

Izvorni znanstveni članak
Original scientific paper

Prispjelo - *Received*: 06.03.2003.
Prihvaćeno - *Accepted*: 29.07.2003.

UDK: 630* 45+414

Josip Margaletić¹, Mihovil Hus², Milan Glavaš³

KEMIJSKE ANALIZE ŠUMSKOGA SJEMENA KAO IZVORA HRANE SITNIH GLODAVACA FT-IR SPEKTROSKOPIJSKOM TEHNIKOM

*CHEMICAL ANALYSES OF FOREST SEED AS A SOURCE OF FOOD FOR
SMALL RODENTS BY FT-IR SPECTROSCOPIC TECHNIQUE*

SAŽETAK

Sjeme je važan dio ishrane sitnih glodavaca. FT-IR tehnikom snimljeni su spektri uzoraka ljuske i jezgre zdravoga i oboljeloga žira hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) od gljive *Ciboria batschiana* (Zopf) Buchwald, sjemena čivitnjače (*Amorpha fruticosa* L.) te, za usporedbu, uzorci celuloze i lignina izoliranih iz jezgre žira. Kemijskom analizom odabranih uzoraka žira utvrđeno je kako je u njima najveći udio celuloze i lignina i to iznad 5 % pa su i u FT-IR spektrima izražene vrpce koje odgovaraju tim spojevima. U spektrima svih uzoraka zamjećuju se uske vrpce u području frekvencija nižih od 1750cm^{-1} . U prilog mogućnosti praćenja biodegradacije u uzorcima, govori promjena intenziteta vrpce kod oko 1740cm^{-1} , u FT-IR spektrima uzorka jezgre zdravog i bolesnog žira s iste lokacije.

Ključne riječi: sitni glodavci, šumsko sjeme, kemijske analize, FT-IR spektroskopijska tehnika

¹ Dr. sc. Josip Margaletić, Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zavod za zaštitu šuma i lovstvo, p.p. 422, 10 002 Zagreb

² Doc. dr. sc. Mihovil Hus, Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zavod za ploče i kemijsku prerađu drva, p.p. 422, 10 002 Zagreb

³ Prof. dr.sc. Milan Glavaš, Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zavod za zaštitu šuma i lovstvo, p.p. 422, 10 002 Zagreb

UVOD

INTRODUCTION

Većina sitnih glodavaca su polifagne životinje. Iako su tipični biljojedi, konzumiraju i hranu životinjskoga porijekla. Poznata je činjenica kako je sjeme važan dio njihove ishrane (WATTS 1968 i 1970; HOLIŠOVA 1971; HOLIŠOVA i OBRTTEL 1979). U nizinskim šumama žir hrasta lužnjaka im je čest izvor hrane. Oštećivanjem sjemena i mladih biljaka glodavci otežavaju obnovu šuma, a samim tim i potrajnost gospodarenja (GLAVAS i dr. 1996, MARGALETIĆ 1998). U godinama kada se prenamnože, glodavci mogu potpuno uništiti cjelokupni urod žira u lužnjakovim sastojinama (SPAIĆ i GLAVAS 1988). Štetno djelovanje osobito im je naglašeno u godinama manjeg uroda žira. Poznavanje kemijske strukture i sastava šumskog sjemena važno je pri istraživanju i tumačenju biokemijskih i fizioloških procesa u živom sjemenu, ali je isto tako važno za kvalitetnije sagledavanje prehrambenog odnosa između sjemena i sitnih glodavaca. Istraživanja na unapređenju spoznaja o kemijskom sastavu temeljena su na suprotnostima u konzumiranju zdravog i bolesnog žira te izbjegavanju sjemena nekih biljnih vrsta u ishrani glodavaca (npr. *Amorpha fruticosa* L.).

Brojnost kemijskih tvari te način povezivanja prirodnih polimernih lanaca u koji su uključene akcesorne tvari čine strukturu sjemena vrlo složenom (MOHAČEK 1959). Organske tvari u biljnim dijelovima općenito se dijele na celulozu, hemicelulozu, lignin i pektin. Isti autor ističe kako su celuloza, hemiceluloza i pektin ugljikohidrati s određenom kemijskom strukturom, dok je lignin u osnovi aromatske strukture. Akcesorne tvari osim pektina sadrže i druge organske spojeve (smole, terpeni, voskovi, tanini, kiseline, bjelančevine, škrob, mineralne tvari i dr.). Nakon spaljivanja mineralne tvari u pepelu se nalaze kao oksidi i karbonati. Pored navedenih kemijskih tvari koje su s različitim udjelom zastupljene u pojedinoj vrsti biljnog materijala (drvo, sjeme, list), zbog onečišćenja okoliša, spomenuti materijal može sadržavati i nebiogene elemente te dugopostojane radio-izotope (cezij 137, plutonij) (HUS 1993).

