

Wpływ ekstrakcji substancji żywicznych na wyniki pomiaru odbicia światła niebieskiego

Ryszard J. Kaczka, Karolina Janecka, Patrycja Barnaś, Maria Subwierska, Patryk Guzik, Robert Musiol

Abstrakt. Intensywność Odbicia Światła Niebieskiego (ION) jest jednym z najnowszych nośników informacji dendrochronologicznej. Jest ona wyraźnie związana z gęstością drewna, ale jej pomiar jest szybszy i tańszy niż klasyczny pomiar gęstości drewna. Przed pomiarem ION wymagana jest odpowiednia preparacja drewna, która dotyczy między innymi usunięcia substancji zmieniających kolor drewna, głównie żywicy i garbników. Brak jest ogólnie przyjętego trybu postępowania dotyczącego tego etapu preparacji prób. Przeprowadzono eksperyment dotyczący wpływu czasu ekstrakcji substancji żywicznych na wartości ION i parametry statystyczne chronologii, takie jak EPS i Rbar. Wykorzystano próby z sosny czarnej o stosunkowo dużym stopniu zażywiczenia oraz aceton jako rozpuszczalnik substancji organicznych. W ciągu ekstrakcji o zróżnicowanym czasie (od 0 do 50 godz.) wartości ION uległy znaczącym i nieliniowym zmianom. Zestawienie wyników Rbar i EPS wskazuje, że dla tego gatunku optymalnym czasem ekstrakcji są 44 godziny.

Słowa kluczowe: Intensywność Odbicia Światła Niebieskiego, sosna czarna, aceton, ekstrakcja, EPS, Rbar

Abstract. Influence of resin extraction on Blue Intensity measurements. The Blue Intensity (BI) is one of the latest dendrochronological proxy. It is related to the maximum wood density (MXD), but the measurement is faster and cheaper than the classical measurement of wood density. It requires suitable preparation of wood surface, especially removal of the substances altering the color of wood, mainly resin and tannins. There is no generally accepted protocol describing the preparation of samples for ION measurements. The experiment was carried out on the impact of the extraction time on the Blue Intensity and statistics parameters such as expressed population signal (EPS) and inter-series correlation (Rbar). Black pine samples were used with a relatively high content of resin and acetone as an efficient solvent of organic substances. During the nine-step extraction (from 0h to 50h), the values of BI present significant and non-linear changes. The summary of results of Rbar and EPS indicates that the optimum extraction time for this species is 44h.

Key-words: Blue Intensity, black pine, acetone, extraction, EPS, Rbar

Wstęp

Intensywność Odbicia Światła Niebieskiego (ION) jest jednym z najnowszych stosowanych w dendrochronologii nośników informacji o parametrach fizycznych drewna (Sheppard i in. 1996, McCarrol i in. 2002, Campbell i in. 2007, 2011, Rydval i in. 2014). Metoda opiera się na pomiarze wielkości niebieskiej składowej światła odbitego od powierzchni drewna. Intensywność odbitego światła z zakresu długości fal odpowiadających niebieskiej barwie zależy głównie od zawartości ligniny w ścianach komórkowych (Sheppard i in. 1996, Campbell i in. 2007). Pomiar ION dla odpowiednio przygotowanego drewna wymaga specjalnego oprogramowania oraz właściwie skalibrowanego skanera (Campbell i in. 2011). Zaletą metody jest szybkie uzyskiwanie wyników o dużym podobieństwie do standardowo przeprowadzonych pomiarów gęstości drewna, które to wymaga między innymi przygotowania zdjęć rentgenowskich (Rydval i in. 2014). Jednocześnie pomiary ION są tańsze i mniej czasochłonne niż klasyczne pomiary gęstości. Nieodzownym etapem pomiarów ION jest przygotowanie próby, szczególnie przeprowadzenie ekstrakcji substancji organicznych (m.in. żywicy i garbników) powodujących zmiany koloru drewna. Dotychczas nie opracowano standardowej procedury preparacji prób do pomiaru ION.

Celem badań było określenie, czy długość ekstrakcji substancji organicznych wpływa na wyrazistość i spójność sygnału ION zapisanego w przyrostach rocznych.

