

Stručni članak
Professional paper

Prispjelo - *Received*: 25. 07. 2006.
Prihvaćeno - *Accepted*: 09. 10. 2006.

UDK: 630*11

Tamara Jakovljević*

FOLIJARNE ANALIZE UZORAKA S PLOHA INTENZIVNOG MOTRENJA I INTERLABORATORIJSKA ISPITIVANJA U SKLOPU PROGRAMA ICP FORESTS

*FOLIAR ANALYSES OF SAMPLES FROM INTENSIVE MONITORING
PLOTS AND INTER-LABORATORY TESTING WITHIN
THE FRAMEWORK OF ICP FORESTS PROGRAMME*

SAŽETAK

U sklopu Međunarodnog programa za procjenu i praćenje utjecaja zračnog onečišćenja na šume (ICP Forests) u Hrvatskoj se na sedam ploha intenzivnog motrenja (Razina II) s karakterističnih šumskih zajednica provode istraživanja i kemijske analize biljnog materijala. Kako bi se mogla pratiti pouzdanost primijenjenih metoda u laboratorijskim analizama, osiguranja kvalitete rada i nova saznanja na području analitičkih metoda primjenjivih za analizu biljnog materijala Forest Foliar Co-ordinating Centre u Beču organizira svake godine Interlaboratorijska ispitivanja na uzorcima pripremljenim u laboratorijima zemalja koje su uključene u ICP Forests program.

Šumarski institut Jastrebarsko 2004. godine pripremio je lišće obične bukve kao referentni uzorak za sve europske laboratorije. Uzorci su analizirani na obavezne elemente: sumpor, dušik, fosfor, kalij, kalcij i magnezij, te neobavezne elemente: cink, mangan, željezo i ugljik. Dobiveni rezultati govore o dobroj kvaliteti laboratorija Šumarskog instituta Jastrebarsko. Takva ispitivanja u skladu su sa zahtjevima internacionalnih standarada, a omogućuju i provjeru nove metode uvedene u laboratorijska ispitivanja. U kemijskom laboratoriju Šumarskog instituta Jastrebarsko ispitivana je nova metoda određivanja dušika na elementarnom analizatoru CNS 2000 i rezultati su provjereni u interlaboratorijskim istraživanjima koja su potvrdila opravdanost metode.

Ključne riječi: ICP Forests, intenzivno motrenje, interlaboratorijska ispitivanja, referentni uzorak, kvaliteta laboratorija

* Šumarski institut, Jastrebarsko, Cvjetno naselje 41, 10450 Jastrebarsko

UVOD

INTRODUCTION

Međunarodni program za procjenu i motrenje utjecaja zračnog onečišćenja na šume (International Cooperative Programme on Assessment and Monitoring of Air Pollution Effects on Forests, skraćeno ICP Forests) provodi intenzivna i stalna motrenja šumskih ekosustava Europe kako bi se utvrdila oštećenost uzrokovana zagađenjem atmosfere i drugim faktorima koji utječu na stanje šuma i povezani su s promjenama šumskog ekosustava (MOSELLO, 2002.).

U svrhu istaživanja napravljena je mreža trajnih ploha u različitim šumskim ekosustavima Europe na kojima se provode istraživanja o stanju krošanja, vegetaciji tla, kemiji tla i biljnog materijala te atmosferskoj depoziciji u različitim vremenskim uvjetima.

Zadatak 1.3.6 imao je cilj pratiti stanje ishrane šumskih vrsta drveća ploha intenzivnog motrenja. U tu svrhu uzeti su uzorci biljnog materijala i provedena je kemijska analiza kako bi se utvrdila količina pojedinih biogenih elemenata važnih za ishranu drveća koji su analizirani u laboratoriju Šumarskog instituta Jastrebarsko. Podaci analiziranih uzoraka šalju se u Programme Coordinating Center u Hamburg. Jednom godišnje analiziraju se četiri uzorka pristigla iz Forest Foliar Co-ordinating Centre u Beču u sklopu sudjelovanja u interlaboratorijskim ispitivanjima. Svrha sudjelovanja u interlaboratorijskim ispitivanjima je praćenje pouzdanosti rezultata i kvalitete laboratorija.

