

1.- INTRODUCCIÓ

Els resultats de Py-GC-MS han permès conèixer millor l'estructura química de macromolècules naturals a nivell molecular. No obstant, algunes reaccions tèrmiques indesitjades han induït a conclusions incorrectes respecte l'estructura original del polímer (Schulten *et al.*, 1992). Aquests autors van identificar en l'estructura dels àcids húmics mitjançant piròlisi cadenes llargues de compostos alquilaromàtics no detectant la presència d'oxigen malgrat saber que contenia un 33-34% per anàlisi elemental. Posteriorment els mateixos autors van estudiar les mateixes mostres per piròlisi-metilació detectant funcions carboxíliques, derivades del fenol, hidroxils i éters que justificaven la presència d'oxigen (Schulten i Schnitzer, 1993,1995).

L'esterificació de l'àcid p-cumàric genera àcid p-cumàric com a producte principal de la piròlisi que seguidament sotmès a descarboxilació dona lloc a la formació de p-vinilfenol (Tegelaar *et al.* 1989a). La piròlisi de substàncies que contenen macromolècules polars dona lloc a compostos volàtils polars detectables pel cromatògraf; no obstant, compostos molt polars queden adherits a la columna i amb una insuficient volatilitat per a ser detectats pel cromatògraf. Així doncs, aquests productes no s'observen i no es poden quantificar malgrat saber que hi són presents per altres tècniques (¹³C-NMR, IR, etc.). L'alta polaritat d'aquests compostos provoca la seva descomposició abans de la volatilització, evitant la transferència del pirolitzador a la columna cromatogràfica.

Per tal de millorar els resultats obtinguts per la piròlisi convencional que en alguns casos conduïen a conclusions errònies (Schulten *et al.*, 1992) es va desenvolupar la tècnica TMAH termoquimòlisis o també anomenada *piròlisi-metilació*. Inicialment aquesta tècnica va ser introduïda com una piròlisi amb una metilació *in situ* (Challinor, 1989). El reactiu emprat és l'hidròxid de tetra-alquil amoni que reacciona a altes temperatures amb grups carboxils, hidroxils donant lloc als seus respectius alquil derivats, més fàcils de detectar pel cromatògraf de gasos, ja que són menys polars (Challinor, 1989; de Leeuw i Baas, 1993; Hatcher i Clifford, 1994; Martín *et al.*, 1994; Martín *et al.*, 1995a).

Aquest mètode impedeix la descarboxilació i dona lloc a metil ésters d'àcids carboxílics i metil éters de compostos amb grups hidroxils, produint compostos volàtils polars detectables pel cromatògraf.

Aquesta tècnica ha permès conèixer millor l'estructura de les substàncies húmiques, ja que es detecten molts més compostos que la piròlisi convencional (Martín *et al.*, 1994; Hatcher i Clifford, 1994; Martín *et al.*, 1995a; del Río i Hatcher, 1996).

Challinor (Challinor, 1989; Challinor, 1991 a,b) va introduir aquesta tècnica en polímers derivats del fenol i des d'aleshores ha estat aplicada a diferents polímers naturals o artificials i resines (Challinor, 1989; Challinor, 1991 a; Anderson i Winans, 1991; Leew i Baas, 1993; Martín *et al.*, 1995 b; Clifford *et al.*, 1995; González-Vila *et al.*, 1996; del Río i Hatcher, 1998; del Río *et al.*, 1998 a,b; del Río *et al.*, 1999); substàncies húmiques (Saiz-Jiménez *et al.*, 1993, 1994; Saiz-Jiménez, 1994 a,b; Chiavari *et al.*, 1994; del Río *et al.*, 1994; del Río i Hatcher, 1996; Martín *et al.*, 1995 a; Fabbri *et al.*, 1996); asfaltens, querògens (del Río *et al.*, 1993; del Río *et al.*, 1995; Kralert *et al.*, 1995) i sòls (Schulten i Sorge, 1995; Schulten *et al.*, 1996).

S'ha demostrat amb grups ésters alifàtics i àcids benzencarboxílics que aquest procediment consisteix més en una quimòlisi tèrmica o *termoquimòlisi* que d'una piròlisi seguida per la metilació de productes (de Leeuw and Baas, 1993; Martín *et al.*, 1994; Clifford *et al.*, 1995; Challinor, 1994). Aquest comportament més adreçat a la quimòlisi tèrmica es va demostrar a temperatures de subpiròlisi (300°C) productes semblants als obtinguts per piròlisi a altes temperatures (Hatcher i Clifford, 1994; Clifford *et al.*, 1995). A més, McKinney *et al.*, (1995) va caracteritzar lignines a temperatures de subpiròlisi (300°C) en presència de TMAH utilitzant tubs de pyrex hermètics. Des d'aleshores aquesta tècnica s'ha emprat extensament per caracteritzar lignines i fustes degradades (Hatcher *et al.*, 1995).