Material i metody

Do eksperymentu wykorzystano 9 prób pobranych świdrem przyrostowym Presslera z sosen czarnych *Pinus nigra* Arn. Próby pochodziły z drzew o różnym wieku (24-56 lat) rosnących na Półwyspie Chalcydyckim (Halkidiki) w Grecji. Wywierty charakteryzowały się zróżnicowanym stopniem zażywienia oraz występowania bielu i twardej. Ekstrakcję przeprowadzono przy użyciu aparatu Soxhleta, służącego do ekstrakcji periodycznej. Jest to układ elementów szklanych, który zapewnia kontakt drewna z czystym rozpuszczalnikiem przez cały okres ekstrakcji. Proces ten jest możliwy ze względu na połączenie dwóch funkcji – ekstrakcji i destylacji rozpuszczalnika krążącego w zamkniętym obiegu. Do eksperymentu użyto acetonu o stężeniu 99,9%, jednego z powszechniej stosowanych rozpuszczalników organicznych. Jest to najprostszy keton alifatyczny (C_3H_6O) o parametrach fizykochemicznych korzystnych dla procesu ekstrakcji. Ekstrakcję przeprowadzono w kilku etapach, dla których podstawową jednostką było sześć godzin. Każdy etap składał się z ekstrakcji, suszenia prób, skanowania powierzchni drewna oraz pomiaru ION. W sumie przeprowadzono osiem ekstrakcji, których skumulowany czas to: 6, 12, 18, 24, 30, 36, 44 i 50 godzin. Ze względów technicznych siódma ekstrakcja trwała 8 zamiast 6 godzin. Po pobraniu próby zostały powoli wysuszone, co zapobiegło ich pękaniu i krzywieniu się. Przed pierwszą ekstrakcją, poprzez przycięcie i zeszlifowanie przygotowano płaską powierzchnię pomiarową zapewniającą odpowiednią widoczność przyrostów rocznych drewna wtórnego. Próby zeskanowano w rozdzielczości 2400 DPI i trybie RGB używając skanera Epson Expression 10000XL. Skaner skalibrowano pod kątem prawidłowego odwzorowania kolorów stosując wzorzec i program Silverfast IT8. Przy pomocy programu CooRecorder 8.0 firmy Cybis (Larsson 2013) zmierzono szerokości przyrostów rocznych oraz w programie CDendro tego samego pro-

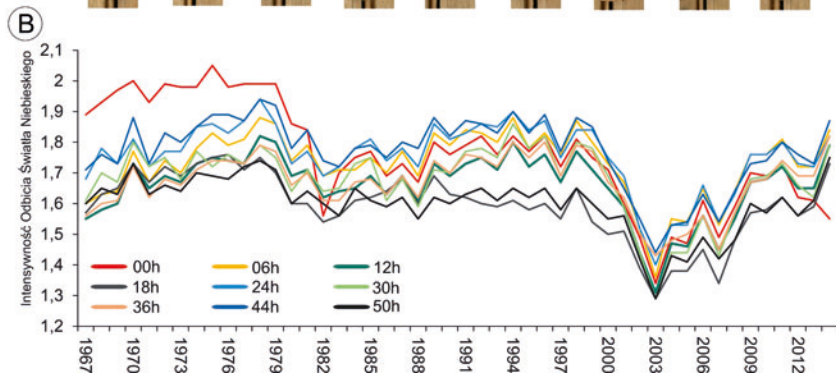
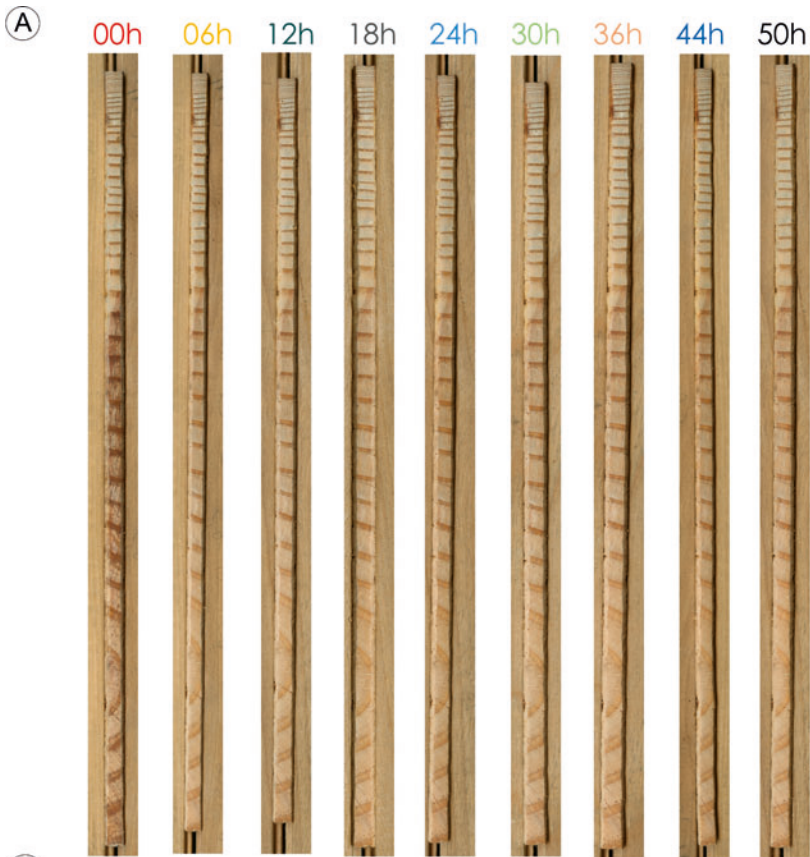
ducenta sprawdzono ich kompletność oraz synchroniczność sekwencji przyrostów analizowanych sosen. Nie stwierdzono wyraźnych różnic w przebiegu dendrogramów oraz brakujących przyrostów. Wykorzystując ten sam program, lecz przy użyciu dodatkowych funkcji zmierzono ION. Pierwszy pomiar ION jaki dokonano, dotyczył prób niepoddanych ekstrakcji. Analogiczne pomiary powtarzano po każdym etapie ekstrakcji. Podczas pomiaru w CooRecorder zwracano szczególną uwagę na to, aby za każdym razem punkty pomiarowe znajdowały się w możliwie tych samych miejscach na granicy sło-
jów. W celu porównania wpływu chemicznego usuwania żywicy, garbników i innych rozpuszczalnych w acetonie substancji zestawiono ze sobą chronologie ION zbudowane po każdym kolejnym etapie ekstrakcji. W sumie porównano 9 chronologii, zbudowanych z pomiarów przeprowadzonych dla tych samych prób. W tym celu zastosowano program Arstan (Cook 1985), a następnie obliczono korelację między chronologiami wartości rzeczywistych. W tym samym programie obliczono dwa podstawowe parametry dla każdej chronologii: a) siłę sygnału populacji (EPS, Wigley 1983) oraz korelację między seriami pomiarowymi (Rbar, Cook i Kairiukstis 1990).