Sjeme za analize (*Quercus robur* L. i *A. fruticosa*) sakupljano je u jesen 2000. god. na području kojim gospodari Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu (NPŠO "Zagreb" - GJ "Šašinovečki lug", odjel/odsjek 16a), te Šumarije "Remetinec" (GJ "Šiljakovačka dubrava I", odjel/odsjek 11a i GJ "Stupnički lug", odjel/odsjek 12a) i "Stara Gradiška" (GJ "Ljeskovače", odjel/odsjek: 14b).

METODA RADA

WORK METHOD

Za određivanje zdravstvenog stanja sjemena na prisustvo gljiva korištene su makroskopska metoda i metoda fitopatološke analize sjemena. Oboljeli žir s pojedinih lokaliteta izdvajan je u posebni uzorak i označavan. Stupanj zaraženosti sjemena gljivama utvrđivan je okularno ili binokularom. Svakom žiru u uzorku odvojene su supke od ljuske žira. Supke su prerezane uzdužno na dva jednaka dijela, kako bi se

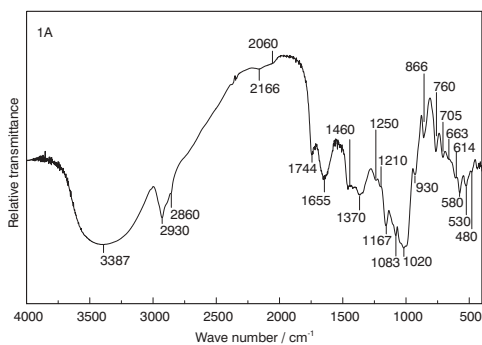
lakše uočilo oboljenje. Uzorci žira obrađivani su stimuliranjem razvoja gljiva u Petrijevim posudama na vlažnom filter-papiru i izolacijom u čiste kulture. Dinamika pregleda žira na vlazi bila je svakodnevna u razdoblju od dva tjedna. Rast micelija izoliranih gljiva praćen je 7-14 dana, s tim da je presađivan u slučaju zagađenja kako bi se dobile čiste kulture gljive. Na miceliju su se formirala plodna tijela sa sporama, nužna za kvalitetnu determinaciju. Determinacija gljiva obavljena je prema simptomima bolesti, morfologiji micelija, plodnih tijela i spora (BARNETT i BARRIN 1972; DENNIS 1976 i GLAVAŠ 1999). U ovome radu istraživan je kemijski sastav oboljelog žira od gljive *Ciboria batschiana* (Zopf) Buchwald.

Mnoge današnje instrumentalne tehnike omogućuju analizu bez destrukcije uzorka. Uz odgovarajuće pripremljen uzorak, ove se tehnike mogu koristiti i za analizu strukture i sastava šumskog sjemena. Prednost je takvih tehnika u tome što se mala količina uzorka može uzeti za analizu i što se u takvom uzorku analizirane kemijske tvari nalaze u prirodnom obliku (HUS 1996). IR analiza (Infra Red) je nedestruktivna i lako primjenjiva analitička metoda kemijske analize. Karakteristične vrpce i njihov intenzitet u dobivenom IR spektru daju podatke o sastavu i količini pojedine kemijske vrste u analiziranom uzorku. Uobičajena primjena IR tehnike je metodom često ograničena za analizu uzorka koji se sastoji od više različitih spojeva, zbog nemogućnosti dobivanja vrpce u IR spektru zbog niske koncentracije pojedinih spojeva koji se analiziraju i prekrivanja tih vrpce u matriksu. Transformacijom IR spektroskopije, tj. primjenom interferometrijskih metoda na dobivene IR spektre i matematičkom obradom interferograma brzim Fourier transformacijskim algoritmima za poboljšanje frekventnih spektara (HUS 1996), razvijena je FT-IR spektroskopska tehnika (Fourier Transform Infrared Spectroscopy Technique). FT-IR tehnikom moguće je dobiti spektre i onih materijala čiji se spektri ne mogu dobiti klasičnom IR-tehnikom, kao što je to slučaj s uzorcima žira i sjemenki. Uobičajeno se za snimanje FT-IR spektara čvrstih uzoraka mala količina fino usitnjenog materijala homogeno izmiješa s materijalom koji ne apsorbira u IR području (kalijev bromid - KBr) i ispreša u tanku okruglu pločicu ("pellet"). Ovako pripremljeni uzorak stavlja se u mjerni uređaj odgovarajućim nosačem. Uzorci lužnjakovog žira i sjemena *A. fruticosa* pripremljeni su za analizu na sljedeći način: ljuska žira odvojena je od jezgre, zatim su zasebno ljuska i jezgra žira te sjemenke *A. fruticosa* sušeni na 105 °C do konstantne mase. Tako dobiveni suhi materijal samljeven je u laboratorijskom mlinu. Odgovarajuća, uvijek ista masa, usitnjenog materijala izmiješana je i homogenizirana s KBr te su od tako dobivene smjese isprešane pločice za mjerenje. Uzorci celuloze i lignina iz supki zdravog žira dobiveni su standardnim kemijskim metodama (ŠKORIĆ 1961; SJÖSTRÖM i RAIMO 1999). Kemijska analiza obavljena je zasebno na ljusci (prije odvojena od jezgre) i supkama svakog uzorka (ukupno šest poduzoraka). Po dva poduzorka odnose se na ljusku i jezgru zdravog žira, dok se po jedan poduzorak odnosi na ljusku i jezgru žira zaraženog gljivom *C. batschiana*. Uzorci su žira posušeni i samljeveni, a takav materijal prosijan kroz sito otvora 0,4mm i potom analiziran. Za snimanje FT-IR spektra korišten je Perkin-Elmer spektrometar model 2000 vezan uz osobno računalo koje sadrži IR Data Manager (IRDM) program TENEZ-LSNM.