Aquesta tècnica ha estat més correctament anomenada hidròlisi-metilació tèrmica (*Thermally assisted hydrolysis and methylation*: THM) (Challinor, 1994) malgrat que el terme piròlisi-metilació és el més emprat entre els diferents autors.

Aquesta tècnica té molts avantatges comparada amb mètodes químics destructius (mètode CuO) o fins i tot amb la piròlisi convencional ja que ens dóna més informació sobre compostos polars de polímers, minimitzant la manipulació de la mostra i a un baix cost (Challinor, 1989, 1991a, 1991b). Diversos autors confirmen que els productes obtinguts per THAM en les substàncies húmiques resulten ser de dues a quatre vegades més abundants que en la piròlisi convencional (Hatcher i Clifford, 1994). Una limitació de la piròlisi amb TMAH és la incapacitat de distingir si els grups metoxi són grups originals de la molècula o provenen de la metilació dels grups hidroxils. Per solventar aquest problema s'han realitzat experiments en biopolímers i geomacromolècules emprant el reactiu hidròxid de tetrabutil amoni (TBAH), obtenint bons resultats (Martín *et al.*, 1995 b). La piròlisi en presència de TBAH incorpora un grup butil en el grup hidroxil lliure originari (formant un O-butil éter) distingint-se d'un possible grup metoxi present en el polímer inicial (**fig.1**).

2.- MECANISME DE LA PIRÒLISI-METILACIÓ

S'han dut a terme estudis per avaluar el comportament d'àcids benzencarboxílics, àcids cinàmics i alcohols cinàmils mitjançant la piròlisi convencional, la piròlisi-metilació i la piròlisi butilació (del Río *et al.*, 1996). La **taula 1** mostra els diferents productes obtinguts pels tres procediments.

Es pot observar que els àcids benzendicarboxílics i benzentricarboxílics sotmesos a descarboxilació mitjançant la piròlisi convencional donen lloc majoritàriament a àcid benzoic. Només en el cas que els grups carboxils es localitzin en posició orto deriven en el seu corresponent compost anhidre (1,3-benzofurandiona) (**fig. 2a**).

De la mateixa manera, els àcids cinnàmics [àcid 3-(4-hidroxifenil) 2-propenoic, àcid 3-(3-metoxi-4-hidroxifenil) 2-propenoic, àcid 3-(3,5-dimetoxi-4-hidroxifenil) 2-propenoic sotmesos a descarboxilació per mitjà de piròlisi convencional produeixen els seus respectius vinilfenols.

Fig.1. - Mecanisme de piròlisi dels àcids benzencarboxílics amb absència i presència de TMAH.