MATERIJALI I METODE ISTRAŽIVANJA

MATERIALS AND METHODS OF RESEARCH

Uzorkovanje biljnog materijala na trajnim plohama provodi se prema uputama ICP Forests programa (STEFAN, 2000.). Uzorkovanje četinjača provodi se u tijeku mirovanja, a listača prije žućenja.

U Tablici 1 dan je pregled ploha intenzivnog motrenja.

Tablica 1. Plohe intenzivnog motrenja
Table 1. Intensive monitoring plots

OZNAKA PLOHE	NAZIV PLOHE	VRSTA DRVETA
101*	Lipovljani	jasen, hrast lužnjak
102	Goić	hrast kitnjak
103	Sljeme	bukva, jela
104*	Zalesina	jela
105	Zavižan	bukva, smreka
106	Lividraga	jela
107*	Lovrečica	hrast medunac

* Godine 2003. u požaru je stradala ploha 107 (Lovrečica, Šumarija Umag) te je zamijenjena plohom 108, Poreč. Iste godine osnovana je ploha 109 Vrbanja i prestala su praćenja ploha 104 i 101.

Lišće ili iglice se broje, zatim suše, važu i melju i tako pripremljeni stabilni i spremni su za analize analitičkim metodama utvrđivanja količine pojedinog elementa u uzorku.

Godine 2004. za potrebe 6. i 8. Interlaboratorijskog ispitivanja srušeno je stablo obične bukve (Šumarija Jastrebarsko) u teškim metalima nezagađenom području. Lišće je osušeno na 105°C, samljeveno i homogenizirano. Prilikom homogenizacije bilo je neophodno pažljivo rukovati s uzorkom kako bi se izbjegla kontaminacija. Oko četiri kilograma tako pripremljenog uzorka poslano je u Forest Foliar Co-ordinating Centre u Beč odakle je distribuirano u 29 europskih zemalja čiji laboratoriji sudjeluju u ovakvim ispitivanjima.

Metode koje laboratorij koristi za analizu uzoraka biljnog materijala preporučio je ICP Forest (RAITIO, 1995.). Metode su razvijene na osnovi višegodišnjih istraživanja i ispitivanja najprihvatljivijih metoda za ovu vrstu uzoraka.

Prema ICP Forests programu, elementi su podijeljeni na obavezne: dušik, sumpor, fosfor, kalcij, magnezij i kalij, te neobavezne koji se mogu analizirati ako laboratorij ima mogućnosti: natrij, cink, mangan, željezo, aluminij, bor, olovo, bakar, kadmij i ugljik.

S obzirom na opremu s kojom raspolaže kemijski laboratorij Odjela za ekologiju i uzgajanje šuma, mogu se analizirati dušik, sumpor, fosfor, kalcij, magnezij, kalij i ugljik. Preporučene metode po kojima se analiziraju i uzorci u kemijskom laboratoriju Odjela za ekologiju i uzgajanje šuma:

1. određivanje dušika po Kjeldahlu, koje je za petogodišnjeg istraživanja zamijenjeno analizom na elementarnom analizatoru CNS 2000 (ISO 13 878, 1998. i LECO, 2000.)
2. određivanje fosfora kolorimetrijskom metodom na UV/VIS spektrofotometru (AOAC, 1996.)
3. uvođenjem novog instrumenta CNS 2000 omogućeno je određivanje i ukupnog ugljika (ISO 10 694, 1995 i LECO 2000.)
4. određivanje sumpora suhim spaljivanjem na elementarnom analizatoru SC 132 (LECO, 1987.)
5. spektrofotometrijsko određivanje kalcija, magnezija i kalija na atomskom absorpcijskom spektrofotometru (AOAC, 1996.)