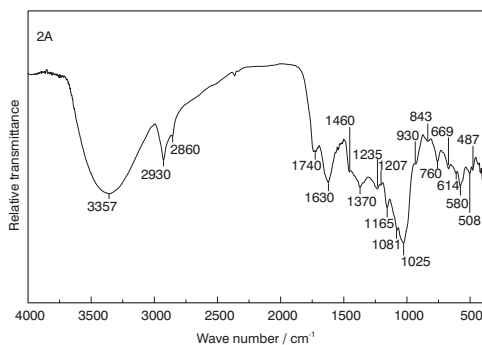
REZULTATI RADA

RESULTS

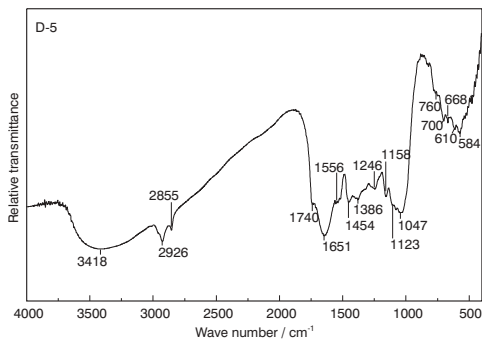
Klasičnim metodama kvantitativne kemijske analize žira dobiveni su podaci o sadržaju celuloze i lignina. Glede složenosti i potrebnog vremena izvođenja svake takve pojedine analize, njihova primjena za analizu velikog broja uzoraka nije praktična. Brže i jednostavnije analize su snimanje FT-IR spektara uzoraka, čijom se interpretacijom mogu dobiti podaci o vrsti i količini organskih kemijskih vrsta u uzorku. Uzorci za analizu pripremljeni su kako je ranije opisano. FT-IR tehnikom snimljeni su spektri uzoraka ljuske i jezgre zdravog i oboljelog žira hrasta lužnjaka od gljive *C. batschiana*, sjemena *A. fruticosa* te za usporedbu, uzorci celuloze i lignina izoliranih iz jezgre žira. FT-IR spektri prikazani su na Grafikonima 1.-13.



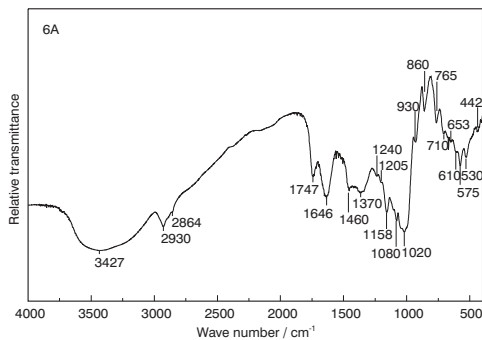
Grafikon 1.: FT-IR spektar jezgre zdravog žira hrasta lužnjaka, sakupljenog u Šumariji "Remetinec" (GJ "Šiljakovačka dubrava I")
Graph 1. FT-IR spectrum of healthy acorn core in peduncled oak, collected in the "Remetinec" Forest Office (Management Unit "Šiljakovačka dubrava I")