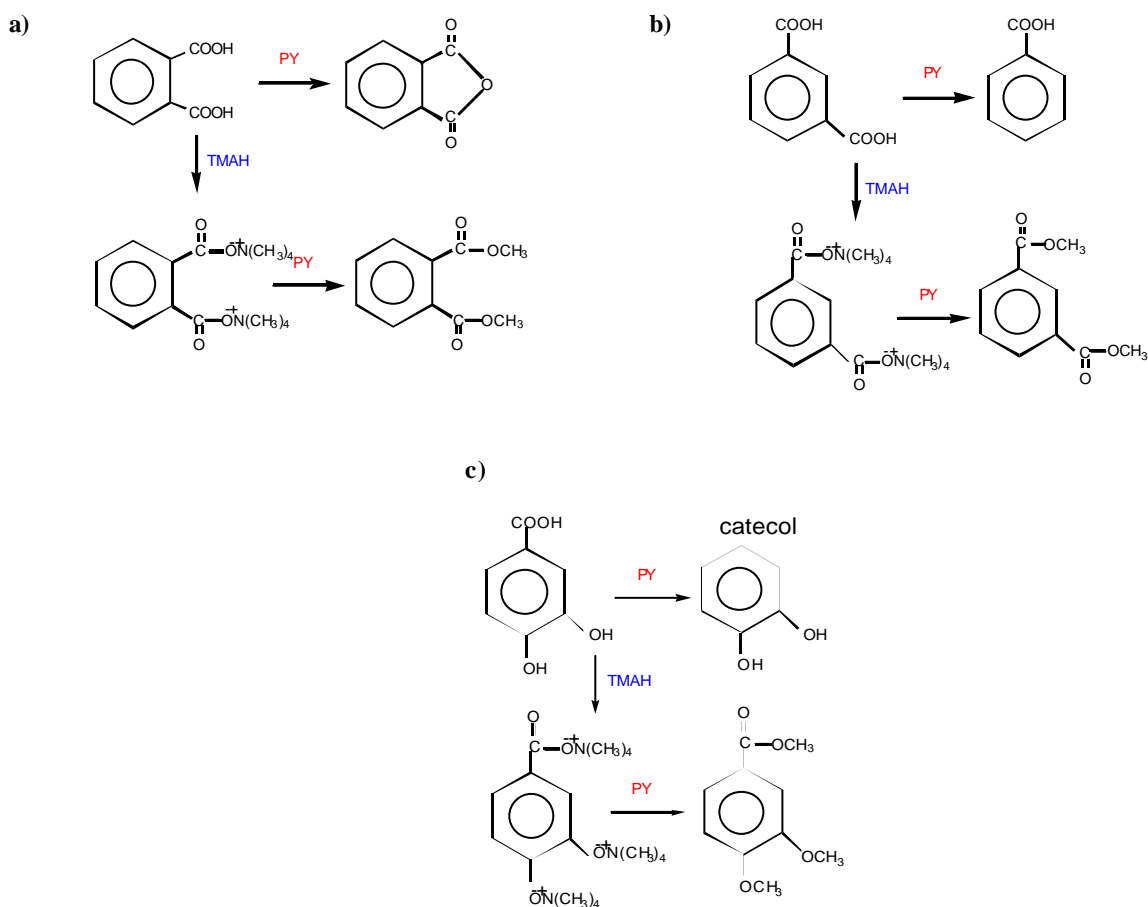
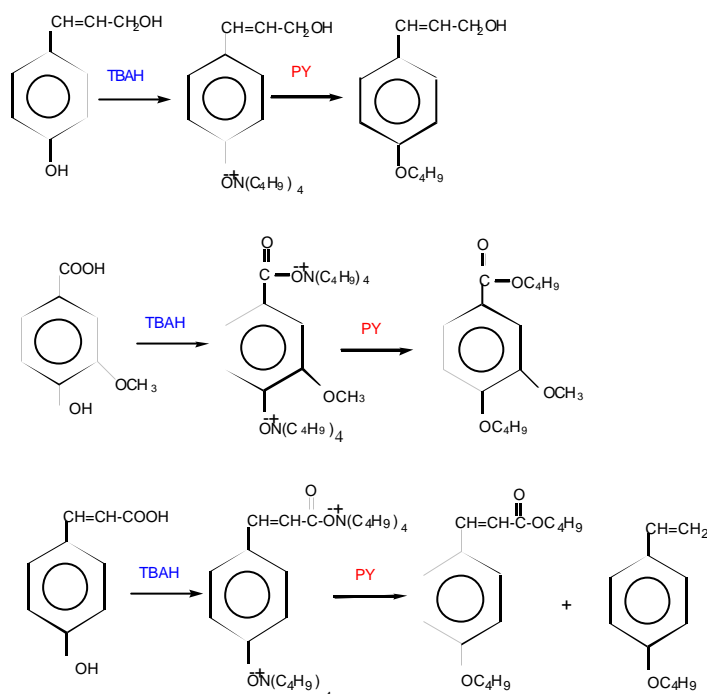


Fig.2.- Mecanisme de la piròlisi-butilació proposat per del Ríó *et al.*, 1996 de diferents àcids aromàtics.



Aquests experiments demostren clarament les limitacions de la piròlisi convencional quan s'aplica a la caracterització estructural de macromolècules que contenen àcids benzencarboxílics ja que la descarboxilació a la que estan sotmesos en condicions de piròlisi convencional dificulta la identificació dels compostos originals. Pel contrari, la piròlisi en presència de TMAH i TBAH converteix els àcids benzencarboxílics i cinnàmics en els seus respectius metil i butil ésters.

Taula 1.- Productes obtinguts mitjançant diferents procediments piròlitics.

Compost	Piròlisi convencional	Piròlisi-metilació	Piròlisi-butilació
Àcid 1,2-benzendicarboxílic	1,3-Benzofurandiona	Àcid 1,2-benzendicarboxílic,	Àcid 1,2-benzendicarboxílic,