REZULTATI I RASPRAVA

RESULTS AND DISCUSSION

U Tablici 2 dane su plohe na kojima su uzimani uzorci biljnog materijala, broj stabala s kojih su uzimani uzorci, mase 100 listova ili 1000 iglica te koncentracije biogenih elemenata, dušika, sumpora, fosfora, kalcija i magnezija u uzorcima. Prikazane su i plohe 101 i 104 na kojima su prestala praćenja te novoosnovane plohe

Tablica 2. Prikaz rezultata s ploha intenzivnog motrenja poslanih u Programme Coordinating
Table 2. Presentation of results from intensive monitoring plots sent to the Programme Coordinating Centre in Hamburg

Seq num	Plot num	Stamp num	Date anal	Number of sampled trees					N		S	P	Ca	Mg
				F1	F2	F3	F4	F5	g	g				
1	101 51.0		241203 F12	F06	F04	F136	F180							
2	101 21.0		241203 F18	F28	F31	F33	F172							
3	102 48.0		241203 F5	F41	F34	F75	F100	22.49	20.25	1.52	0.88 6.40	3.27		
4	103 20.0		241203 F10	F55	F91	F145	F157	14.22	24.90	1.89	1.27 5.52	0.90		
5	103 100.0		241203 F24	F56	F24	F138	F150		2.30 14.95	1.46	1.20 7.52	1.22		
6	103 100.1		241203 F24	F56	F24	F138	F150		5.06 15.85	1.34	1.17 8.80	0.70		
7	104 100.0		241203 F1	F2	F3	F4	F5							
8	104 100.1		241203 F1	F2	F3	F4	F5							
9	105 20.0		241203 F48	F78	F158	F299	F448	19.25	27.45	2.11	1.11 6.52	0.10		
10	105 118.0		241203 F90	F99	F185	F195	F224		3.50 10.70	0.82	0.88 5.80	0.60		
11	105 118.1		241203 F90	F99	F185	F195	F224		5.90 11.55	0.81	0.70 4.20	0.60		
12	106 100.0		241203 F54	F62	F86	F97	F103		4.90 14.80	1.17	1.11 6.24	1.25		
13	106 100.1		241203 F54	F62	F86	F97	F103		5.12 15.90	1.29	1.01 7.24	1.18		
14	106 49.0		241203 F1	F2	F3	F4	F5	29.20	17.45	1.36	0.88 7.88	1.08		
15	106 51.0		241203 F1	F2	F3	F4	F5	24.12	25.20	1.87	2.40 6.00	1.30		

107 i 109. Analizirano je 100 listova ili 1000 iglica uzetih s preporučenih uzorkovanih pet stabala.

Višemjesečna ispitivanja nove metode određivanja dušika na elementarnom analizatoru CNS 2000 pokazala su prednosti nove metode:

- ukupnu količinu ugljika i dušika moguće je odrediti suhim spaljivanjem i u uzorcima tla i biljnog materijala bez prethodne kemijske pripreme uzoraka
- osnovni dijelovi uređaja: analizator s touch screenom, peć (maksimalna temperatura peći je 1300 °C), autoloader, vaga, printer
- uređaj koristi plinove visoke čistoće: kisik, sintetski zrak i helij
- cijeli sustav je vođen računalom te je ukupna količina ugljika i dušika izražena u postocima dobivena nakon četverominutne analize

Određivanje ukupnog dušika po Kjeldahlu puno je zahtjevnija metoda jer je potrebna kemijska obrada uzoraka koja obuhvaća mokro spaljivanje jakim oksidansom, postupak destilacije i titracije.

U Tablici 3. 48 laboratorija analiziralo je četiri puta jedan uzorak obične bukve iz Hrvatske koja je poslužila kao referentni materijal. Referentni materijal je analiziran u laboratoriju Forest Foliar Co-ordinating Centre i dobiveni rezultat je uspoređivan s rezultatima prispjelim iz europskih laboratorija koji su označeni kodovima. Oznakom 01 označen je kemijski laboratorij Šumarskog instituta Jastrebarsko i ulazi u skupinu označenih laboratorija čiji rezultati su dobri. Uzorci su analizirani na novom elementarnom analizatoru CNS 2000. Na taj je način također potvrđena točnost i primjenjivost nove metode.

Upravo je interlaboratorijsko ispitivanje pokazalo točnost svih metoda korištenih za folijarne analize biogenih elemenata na trajnim plohama uključenim u ICP Forests program (FÜRST, 2006.)

Grafikon 1. Pokazuje da je visok postotak točnosti rezultata dobivenih svim metodama koje se primjenjuju u kemijskom laboratoriju Šumarskog instituta Jastrebarsko pod oznakom 01.