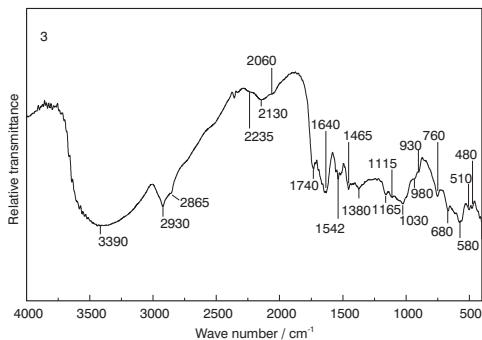
Grafikon 2.: FT-IR spektar jezgre bolesnog (*C. batschiana*) žira hrasta lužnjaka, sakupljenog u Šumariji "Remetinec" (GJ "Šiljakovačka dubrava I")
Graph 2. FT-IR spectrum of diseased (*C. batschiana*) acorn core in peduncled oak, collected in the "Remetinec" Forest Office (Management Unit "Šiljakovačka dubrava I")



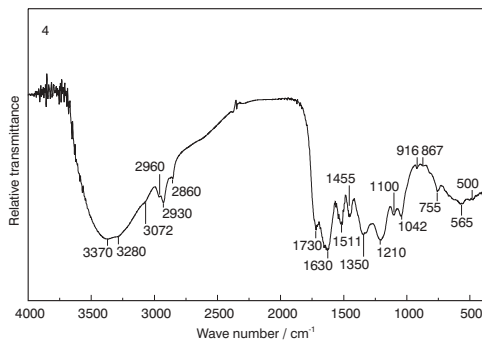
Grafikon 3.: FT-IR spektar sjemena od *A. fruticosa*, sakupljenog u Šumariji "Stara Gradiška"
Graph 3. FT-IR spectrum of seed of *A. fruticosa*, collected in the Forest Office "Stara Gradiška" Forest Office



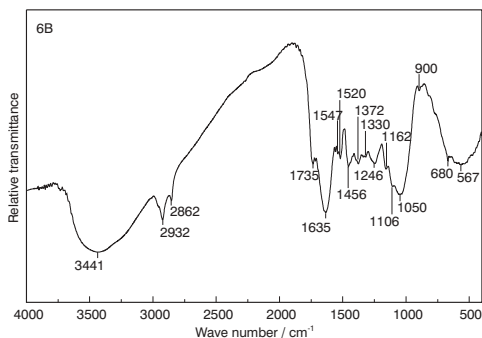
Grafikon 4.: FT-IR spektar jezgre zdravog žira hrasta lužnjaka, sakupljenog u NPŠO "Zagreb" (GJ "Šašinovečki lug")
Graph 4. FT-IR spectrum of healthy acorn core of peduncled oak, collected in the NPŠO "Zagreb" (Management Unit "Šašinovečki lug")



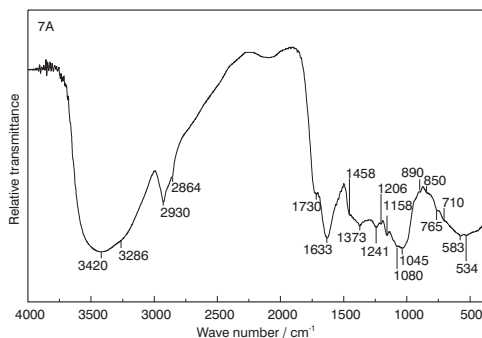
Grafikon 5.: FT-IR spektar celuloze jezgri zdravog žira hrasta lužnjaka, sakupljenog u Šumariji "Remetinec" (GJ "Šiljakovačka dubrava I")
 Graph 5. FT-IR spectrum of the pulp in healthy acorn core of peduncled oak, collected at the "Remetinec" Forest Office (Management Unit "Šiljakovačka dubrava I")



Grafikon 6.: FT-IR spektar lignina jezgri zdravog žira hrasta lužnjaka, sakupljenog u Šumariji "Remetinec" (GJ "Šiljakovačka dubrava I")
 Graph 6. FT-IR spectrum of lignin in the healthy acorn core of peduncled oak, collected at the "Remetinec" Forest Office (Management Unit "Šiljakovačka dubrava I")