Àcid 1,3-benzendicarboxílic	Àcid benzoic	dimetil éster. Àcid 1,3-benzendicarboxílic, dimetil éster.	dibutil éster. Àcid 1,3-benzendicarboxílic, dibutil éster.
Àcid 1,4-benzendicarboxílic	Àcid benzoic	Àcid 1,4-benzendicarboxílic, trimetil éster.	Àcid 1,4-benzendicarboxílic, dibutil éster.
Àcid 1,2,4-benzentricarboxílic	Àcid benzoic + 1,3-benzofurandiona	Àcid 1,2,4-benzentricarboxílic, trimetil éster.	Àcid 1,2,4-benzentricarboxílic, tributil éster.
Àcid 1,3,5-benzentricarboxílic	Àcid benzoic	Àcid 1,3,5-benzentricarboxílic, trimetil éster.	Àcid 1,3,5-benzentricarboxílic, tributil éster.
Àcid 3-(4-hidroxifenil)-2-Propenoic	4-vinilfenol	Àcid 3-(4-metoxifenil)-2-propenoic,metil éster	Àcid 2-Propenoic,3-(4-butoxifenil),butil éster + 4-vinilbutoxibenze (1:1).
Àcid 3-(3,5-dimetoxi-4-hidroxifenil)-2-Propenoic	4-vinil-2,6-dimetoxifenol	Àcid 3-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-propenoic, metil éster	Àcid,3-(3,5-dimetoxi-4-butoxifenil)-2-Propenoic butil éster + 4-vinil-2,6-dimetoxibutoxibenze (1:10).
Àcid 3-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-2-Propenoic	4-vinil-2-metoxifenol	Àcid 3-(3,4-dimetoxifenil)-2-propenoic metil éster	Àcid 3(3-metoxi-4-butoxifenil)-2-propenoic butil éster + 4-vinil-2-metoxibutoxibenze (1:5).
3-(4-hidroxifenil)-2-Propenol	3-(4-hidroxifenil)-2-Propenol	,3-(4-metoxifenil)-2-propenol, metil éter	3-(4-butoxifenil) 2-Propenol
3-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-2-Propenol	3-(3-dimetoxi-4-hidroxifenil)-2-Propenol	3-(3,4-dimetoxifenil)-2-propenol, metil éter	3-(3-metoxi-4-butoxifenil) 2-Propenol
3-(3,5-dimetoxi-4-hidroxifenil)-2-Propenol	3-(3,5-dimetoxi-4-hidroxifenil)-2-Propenol	3-(3,4,5-trimetoxifenil)-2-propenol, metil éter	3-(3,5-dimetoxi-4-butoxifenil) 2-Propenol

L'absència de benzoat de metil i 1,3-benzofurandiona reforça la idea recolzada per diversos autors que aquest mecanisme consisteix més en una hidròlisi i alquilació a temperatures altes que no pas una metilació de productes pirolitzats (Challinor, 1991 b; Leeuw and Baas, 1993; Clifford *et al.*, 1995; del Río *et al.*, 1995).

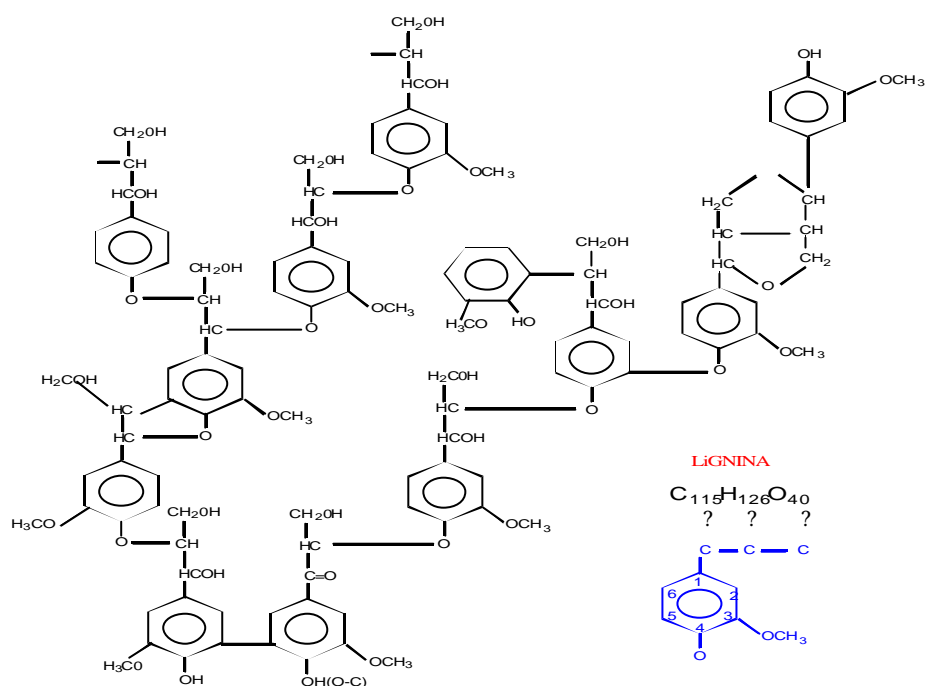
Després de TBAH només els grups –OH experimenten la butilació mentre que els alcohols alifàtics romanen insubstituïts, probablement degut al seu caràcter àcid més dèbil. A partir d'aquestes dades, del Río *et al.*, (1996) van suggerir un mecanisme per a la piròlisi metilació d'àcids benzencarboxílics substituïts (**fig.1**). De la mateixa manera aquests autors van proposar el mecanisme de piròlisi butilació de diferents unitats derivades de la lignina (**fig.2**).

2.1. - APLICACIÓ DE LA PIRÒLISI-METILACIÓ A SUBSTÀNCIES HÚMIQUES.