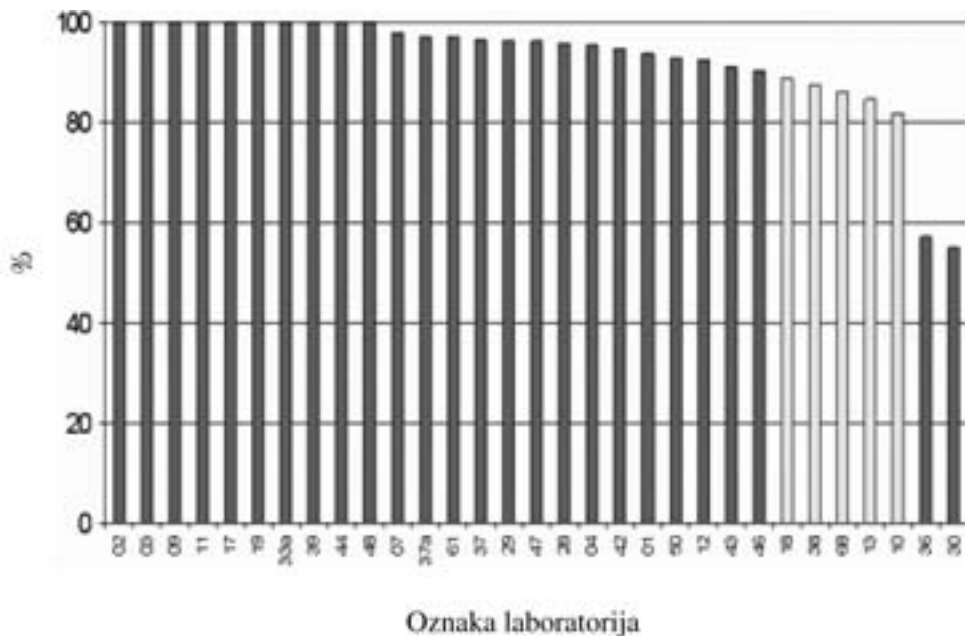
Tablica 3. Prikaz ukupne količine dušika u uzorku lišća obične bukve iz Hrvatske korištene za 8. Interlaboratorijsko ispitivanje dobivenih u 48 europskih laboratorija
Table 3. Presentation of total quantity of nitrogen in a sample of leaves of common beech from Croatia used for the Eighth inter-laboratory testing obtained from 48 European laboratories