Wyniki

Pomiar dokonany przed ekstrakcją był utrudniony, co wynikało z dużej zawartości żywicy, która w przypadku niektórych prób utrudniała identyfikację przebiegu granicy przyrostów rocznych. Bez względu na stopień zażywienia już po pierwszym etapie ekstrakcji (6 h) większość substancji organicznych rozpuszczalnych w acetonie wydawała się być usunięta i szczegóły sło-
jów stały się dobrze widoczne. Na podstawie obserwacji makroskopowych trudno było określić różnice w wyglądzie drewna między pierwszym a kolejnymi etapami ekstrakcji

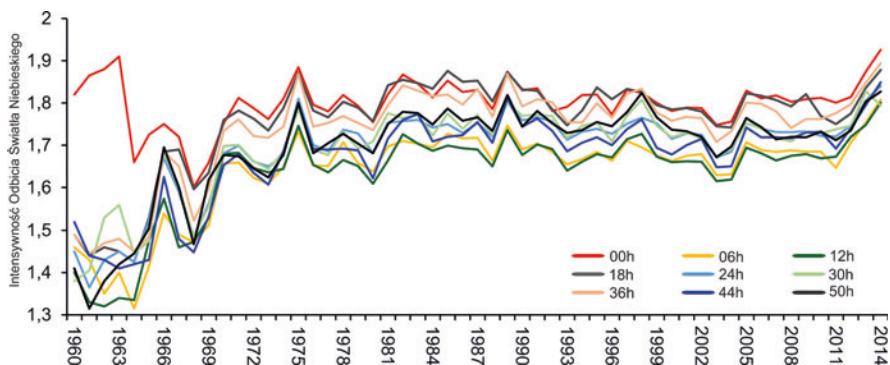
(Ryc. 1A). Dla niektórych prób w dalszym ciągu wyróżniał się ciemniejszy kolor twar-
dzieli, który stopniowo ulegał rozjaśnieniu po kolejnych etapach działania rozpuszczal-
nika. Pomiary ION przeprowadzone po każdej ekstrakcji wykazują różnice. Na przykładzie jednego drzewa wyraźnie widać, że dla drewna zażywionego, niepoddanego ekstrakcji, ION przyjmuje wysokie wartości, które następnie wyraźnie zmniejszają się już po sześciu godzinach działania rozpuszczalnika. Kolejne etapy nie powodują liniowej zmiany wartości ION (Ryc. 1B).