La lignina forma part de l'estructura de la majoria de materials húmics i molts compostos derivats de la lignina són identificats mitjançant TMAH/termoquimòlisi (Martín *et al.*, 1995b). El procés de transformació de la matèria orgànica vegetal en carbó s'inicia en l'estadi de torba on la cel.lulosa és degradada i eliminada mentre que la lignina roman preservada (Stout *et al.*, 1988; Hatcher *et al.*, 1988, 1989; Hatcher 1990, Bates *et al.*, 1991). La modificació de la lignina comporta la pèrdua de grups metoxi (OCH₃) per tal de generar o-hidroxifenols, i l'oxidació de cadenes alifàtiques per formar grups carboxílics (COOH). En la **fig. 3** és representa el model d'una lignina d'una gimnosperma que pot a entendre

millor la seva estructura i tot el que s'esmenta a continuació. Mentre que la lignina de la gimnosperma està formada per agrupacions guaiacil; les lignines de les angiospermes i de la plantes herbàcies contenen també unitats siringil i p-hidroxicumaril. La majoria de compostos que formen la lignina estan units entre ells mitjançant enllaços via β -O-4 però altres enllaços són β - β , β -O-4, β -5 i 5-5' tenint en compte la notació estàndar per les unitats de les lignines (**fig. 3**).

Fig.3.- Estructura del model d'una lignina d'una gimnosperma (modificat per Adler, 1977)



3.- METODOLOGIA EXPERIMENTAL

≪≪ Punt de Curie flash-Piròlisi-Cromatografia de gasos- Espectrometria de masses

La piròlisi es va dur a terme amb un equip Varian Saturn 2000-Gc-MS, utilitzant una columna 30mx0.25 mm DB-5 (espesor de capa de 0.25 μ m), acoblat a una piroplitzador de punt de Curie (instruments Horizon Ltd.). Uns 100 μ g de mostra es dipositen en un fil ferromagnètic i s'inserten en un tub de vidre prim i es col.loquen al piroplitzador. La piròlisi es va dur a terme a 610 $^{\circ}$ C.

La programació de la temperatura del cromatògraf de gasos (Varian Saturn 2000) va ser des de 40 $^{\circ}$ C (1 minut) a 300 $^{\circ}$ C a velocitat de 6 $^{\circ}$ C/min. La temperatura final va ser mantinguda durant 20 minuts. L'injector, equipat amb una unitat de diòxid de carboni líquid criogènic va ser programat des de -30 $^{\circ}$ C (1 minut) fins a 300 $^{\circ}$ C a 200 $^{\circ}$ C/min, mentre que la interfase GC-MS es va conservar a 300 $^{\circ}$ C. Els compostos es van identificar comparant l'espectre de masses obtingut amb els que disposa el programa informàtic Wiley i Nist. Per la piròlisi-metilació 100 μ g de mostra va ser finament triturada, dipositada en un fil ferromagnètic i mesclada amb 0.5 μ l TMAH (25% w/w solució aquosa) El fil va ser insertat en el tub prim de vidre (*liner glass*) i seguidament introduïts al piroplitzador. Les condicions de piròlisi són les mateixes que les descrites anteriorment.

Els àcids húmics analitzats per piròlisi-metilació van ser extrets d'una leonardita de Torrelapaja. El procediment analític per obtenir els àcids húmics va consistir en sotmetre la mostra a una extracció alcalina per obtenir l'extracte húmic total i posteriorment precipitaren en aquest extracte els àcids húmics, acidificant fins pH = 1 (Mètode oficial RD 877/1991. BOE 140, 12/6/1991).

El percentatge d'àcids húmics extret de la leonardita és d'un 79% i els resultats de l'anàlisi elemental calculats lliures de cendres i humitat dels àcids húmics (Senillosa, 1999) són els següents:

Taula 2. - Composició elemental i relacions H/C, O/C, N/C i S/C (lliures d'humitat i de cendres) dels àcids húmics de la Leonardita.

%C	%H	%N	%S	%O	%cendres
55.2	3.4	0.8	2.4	38.1	13.5
H/C	O/C	N/C	S/C		
0.71	0.52	0.01	0.02		

4.- CARACTERITZACIÓ DELS ÀCIDS HÚMICS

En les **fig.4** i **fig.5** es presenten els cromatogrames obtinguts després de la piròlisi dels àcids húmics procedents de la leonardita amb presència i absència de TMAH. Els compostos identificats es presenten a la **taula 3**. Com es pot observar en la **fig.5** la quantitat de productes obtinguda per piròlisi-metilació (**fig.4**) és considerablement superior a l'obtinguda per piròlisi convencional (**fig.5**). En la piròlisi amb el reactiu TMAH han estat identificades cadenes llargues d'àcids grassos metil esters així com derivats del fenol i àcids aromàtics metil ésters. Tal i com suggereixen diferents autors (del Ríó *et al.*, 1996; Hatcher i Clifford, 1994; Martín *et al.*, 1995a) aquests compostos representen estructuralment la macromolècula húmica.