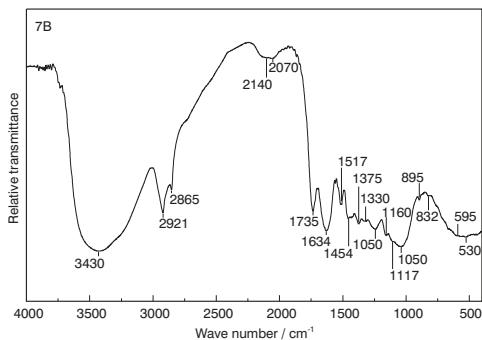
Grafikon 7.: FT-IR spektar ljuske zdravog žira hrasta lužnjaka, sakupljenog u NPŠO "Zagreb" (GJ "Šašinovečki lug")
 Graph 7. FT-IR spectrum of scale in healthy acorn of peduncled oak, collected in the NPŠO "Zagreb" (Management Unit "Šašinovečki lug")



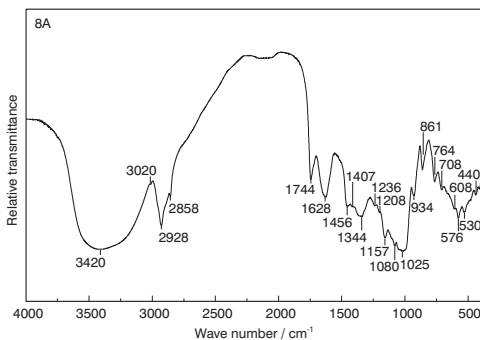
Grafikon 8.: FT-IR spektar jezgre bolesnog (*C. batschiana*) žira hrasta lužnjaka, sakupljenog u NPŠO "Zagreb" (GJ "Šašinovečki lug")
 Graph 8. FT-IR spectrum of scales in diseased (*C. batschiana*) acorn of peduncled oak, collected in the NPŠO "Zagreb" (Management Unit "Šašinovečki lug")

Kemijskom analizom odabranih uzoraka žira utvrđeno je kako je u njima najveći udio celuloze i lignina i to iznad 5 % pa su i u FT-IR spektrima izražene vrpce koje odgovaraju tim spojevima.

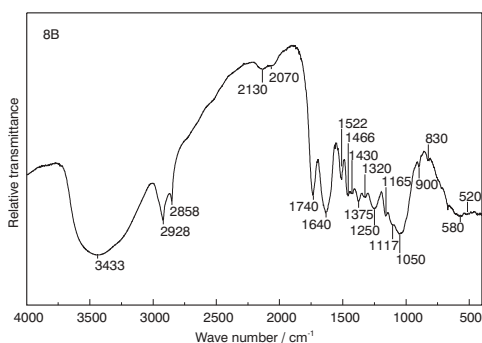
U spektrima svih uzoraka zamjećuju se uske vrpce u području frekvencija nižih od 1750cm^{-1} . Prema literaturnim podacima (HARRINGTON i dr. 1964) za karakteristične vrpce celuloze i lignina mogu se navesti: 1601 i 1506cm^{-1} za lignin, 1453cm^{-1} za lignin i celulozu, 1369 , 1330 i 1315cm^{-1} za celulozu, 1263cm^{-1} za lignin, 895 , 870 i 809cm^{-1} za lignin. Iz FT-IR spektara celuloze i lignina (Grafikon 5. i 6.), vrpce kod 1465cm^{-1} za celulozu i 1455cm^{-1} za lignin koje odgovaraju vrpci 1453cm^{-1} , pojavljuju se oko tih vrijednosti u spektrima svih uzoraka. Vrpca



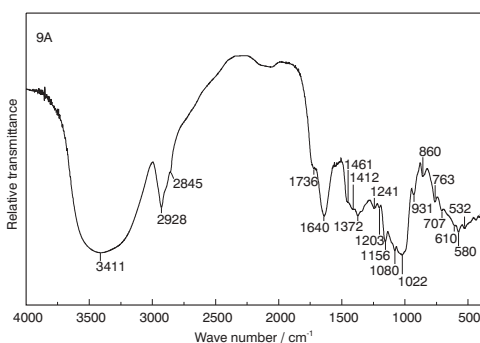
Grafikon 9.: FT-IR spektar ljuski bolesnog (*C. batschiana*) žira hrasta lužnjaka, sakupljenog u NPŠO "Zagreb" (GJ "Šašimovečki lug")
 Graph 9. FT-IR spectrum of scales in diseased (*C. batschiana*) acorn of peduncled oak, collected in the NPŠO "Zagreb" (Management Unit "Šašimovečki lug")



Grafikon 10.: FT-IR spektar jezgri zdravog žira hrasta lužnjaka, sakupljenog u Šumariji "Remetinec" (GJ "Stupnički lug")
 Graph 10. FT-IR spectrum of cores in healthy acorn of peduncled oak, collected in the "Remetinec" Forest Office (Management Unit "Stupnički lug")