ICP-Forests 8th needle/leaf interlaboratory test 2005/2006

Element: N		Sample: 3 (Beech Leaves - Croatia)							Dimension: mg/g			
No.	Lab. Code	Method code		Replications				n	Lab mean	Lab standard dev.		Recovery %
		P	D	1	2	3	4			St	VI	
1	27	3.31	11	1.35	1.74	1.82	0.88	0	1.45	0.43	29.74	7.58
2	41	1	15.3	16.98	17.97	16.58	15.74	0	16.62	0.93	5.50	83.21
3	60	1	12.3	18.06	18.13	18.35	18.58	4	18.28	0.24	1.29	90.44
4	18x	3.31	51.3	19.10	18.40	18.60	19.10	4	18.80	0.36	1.89	93.01
5	36x	3.51	11	19.00	18.87	18.64	18.73	4	18.81	0.16	0.84	93.06
6	72	3.50	11.3	19.20	18.93	19.12	19.09	4	19.09	0.11	0.50	94.42
7	69	3.51	11.2	19.20	19.00	19.20	19.10	4	19.13	0.10	0.50	94.62
8	05	3.51	11	19.08	19.78	19.60	19.08	4	19.30	0.36	1.86	95.91
9	19x	1	15.1	19.80	19.79	18.93	19.14	4	19.42	0.45	2.30	96.06
10	12x	1	17.1	19.42	19.58	19.25	19.63	4	19.47	0.17	0.88	96.33
11	02x	1	18.2	19.30	19.70	19.80	19.60	4	19.60	0.22	1.10	96.97
12	11x	3.51	11.1	19.50	19.70	19.70	19.63	4	19.63	0.09	0.48	97.13
13	06x	3.51	11.2	19.76	19.62	19.64	19.57	4	19.65	0.08	0.41	97.21
14	13x	1	17.1	20.46	19.93	19.40	19.09	4	19.72	0.60	3.06	97.56
15	36x	0	15.3	19.80	19.70	19.50	19.90	4	19.73	0.17	0.87	97.59
16	08	1	15.2	19.80	20.20	19.40	19.80	4	19.80	0.33	1.65	97.96
17	33x	0	82.1	20.49	20.11	19.27	19.76	4	19.91	0.52	2.61	98.48
18	10x	1	12.3	19.90	20.10	19.80	19.90	4	19.93	0.13	0.63	98.58
19	01x	1	17.1	19.80	20.20	20.10	20.20	4	20.06	0.19	0.94	99.32
20	64	3.51	11	20.16	20.96	19.76	20.14	4	20.16	0.33	1.62	99.72
21	36x	3.50	11.2	20.30	20.20	20.20	20.10	4	20.20	0.08	0.40	99.94
22	90x	0	10	20.30	20.35	20.15	20.19	4	20.25	0.09	0.46	100.17
23	40	9.1	12.1	20.32	20.18	20.28	20.41	4	20.30	0.10	0.47	100.42
24	17x	1	17.2	20.20	20.30	20.50	20.30	4	20.33	0.13	0.62	100.56
25	07x	0	18.1	20.10	20.60	20.40	20.40	4	20.38	0.21	1.01	100.81
26	25	1	17	20.10	20.40	20.80	20.20	4	20.38	0.31	1.52	100.81
27	73	0	11	20.45	20.23	20.45	20.45	4	20.40	0.11	0.54	100.90
28	06	1	15.1	20.40	19.90	20.60	20.60	4	20.43	0.39	1.89	101.05
29	49	1	17.2	20.17	20.51	20.47	20.91	4	20.52	0.30	1.48	101.50
30	37x	1	12.1	20.59	20.75	20.32	20.46	4	20.53	0.18	0.89	101.57
31	30x	3.52	11.2	20.90	20.10	20.90	20.30	4	20.55	0.41	2.01	101.67
32	61x	1	17	20.78	21.35	19.65	20.59	4	20.59	0.71	3.43	101.88
33	43x	1	15.2	20.60	20.60	20.60	20.70	4	20.63	0.05	0.24	102.04
34	03x	1	15.2	20.66	20.69	20.55	20.43	4	20.63	0.19	0.90	102.08
35	39x	7	12.3	21.30	20.70	20.40	20.20	4	20.65	0.48	2.32	102.17
36	56	1	15.4	20.59	20.89	20.71	20.48	4	20.67	0.18	0.85	102.25
37	29x	3.51	11.1	20.62	20.57	20.86	20.78	4	20.70	0.13	0.63	102.41
38	48x	1	15.3	21.00	20.79	20.78	20.48	4	20.76	0.21	1.03	102.72
39	28x	3.31	51.3	20.81	20.71	20.82	20.94	4	20.82	0.09	0.45	103.01
40	04x	0	15.2	21.17	20.44	21.20	20.65	4	20.87	0.38	1.82	103.23
41	68x	1	10	20.88	21.04	22.34x	20.74	3	20.88	0.15	0.72	103.30
42	52	1	15.2	20.69	21.00	20.89	21.00	4	20.90	0.15	0.70	103.38
43	66	1	18.1	21.30	21.20	20.90	20.80	4	21.05	0.24	1.13	104.14
44	47x	1	12.2	21.28	20.91	20.85	21.33	4	21.09	0.25	1.19	104.35
45	44x	1	10	21.27	21.03	21.30	21.19	4	21.20	0.12	0.57	104.87
46	42x	1	15.2	21.00	21.50	21.20	21.40	4	21.26	0.22	1.04	105.26
47	15	1	17	22.00	22.40	22.10	22.40	4	22.23	0.21	0.93	109.96
48	46	7	15.3	23.22	24.29x	23.17	23.07	0	23.15	0.08	0.33	114.55
49												
50												
51												
52												
53												
54												
55												

N Mean St VI
all labs 175 28.21 8.237 1.171
10 % from the mean

* = non tolerable mean because more than 4-



Grafikon 1. Prikaz točnosti rezultata dobivenih različitim analitičkim metodama u laboratorijima sudionika 8. Interlaboratorijskog ispitivanja
Graph 1. Presentation of data accuracy obtained by various analytical method in laboratories of countries that participated in the Eight Inter-laboratory testing

ZAKLJUČCI

CONCLUSIONS

Višegodišnja istraživanja kemijskog laboratorija Šumarskog instituta Jastrebarsko na području analitičke kemije korištene pri folijarnim analizama otvorila su mogućnost sudjelovanja tog laboratorija u različitim nacionalnim i međunarodnim istraživačkim programima.