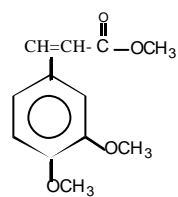
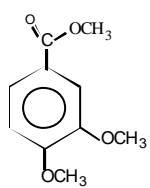
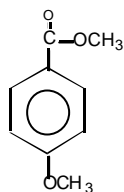
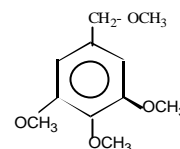
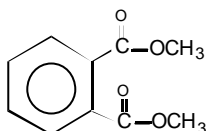


Fig.6.- Estructura de diversos compostos identificats per TMAH: a) pic 5; b) pic 11; c) pic 2; d) pic 3; e)pic 8 corresponents a la **taula 3**.

a) Àcid 3,4-dimetoxibenzoic metil éster.



b) Àcid 3-(3,4-dimetoxifenil)-2-propenoic metil éster.



c) Àcid 4-metoxibenzoic, metil éster. d) Àcid 1,2-benzendicarboxílic dimetil éster. e) 3,4,5-trimetoxibenzenmetanol, metil éter.

ÀCIDS ALIFÀTICS

Les sèries d'àcids alifàtics identificades en la leonardita de Torrelapaja després de la piròlisi en presència de TMAH comprenen cadenes d'àcids monocarboxílics de 10 a 26 àtoms de carboni amb predomini parell (màxims a C_{16} i C_{26}). Aquests àcids grassos monocarboxílics també hi són presents en la piròlisi convencional (**fig.5**) encara que amb menys proporció degut no només a la metilació de productes volàtils pirolitzats sinó també a les reaccions de transesterificació que tenen lloc en la piròlisi en presència de TMAH (de Leew i Baas, 1993). També s'ha identificat l'àcid gras de 18 àtoms de carboni ($C_{18:1}$ -àcid oleic) amb una insaturació .

Els àcids carboxílics de cadena lineal ja foren identificats en mostres geològiques recents i antigues, a les primeres etapes de desenvolupament de la geoquímica orgànica (Cooper i Bray, 1963). L'ur distribució amb predomini parell i amb màxims als homòlegs de C_{16} i C_{26} en les substàncies húmiques aïllades de carbons poc madurs es relaciona amb aportacions de plantes superiors (del Ríó *et al.*, 1994; Martín *et al.*, 1995a; del Ríó i Hatcher, 1996).

Aquest predomini parell sobre senar amb màxims als homòlegs de C_{16} , C_{18} i C_{26} també s'ha descrit en querògens i asfaltens de Puertollano (del Ríó *et al.*, 1996).

L'origen d'aquests àcids alifàtics s'atribueix a un biopolímer altament alifàtic present en cutícules de fòssils de plantes i suberines (Largeau *et al.*, 1986; Nip *et al.*, 1986). Aquestes series d'àcids grassos poden procedir d'èsters incorporats a cadenes llargues d'àcids carboxílics unides a la xarxa macromolecular de la substància húmica mitjançant enllaços

ésteres (del Ríó i Hatcher, 1996). L'àcid palmític (C₁₆) és un dels àcids grassos més característics present en moltes grasses naturals i recentment identificat en diferents sediments orgànics acumulats en la pasta de paper (del Ríó *et al.*, 1999, del Ríó *et al.*, 1998a) i en la cutina aïllada d'un fruit de Papaya (del Ríó i Hatcher, 1998).

La cutina és un biopoliéster que es localitza en escorces de plantes superiors com a barreres protectores externes (Kolattukudy, 1980,1984). De forma general, les cutines de les angiospermes es classifiquen en tres categories depenent del corresponent homòleg de l'àcid gras predominant: tipus C₁₆, C₁₈ i mixte: C₁₆ i C₁₈. Les cutines de les gimnospermes i altres plantes inferiors generalment no tenen l'homòleg amb 18 àtoms de carboni (Holloway, 1982). La suberina és un biopolímer semblant però es localitza en escorces protectores de superfícies de plantes subterrànies. Consta principalment de cadenes llargues (C₁₆-C₂₄) de poliésters alifàtics: ω -hidroxiàcids i àcids ω,ω -dicarboxílics característics de parets cel·lulars (Kolattukudy, 1978). Malgrat que aquests biopolímers són components minoritaris de la biomassa original són més refractaris que altres components vegetals majoritaris, incloent la lignina, podent-se concentrar en els primers estadis de la diagènesi. L'aparició de àcids grassos insaturats pot ser deguda a les reaccions d'isomerització dels àcids grassos insaturats en presència d'un excés de reactiu TMAH (Challinor, 1991b) o bé a reagupaments tèrmics (Tegelaar *et al.*, 1989b) propis de la piròlisi.