Podobnie zmienia się przebieg chronologii reprezentujących wszystkie badane próby. Zmiana dotyczy głównie drewna juwenilnego, gdzie występowało dużo żywicy i garbników (Ryc. 2). Ta pierwsza substancja wydaje się być usunięta już po sześciu godzinach, powodując wyraźne zmniejszenie się wartości ION dla pierwszych dwóch dekad. Ekstrakcja kolejnych porcji żywicy oraz pozostałych substancji zmieniających kolor drewna zachodziła stopniowo. Jest to wyraźnie widoczne w zmianach wartości ION dla każdego kolejnego etapu ekstrakcji. Po 50 skumulowanych godzinach, wartości ION mieszczą się po środku zakresu jaki przyjmują wszystkie chronologie. Najwyższe wartości otrzymano po 0 h oraz 18 h, natomiast najniższe dla 0 h i 12 h.



Ryc. 1. Porównanie wyglądu tej samej próby po kolejnych etapach ekstrakcji (A) oraz wyników pomiarów ION (B)

Fig. 1. The comparison between: (A) the appearances of the same sample after each step of the extraction, and (B) Blue Intensity measurements



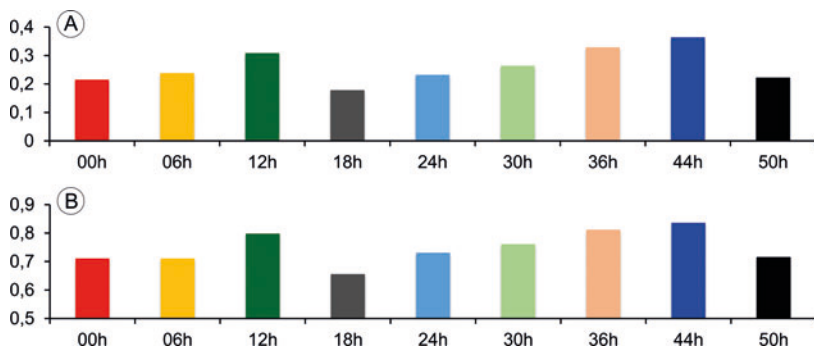
Ryc. 2. Chronologie ION zbudowane z pomiarów przeprowadzonych dla tych samych prób po kolejnych etapach ekstrakcji.

Fig. 2. BI chronologies built based on the measurements of the same 9 samples after consecutive steps of the extraction.

Tab. 1. Macierz współczynników korelacji dla chronologii ION reprezentujących 9 kolejnych etapów ekstrakcji

Table 1. The correlation coefficient matrix for BI chronologies representing 9 steps of extraction

	0H	6H	12H	18H	24H	30H	36H	44H	50H
0H									
6H	0,43								
12H	0,32	0,97							
18H	0,32	0,97	0,97						
24H	0,36	0,96	0,98	0,97					
30H	0,27	0,92	0,97	0,93	0,96				
36H	0,41	0,97	0,96	0,98	0,98	0,96			
44H	0,48	0,97	0,96	0,94	0,96	0,92	0,97		
50H	0,29	0,94	0,96	0,96	0,98	0,96	0,97	0,94	



Ryc. 3. Porównanie parametrów chronologii ION reprezentujących 9 kolejnych etapów ekstrakcji: (A) siła sygnału populacji – EPS, (B) korelacji między seriami pomiarowymi Rbar

Fig. 3. The comparison of statistics for BI chronologies representing 9 steps of extraction: (A) expressed population signal - EPS, and (B) inter-series correlation - Rbar

Porównanie statystycznego podobieństwa 9 badanych chronologii, w postaci macierzy współczynników korelacji przedstawiono w Tabeli 1. Podczas eksperymentu wykonano pomiary ION dla tych samym prób. Następnie skonstruowano chronologie ION, stosując takie same metody, zatem można byłoby spodziewać się bardzo wysokich wartości współczynnika korelacji między chronologiami. Stwierdzono jednak duże różnice między chronologiami, szczególnie dla 0 h i 30 h ($r=0,27$) oraz 0 h i 50 h ($r=0,29$). Druga wartość wskazuje na wyraźny wpływ ekstrakcji na wartości ION, co wynika ze zmian przebiegu pojedynczych serii pomiarowych, a w efekcie całej chronologii. W związku z tym, zmieniają się również parametry takie jak Rbar i EPS (Ryc. 3). Korelacja między seriami pomiarowymi ulega wyraźnym zmianom w trakcie eksperymentu (od 0,19 do 0,37). Kolejne etapy ekstrakcji przekładają się na zwiększanie wartości Rbar, aż do 18 h, kiedy podobieństwo między seriami gwałtownie spada osiągając najniższą wartość, mniejszą nawet niż dla prób niepoddanych ekstrakcji (0,22). Wynik jest interesujący z tego powodu, iż optycznie próby po skumulowanym czasie ekstrakcji 18 h nie różnią się od 12 h i 24 h (Ryc. 1A). Kolejne etapy ekstrakcji powodują ponowne zwiększanie wartości Rbar, aż do 44 h, dla których przyjmuje on wartość maksymalną (0,37). Wydłużanie ekstrakcji o kolejne sześć godzin powoduje ponowne obniżenie wartości Rbar (0,23). Podobnie zachowuje się wskaźnik statystyczny opisujący siłę wspólnego sygnału (EPS). W tym przypadku brak jest istotnej różnicy między 0 h i 6 h (0,7 i 0,71), co wskazuje, że tak wizualnie zauważalna modyfikacja wyglądu drewna nie przekłada się na zmiany jakościowe w tych cechach pomiarów ION. Również wskaźnik EPS dla chronologii zbudowanej z pomiarów ION po 18 h ekstrakcji osiąga najniższą wartość (0,67). Następnie wartości EPS powolnie rosną, aż do 0,85 dla 44 h. Jedynie dla tego etapu ekstrakcji chronologia osiąga umowną wartość krytyczną 0,85 (Wigley i in. 1984).