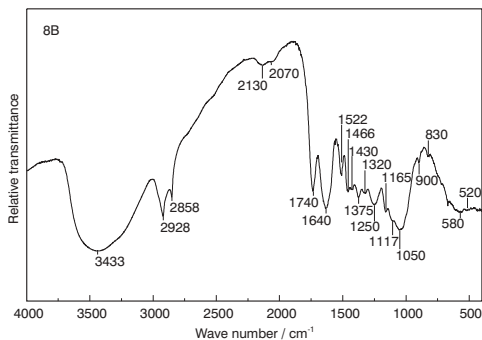


Grafikon 11.: FT-IR spektar ljuski zdravog žira hrasta lužnjaka, sakupljenog u Šumariji "Remetinec" (GJ "Stupnički lug")
 Graph 11. FT-IR spectrum of scales in healthy acorn of peduncled oak, collected in the "Remetinec" Forest Office (Management Unit "Stupnički lug")



Grafikon 12.: FT-IR spektar supki bolesnog (*C. batschiana*) žira hrasta lužnjaka, sakupljenog u Šumariji "Remetinec" (GJ "Stupnički lug")
 Graph 12. FT-IR spectrum of cotyledons in diseased (*C. batschiana*) acorn of peduncled oak, collected in the "Remetinec" Forest Office (Management Unit "Stupnički lug")

kod 1210cm^{-1} u FT-IR spektru lignina (Grafikon 6.) javlja se u spektrima svih uzoraka jezgre žira (Grafikoni 1., 2., 4., 8., 10. i 12.). Vrpca kod 1165cm^{-1} u spektru celuloze (Grafikon 5.) javlja se, s manjim pomakom, u spektrima svih uzoraka žira i sjemena *A. fruticosa* (Grafikoni 1.-4. i 7.-13.). Vrpca kod 867cm^{-1} u FT-IR spektru lignina (Grafikon 6.) javlja se s pomakom u spektrima svih uzoraka jezgre žira (Grafikoni 1., 2., 4., 8., 10. i 12.). Ostale nespomenute vrpce u spektrima svih uzoraka nije moguće interpretirati bez boljeg poznavanja i dubljeg ulaženja u IR spektroskopiju. Prikazom FT-IR analize uzoraka žira i sjemena od *A. fruticosa*, željelo se usporediti tu metodu s drugim upotrijebljenim metodama kemijske analize.



Grafikon 13.: FT-IR spektar ljuski zdravog žira hrasta lužnjaka, sakupljenog u Šumariji "Remetinec" (GJ "Stupnički lug")
Graph 13. FT-IR spectrum of scales in healthy acorn of peduncled oak, collected in the "Remetinec" Forest Office (Management Unit "Stupnički lug")

U prilog mogućnosti praćenja biodegradacije u uzorcima, govori promjena intenziteta vrpce kod oko 1740cm^{-1} , u FT-IR spektrima uzorka jezgre zdravog i bolesnog žira s iste lokacije. Te vrpce odgovaraju karboksilnim ili karbonilnim grupama (HORN i dr. 1992).

U spektrima uzoraka jezgri zdravog žira iz Šumarije "Remetinec" (GJ "Šiljkovačka dubrava I" - Grafikon 1. i GJ "Stupnički lug" - Grafikon 10.) i NPSO "Zagreb" (GJ "Šašinovečki lug" - Grafikon 4.), vidi se kako su vrpce kod 1744, 1747, odnosno 1744cm^{-1} značajno većeg intenziteta nego odgovarajuće vrpce u spektrima uzorka jezgre bolesnog žira s iste lokacije (Grafikoni 2., 8. i 12.), što se može tumačiti biodegradacijom spoja od kojeg potječu te vrpce.

RASPRAVA

DISCUSSION

FT-IR tehnikom snimljeni su spektri uzoraka ljuske i jezgre zdravog i bolesnog žira, sjemena *A. fruticosa* te, za usporedbu, uzorci celuloze i lignina izoliranih iz jezgre žira (Grafikoni 1.-13.). Kemijskom analizom odabranih uzoraka žira utvrđeno je kako je u njima najveći udio celuloze i lignina i to iznad 5 % pa su i u FT-IR spektrima izražene vrpce koje odgovaraju tim spojevima. Obzirom da analizirano šumsko sjeme sadrži značajan udio celuloze i lignina, a da do sada nisu rađene analize sjemena FT-IR tehnikom, promjene u sastavu sjemena utvrđene ovom tehnikom stoga su uspoređivane s promjenama istih tvari u drvu koje su analizirane istom metodom. FT-IR spektroskopiju su za praćenje kemijskih promjena na drvu nakon izlaganja vremenskim utjecajima primjenjivali mnogi autori (HARRINGTON i dr. 1964; HON i CHANG 1984; HORN i dr. 1992; EVANS i dr. 1992a; EVANS i dr. 1992b; JIROUŠ-RAJKOVIĆ 1997). HON i CHANG (1984) koristili su IR spektroskopiju za istraživanje destruktivnih promjena na površini borovine (*Pinus sp.*). Istraživanjem su utvrdili kako na površini drva, zbog UV-zračenja dolazi do povećanja karboksilnih i karbonilnih kromofornih grupa i smanjenja broja aromatskih funkcionalnih grupa koje potječu od lignina. Ispitivanjem kemijskih promjena na tankim listićima borovine za vrijeme prirod-