COMPOSTOS DERIVATS DEL FENOL

Els compostos derivats del fenol identificats en la leonardita de Torrelapaja són: l'àcid 4-metoxibenzoic, metil éster (**fig.6c**); àcid 3,4-dimetoxibenzoic, metil éster (**fig.6a**) corresponents a les estructures p-cumaril i guaiacil indicant la presència de plantes herbàcies i gimnospermes, respectivament.

També s'ha trobat el compost 3,4,5-trimetoxibenzenmetanol (**fig.6e**), metil éter, identificat també en l'extracció d'àcids húmics procedents d'una torba (del Ríó *et al.*, 1994). Per altra banda no s'han identificats compostos d'estructures siringil (pic base m/z 211).

Alguns compostos derivats del fenol ens aporten informació respecte agrupacions que constitueixen la lignina: l'agrupació p-cumaril és característica de plantes herbàcies, l'agrupació guaiacil de gimnospermes i l'agrupació siringil d'angiospermes. La lignina de pi (representativa de les gimnospermes) està formada exclusivament per agrupacions guaiacil (Martín *et al.*, 1995 b).. Aquestes agrupacions (p-coumaril, guaiacil i siringil) han estat identificades en diferents substàncies húmiques procedents de sòls (del Ríó i Hatcher, 1996), de carbons poc madurs (del Ríó *et al.*, 1994, 1996, 1998 a).

Cal destacar però, que aquests dos compostos i en general tots els compostos que contenen grups metoxi, la impossibilitat de no poder discernir per piròlisi metilació si els grups metoxi (-OCH₃) són originals o han estat metilats. Per evitar aquest problema s'hauria de realitzar una piròlisi-butilació (**fig.2**). El compost 3,4-dimetoxibenzoic (**fig.6 a**) va estar identificat en una lignina de pi; després de la piròlisi butilació es va obtenir la butilació del grup hidroxil en la posició C-4 i la metilació del grup carboxil. Aquest exemple demostra que el grup carboxil era inicialment metilat en l'estructura de la lignina (Martín *et al.*, 1995b).

En referències anteriors (del Río *et al.*, 1994) per mitjà de la tècnica ¹³C-NMR s'han detectat catecols en l'extracte dels àcids húmics d'un lignit i pel contrari hi són absents en la torba.

ÀCIDS AROMÀTICS

S'han identificat sèries d'àcids aromàtics benzendicarboxílics dimetil ésters, benzenictricarboxílics trimetil ésters en major quantitat i benzetetracarboxílics tetrametil ester, benzepentacarboxílics pentametil ésters en quantitats inferiors (**fig.4**). Pel contrari, aquests àcids aromàtics no s'han identificat en els àcids húmics mitjançant la tècnica convencional de piròlisi (**fig.5**). La ubicació majoritària dels grups carboxil i carbonil en els compostos detectats (**taula 3**) indica que l'oxidació de la lignina afectaria al carboni-3 de la cadena lateral.

Cal destacar també que en el carboni-? de les unitats monomèriques de la lignina és on es localitzen predominantment els grups carboxils i carbonils tal i com va predir Hatcher (1990). També s'ha identificat algun compost localitzat al carboni ? com l'àcid benzenpropioníc (pic 11). La presència d'aquest àcid és minoritària enfront els àcids benzenicarboxílics i àcids grassos sent consistent amb estudis anteriors on apareix en quantitats apreciables en els primers estats de carbonització (en àcids húmics extrets d'una torba de Padul), oxidant-se i desapareixent a mesura que transcorre el procés de carbonització (en àcids húmics extrets d'un lignit) (del Río *et al.*, 1994).

Pel contrari no s'han detectat àcids benzenacètics, identificats en altres àcids húmics extrets de lignits ja que aquests sembla ser que comencen a aparèixer en l'estadi de lignit (del Río *et al.*, 1994).

La presència de grups carboxílics en els àcids húmics de la leonardita s'ha constatat mitjançant la tècnica de IR (Senillosa, 1999). També han estat identificades, encara que amb poca proporció, sèries de n-alcans/n-alquens (**fig.5**). Malgrat la proporció d'àcids alifàtics identificats aquests representen una petita proporció respecte el global de la mostra. Així doncs podem dir que el caràcter alifàtic de la leonardita és baix que concorda

amb la baixa relació $H/C = 0.71$ obtinguda de l'anàlisi elemental i l'escassa detecció de grups alifàtics en l'espectre IR (Senillosa, 1999).

