו-SECV של 5.8 בתחום 30-72 ד"מ. ה-SECV בעבודה הנוכחית גבוה פי 4 ומעלה סימן שאלה על ישימות הכיוול. לגבי P, אותם חוקרים דווחו על קוויות ומהימנות דומות לשלנו והסיקו על סיכוי ישימות נמוכה. לגבי חומציות הקרקע, בארה"ב Reeves et al., 1999 הראו כי ניתן לחזות חומציות בקרקעות במהימנות של 0.2%. נראה בסיכון כי רק כיוולים לד"א בקרקע וחומציות סיכוי ליישום מהיר.

ספרות מצוטטת

- Barnes, R.J., Dhanoa, M.S., Lister, S.J., 1989. Standard normal variate transformation and de-trending of near-infrared diffuse reflectance spectra. *App. Spectr.* 43, 772-777.
- Brinkmann, K., Blaschke, L., Polle, A. 2002. Comparisons of different methods for lignin determination as a basis for calibration of NIRS and implications of lignoproteins. *J. Chem. Ecol.*, 28, 2483-2501
- Confalioni, M., Fornasier, F., Ursino, A., Boccardi, F., Pintus, B., Odoardi, M., 2001. The potential of NIRS as a tool for the chemical characterisation of agricultural soils. *J. Near Infrared Spectrosc.*, 9, 121-131.

- Goering, H.K., Van Soest, P.J., 1987. Forage Fiber analyses (Apparatus, Reagents, Procedures, and some Applications). USDA. Jacket no. 387-598.
- Norris, K.H., Barnes, R.F., Moore, J.E., Shenk, J.S., 1976. Predicting forage quality by infrared reflectance spectroscopy. *J. Anim. Sci.* 43, 889-897.
- Reeves, J. B., MaCarty, G.W., Meisinger, J.J., 1999. Near infrared reflectance spectroscopy for the analysis of agricultural soils. *J. Near Infrared Spectrosc.*, 7, 179-193.
- Salgo, A., Nagy, J., Tarnoy, J., Marth, P., Palmai, O., Szabo-Kele, 1998. Characterisation of soils by the near-infrared technique. *J. Near Infrared Spectrosc.*, 6, 199-203.
- Shenk, J.S., 1989. Monitoring analysis results. P.27-28/ in: Maren, G.C., Shenk, J.S. and Barton II, F.E. (eds). Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS): Analysis of forage quality, USDA Agr. Handb. No.643.
- Shenk, J.S. and Westerhaus, M.O., 1994. The application of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to forage analysis. In: Fahey, G.C., Jr Collins, M., Mertens, D.R. and Moser, L.E. (eds) *Forage quality, evaluation, and utilization*, American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA, pp. 406-449.

סיכום עם שאלות מנחות

מסדות המחקר לתקופת הד"ח תוך התייחסות לתוכניות העבודה. הוספת כיולים למגוון הרחב של כיולי NIRS הזמינים במכון לגז"ש. כיול ליגנין בצמחים דרוש לחוקרי מספוא כדי לאשש את הערך של מספוא. כיולי תכונות קרקע דרושים לחוקרי מרעה וגז"ש לשם הבנת תהליכי דישון ופוריות קרקע.
עיקרי הניסויים והתוצאות שהושגו בתקופת הד"ח. הוקמו שני כיולים: בוצעו כיולי NIRS מצליחים לליגנין בצומח, ח. אורגני וחומציות בקרקע.
המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. לא ניתן לבצע כיולי NIRS המחייבים בדיקות כימיות רבות של 100 דוגמאות ב-10,000 ₪.
הבעיות שנתקו לפיתרון. הרחבת השונות הספקטראלי של הקרקע לשיפור היציבות של הכיולים
הפצת מידע: אני ממליץ לפרסם את הד"ח ללא הגבלה