U sklopu Međunarodnog ICP Forests programa na osnovanim trajnim ploha-ma šumskih ekosustava kontinuirano se prati sastav biogenih elemenata u biljnom materijalu te se uz stanje krošanja, vegetaciju tla, kemiju tla i atmosferske depozicije može dobiti slika o oštećenosti šuma.

Da bi se moglo govoriti o ishrani šumskih vrsta drveća i oštećenosti neophodno je biti siguran da su utvrđene količine biogenih elemenata točne i analitičke metode pouzdane. Pouzdanost primijenjenih metoda potvrđuje se u interlaboratorijskim ispitivanjima koje se provode jednom godišnje.

Ova ispitivanja pokazuju dobru analitičku kvalitetu kemijskih analiza i primjenu standardnih internacionalnih metoda te potvrđuju opravdanost laboratorijskih ispitivanja i uvođenja novih metoda kao što je nova metoda određivanja dušika na elementarnom analizatoru CNS 2000.

LITERATURA

REFERENCES

- MOSELLO, R., B. PETRICCIONE, A. MARCHETTO, 2002: Long-term ecological research in Italian forest ecosystem; *J. Limnol.*, 61, 162
- STEFAN K., H. RAITIO, A. FÜRST, 2000: Manual on methods and criteria for harmonised sampling assessment, monitoring and analysis of the effects of air pollution on forests, Part IV, Sampling and analyses of needles and leaves, UN – EC, Hamburg
- RAITIO, H., 1995: Chemical needle analyses as a diagnostic and monitoring method, EC Ecosystem Research Report., 197
- AOAC, 1996: Official methods of analysis of AOAC International, Association of Official Analytic Chemists International, Arlington, VA
- ISO 13878, 1998: Soil quality - Determination of total nitrogen content by dry combustion "elemental analysis"
- LECO corporation USA, 2002: CNS – 2000 Instruction Manual, St. Joseph
- ISO 10694, 1995: Soil quality - Determination of organic and total carbon after dry combustion "elemental analysis"
- LECO corporation USA, 1987: Instruction Manual, SC – 132, St. Joseph
- AOAC, 1996: Official methods of analysis of AOAC International, Association of Official Analytic Chemists International, Arlington, VA
- FÜRST, A., 2006: 8th Needle/ Leaf Interlaboratory comparison Test 2005/2006, Annex – results, Forest Foliar Co-ordinating Centre, Beč, 33

FOLIAR ANALYSES OF SAMPLES FROM INTENSIVE MONITORING
PLOTS AND INTER-LABORATORY TESTING
WITHIN THE FRAMEWORK OF ICP FORESTS PROGRAMME

Summary

Within the framework of International Co-operative Programme on Assessment and Monitoring of Air Pollution Effects on Forests (ICP Forests), research and chemical analyses of plant material has been carried out in Croatia on seven intensive monitoring plots (Level II) with typical forest communities. In order to monitor the reliability of methods of laboratory analyses, as well as to ensure operational quality of analytical methods that can be applied in plant material analysis, Forest Foliar Co-ordinating Centre in Vienna organizes each year Inter-laboratory testing on samples prepared in laboratories of countries taking part in ICP Forests. In 2004, Forest Research Institute, Jastrebarsko prepared leaves of common beech as reference sample for all European laboratories. Samples were tested for the following required elements: sulphur, nitrogen, phosphorous, potassium, calcium and magnesium, and the following optional elements: zinc, manganese, iron and carbon. Obtained results are evidence of high quality of performance of the laboratory of Forest Research Institute in Jastrebarsko. This type of laboratory testing is in line with the requirements of international standards and facilitate testing of new methods introduced into laboratory procedure. New method of determining nitrogen on elementary analyser CNS 2000 was tested in chemical laboratory of the Forest Research Institute, Jastrebarsko and the results have been checked by inter-laboratory testing, which confirmed the validity of the method.

Key words: ICP Forests, intensive monitoring, inter-laboratory monitoring, reference sample, quality of the laboratory