nog izlaganja, utvrđeno je znatno smanjenje intenziteta vrpce pri frekvenciji 1505cm^{-1} , a koja odgovara aromatskim C=C vezama u ligninu (EVANS i dr. 1992a). U istraživanjima ovoga rada u FT-IR spektrima uzoraka jezgre zdravog i bolesnog žira s iste lokacije, uočava se promjena intenziteta vrpce kod 1740cm^{-1} , koja odgovara celulozi.

ZAKLJUČCI

CONCLUSIONS

Kemijskom analizom odabranih uzoraka žira utvrđeno je kako je u njima najveći udio celuloze i lignina i to iznad 5 % pa su i u FT-IR spektrima izražene vrpce koje odgovaraju tim spojevima. U prilog mogućnosti praćenja biodegradacije u uzorcima govori najviše izražena promjena intenziteta vrpce kod oko 1740cm^{-1} u FT-IR spektrima uzorka jezgre zdravog i bolesnog žira s iste lokacije, koja odgovara celulozi.

LITERATURA

REFERENCES

- BARNETT, H. L., BARRY B. HUNTER, 1972: Illustrated genera of Imperfect fungi, Burgess Publishing Company, Third edition, 241, Saint Paul.
- DENNIS, R. W. G., 1978: British Ascomycetes. Cramer, 585, Vaduz.
- EVANS, P. D., K. J. SCHMALZL, A. MICHELL, 1992a: Rapid loss of lignin at wood surfaces during natural weathering, Document No IRG/WP/2390-92, IRG Secretariat Box 5607, S-11486, 25 29, Stockholm.
- EVANS, P. D., A. MICHELL., K. J. SCHMALZL, 1992b: Studies of the degradation and protection of wood surfaces. Wood Sci. Technol., 26: 151–163, München.
- GLAVAŠ, M., 1999: Gljivične bolesti šumskog drveća. Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 281, Zagreb.
- GLAVAŠ, M., MARGALETIĆ, J., HRAŠOVEC, B., DIMINIĆ, D., 1996: Mišoliki glodavci, štete i suzbijanje u nizinskim šumama. U: SEVER S., (ur.), Zaštita šuma i pridobivanje drva, Knjiga 2, 7–10, Zagreb.
- HARRINGTON, K. J., H. G HIGGINS, A. J. MICHEL, 1964: Infrared spectra of *Eucalyptus regnans* F. Muell and *Pinus radiata* D. Don, Holzforschung 18: 108–113, Berlin.
- HOLIŠOVA, V., 1971: The food of *Clethrionomys glareolus* at different population densities. Pøirodov. Pr. Česk. Akad. Vid., 5: 1–43, Brno.
- HOLIŠOVA, V., OBRTEL, R., 1979: The food eaten by *Clethrionomys glareolus* in spruce monoculture. Folia zool., 28: 219–230, Brno.
- HON, D. N.-S., S.-T CHANG, 1984: Surface degradation of wood by ultraviolet light, Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition, 22: 2227–2241, New York.
- HORN, B. A., J. QIU, N. L. OWEN, W. C. FEIST, 1992: FT-IR studies of weathering effects in western red cedar and southern pine. In: Chemical modification of lignocellulosics, FRI Bull. 176., 1992 November 7-8: 76–89, Rotorua.
- HUS, M., 1993: Gama-spektrometrijska i atomsko-apsorpcijska analiza drva. Šumarski list, 117: 309–312, Zagreb.