Wnioski

- Ekstrakcja żywicy i garbników znacząco wpływa na kolor drewna. Wyraźna różnica zachodzi już po 6 godzinach działania acetonu. Wydłużanie ekstrakcji pozornie nie wpływa na dalsze dostrzegalne modyfikacje. Pomiary intensywności odbicia światła niebieskiego wskazują, że pomimo trudnych do zaobserwowania makroskopowo zmian, właściwości optyczne drewna po każdym etapie ekstrakcji ulegają zmianie.
- Porównanie wyników ION, mierzonych w dziewięciu 6-godzinnych interwałach wskazuje, że pod względem podobieństwa (Rbar) i koherencji (EPS) sygnału występuje wyraźna, nieliniowa zależność od długości ekstrakcji.
- Wyniki eksperymentu wskazują na konieczność prowadzenia ekstrakcji żywicy i garbników w ramach preparacji prób do pomiarów ION. Sugerują one również potrzebę dobierania czasu ekstrakcji do konkretnego gatunku. Dla sosny czarnej optymalnym czasem ekstrakcji są 44 h.

Podziękowania

Badania zostały sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2013/11/B/ST10/04764 w ramach projektu *Zastosowanie analiz intensywności odbicia światła niebieskiego jako nowego źródła danych w dendrochronologicznych badaniach zmian klimatu Europy*.

Literatura

- Campbell R., McCarroll D., Loader N.J., Grudd H., Robertson I., Jalkanen R. 2007. Blue intensity in *Pinus sylvestris* tree-rings: developing a new palaeoclimate proxy. *Holocene* 1: 821-828.
- Campbell R., McCarroll D., Robertson I., Loader N.J., Grudd H., Gunnarson B. 2011. Blue intensity in *Pinus sylvestris* tree rings: a manual for a new palaeoclimate proxy. *Tree-Ring Research* 67 (2): 127-134.
- Cook E.R. 1985. A time series analysis approach to tree-ring standardization. Ph.D. Thesis, University of Arizona, Tucson, 171 pp.
- Cook E.R., Kairiukstis L. A. 1990. *Methods of dendrochronology: applications in the environmental sciences*. Kluwer, 394 pp.
- Larsson L., 2013. CooRecorder and Cdendro programs of the CooRecorder/Cdendro package version 7.8.
- McCarroll D., Pettigrew E., Luckman A., Guibal F., Edouard J.-L. 2002. Blue reflectance provides a surrogate for latewood density of high-latitude pine tree rings. *Arctic, Antarctic and Alpine Research* 34: 450-453.
- Rydval M., Larsson L.Å., McGlynn L., Gunnarson B.E., Loader N. J., Young G.H., Wilson R., 2014. Blue Intensity for dendroclimatology: Should we have the blues? *Experiments from Scotland*. *Dendrochronologia* 32 (3): 191-204.
- Sheppard P.R., Graumlich L.J., Conkey L.E. 1996. Reflected-light image analysis of conifer tree rings for reconstructing climate. *Holocene* 6 (1): 62-68.
<http://www.cybis.se/forfun/dendro/>.

¹Ryszard J. Kaczka*, **¹Karolina Janecka**, **¹Patrycja Barnaś**, **¹Maria Sulwierska**, **¹Patryk Guzik**, **²Robert Musiol**

¹Wydział Nauk o Ziemi, Uniwersytet Śląski

²Instytut Chemii, Uniwersytet Śląski

*ryszard.kaczka@us.edu.pl