- HUS, M., 1996: Primjena novih metoda u analizi kemijske strukture i sastava drveta. *Kem. ind.*, 45(11): 395–398, Zagreb.
- JIROUŠ – RAJKOVIĆ, V., 1997: Prilog istraživanjima trajnosti prevlaka na drvu. Doktorska disertacija, Šumarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 182, Zagreb.
- MARGALETIĆ, J., 1998: Rodents and their harmful effects on Turopoljski lug (Turopolje Grove) and on Croatian forests. *Glas. šum. pokuse*, 35:143–189, Zagreb.
- MOHAČEK, M., 1959: Prilog poznavanju kemijskog sastava žira od hrasta lužnjaka, kitnjaka i cera. *Arhiv za poljoprivredne nauke*, 36: 1–24, Beograd.
- SJÖSTRÖM, E., A. RAIMO, 1999: *Analytical Methods in Wood Chemistry, Pulping, and Papermaking*, 316, München.
- SPAIĆ, I., GLAVAŠ, M., 1988: Uzročnici šteta na hrastu lužnjaku u Jugoslaviji. *Glas. šum. pokuse*, 24: 199–225, Zagreb.
- ŠKORIĆ, A., 1961: Pedološka istraživanja (priručnik), 37–38, Zagreb.
- WATTS, C. H. S., 1968: The food eaten by wood mice (*Apodemus sylvaticus*) and bank voles (*Clethrionomys glareolus*) in Wytham Woods. *Journal Anim. Ecology*, 37: 25–42, Berkshire.
- WATTS, C. H. S., 1970: Effect of supplementary food on breeding in woodland rodents. *Journal of Mammology*, 51: 169–171, Lawrence.

CHEMICAL ANALYSES OF FOREST SEED AS A SOURCE OF FOOD FOR SMALL RODENTS BY FT-IR SPECTROSCOPIC TECHNIQUE

Summary

*Seed is an important part of the nutrition of small rodents. Knowledge of chemical structure and composition of forest seed is important for the investigation and explanation of biochemical and physiological processes in live seed. However, it is equally important for acquiring a better insight into the nutritional relation between seed and small rodents. Investigations with the object of improving knowledge of the chemical composition are based on contrasts occurring in the consumption of healthy and diseased acorn, and avoidance of the seed from particular plant species in the nutrition of rodents (e.g. *Amorpha fruticosa*). The large number of chemical substances and the linking of natural polymer chains, which incorporate accessory substances, result in a very complex seed structure. Seed for analyses (*Quercus robur* and *A. fruticosa*) was collected in the autumn of 2000 in a region under the management of the Faculty of Forestry University of Zagreb (NPŠO "Zagreb") and the Forest Offices of "Remetinec" and "Stara Gradiška".*

Macroscopic and phytopathological seed analysis methods were used for determination of the seed health state with regard to the presence of fungi.

*For recording FT-IR spectra of firm samples a small amount of finely fragmented material homogeneously was mixed with a material which is not absorbed in the IR region (KBr) and pressed into a thin round platelet and placed in the measuring device with a corresponding support. FT-IR technique was used to record the spectra of scale and core samples of healthy and diseased peduncled oak acorn (*Quercus robur* L.) infected by the fungus *Ciboria batschiana* (Zopf) Buchwald, from wild indigo seed (*Amorpha fruticosa* L.), and for*

comparison, samples of pulp and lignin isolated by standard chemical methods from the acorn core. By chemical analysis of the selected acorn samples it was determined that they contained the highest share of pulp and lignin, amounting to 5%, and consequently in the FT-IR spectra expressed in bands which correspond to these compositions.

Narrow bands in the area of frequencies lower than 1750 cm^{-1} are noticeable in the spectra of all samples. The band at 1210 cm^{-1} in

FT-IR lignin spectrum (Graph 6) appears in the spectra of all samples of acorn core (Graphs 1, 2, 4, 8, 10 and 12).

*The band at 1165 cm^{-1} in the pulp spectrum (Graph 5) appears with a small shift in the spectra of all acorn and seed samples *A. fructiosa* (Graphs 1- 4 and 7-13). The band at 867 cm^{-1} in FT-IR spectrum of lignin (Graph 6) appears with a shift in the spectra of all acorn and seed samples (Graphs 1, 2, 4, 8, 10 and 12). The possibility of recording biodegradation in the samples is indicated by changes in the band intensity at approximately 1740 cm^{-1} , in the FT-IR spectra of core samples of healthy and diseased acorn from the same location which corresponds to the pulp. In the spectra of the core samples in healthy acorn from the Forest Office "Remetinec" (Graphs 1 and 10) and NPŠO "Zagreb" (Graph 4) can be seen that the bands at 1774 , 1747 , and 1744 cm^{-1} are of significantly higher intensity than the corresponding bands in the spectra of the core samples of diseased acorn from the same location (Graphs 2, 8 and 12), which can be explained by biodegradation of the compositions from which these bands originate.*

Key words: *small rodents, forest seed, chemical analysis, FTIR-spectroscopic technique*