Els àcids aromàtics identificats en la piròlisi amb TMAH probablement són compostos originals de l'estructura dels àcids húmics donada per l'acció termolítica del reactiu TMAH (Hatcher i Clifford, 1994; Martín *et al.*, 1995 a, del Ríó *et al.*, 1996). L'absència dels àcids derivats del benzencarboxílics és consistent amb estudis anteriors de substàncies húmiques procedents de carbons (del Ríó i Hatcher, 1996). La presència de TMAH impedeix la descarboxilació, protegint els grups carboxils i formant els corresponents metil ésters. Molts estudis (del Ríó *et al.*, 1994, Martín *et al.*, 1995, del Ríó i Hatcher, 1996) descriuen la presència d'àcids aromàtics en les substàncies húmiques que apareixen en la piròlisi metilació després de la protecció dels grups carboxils. Així doncs l'estudi estructural de les substàncies húmiques, realitzat per diferents autors mitjançant la piròlisi convencional, és imprecís. Per tal de preservar la matèria orgànica en la formació del carbó cal que les acumulacions de torba evolucionin en condicions anaeròbiques. En aquestes condicions és probable que la lignina dels àcids húmics de la torba romangui pràcticament inalterada.

Segons un model proposat per Hatcher (1990) el contingut en grups carboxils incrementa durant les primeres etapes del procés de carbonització i arriba al màxim en l'estat de lignit. Després d'aquest estat el contingut en grup carboxils disminueix amb l'increment del rang. Aquest comportament s'ha corroborat en estudis posteriors sobre els àcids húmics en lignits i torbes (del Ríó *et al.*, 1994, del Ríó i Hatcher *et al.*, 1996).

Aquest increment de grups carboxils en la lignina a mesura que augmenta la carbonització sembla estar relacionat, també, amb l'increment de grups carboxils en els àcids húmics.

És probable que els àcids benzencarboxílics provinguin d'unitats de lignina on el carboni-? de la cadena lateral s'hagi oxidat a grup carboxil (Hatcher *et al.*, 1995); diferents estudis han interpretat les estructures i distribucions dels metil ésters d'àcids benzencarboxílics com indicadors de que aquestes unitats estructurals existeixen lliures o unides a estructures d'enllaços ésters en les substàncies húmiques (Hatcher i Clifford, 1994; Martín *et al.*, 1995 a, b; del Ríó *et al.*, 1994).

Altres publicacions (Martín *et al.*, 1994; del Ríó *et al.*, 1994; del Ríó i Hatcher, 1996) basant-se en l'estudi d'àcids húmics i fúlvics procedents de sòls i llacs descriuen la presència de grans quantitats d'àcids aromàtics, suggerint que aquests compostos són probablement originaris de l'estructura húmica i podrien ser presents en les etapes finals de l'oxidació de la cadena lateral durant la degradació microbiana de les lignines.

No obstant, estudis recents suggereixen la possibilitat que petites quantitats d'àcids benzencarboxílics metil ésters detectats en unitats de lignines no oxidades es puguin generar per oxidació del reactiu TMAH quan la mostra es sotmet a temperatura elevada i

un temps de contacte llarg (Hatcher i Minard, 1995, Hatcher *et al.*, 1995). L'estudi dels productes obtinguts mitjançant TMAH termoquimòlisi d'un model de lignina sense cap grup funcional carboxílic va donar grans quantitats d'àcids metilats derivats dels benzencarboxílics.

Així doncs, aquests autors conclouen que la presència dels àcids benzencarboxílics després TMAH/termoquimòlisi dels àcids húmics només són parcialment indicatius de l'oxidació d'unitats de lignina en l'estructura dels àcids húmics i no es poden interpretar exclusivament com a entitats constituents de la lignina.

COMPOSTOS SOFRATS

La detecció de compostos sofrats (tiofè, metiltiofè i benzotiofè) en els àcids húmics de la leonardita mitjançant la piròlisi convencional (**fig.5B**) pot indicar que la incorporació del sofre en els àcids húmics-fúlvics tindria lloc en les primeres fases del procés de carbonització. Aquest fet fou descrit també per del Ríó *et al.*, 1994, els quals van identificar compostos sofrats en fraccions d'àcids húmics extrets d'una torba i un lignit.

5.- ESTUDI DE LES PROPIETATS DE LES FRACCIONS HÚMIQUES PER COMPLEXAR METALLS PESANTS

En els sòls, els components orgànics i inorgànics estan íntimament associats. Els productes resultants d'aquestes interaccions tenen una influència molt significativa en les propietats físiques, químiques i biològiques del sòl, és a dir en la seva qualitat. En condicions aeròbiques (humificació en ecosistemes terrestres) els principals components que es formen són els àcids húmics i fúlvics. Aquestes substàncies contenen diferent grups funcionals oxigenats, principalment grups carboxílics (COOH), fenòlics (OH), alcohols (OH) i

carbonils (CO). En els processos químics d'humificació hi intervenen radicals lliures principalment del tipus semiquinona. Aquests radicals són sensibles a diversos agents físics i químics, ex. radiació, reaccions redox, reaccions àcid-base etc. Degut a la naturalesa d'aquests grups funcionals són susceptibles d'interaccionar amb metalls pesants i formar complexes quelats (Senesi, 1992).

La tècnica EPR (*Electron Paramagnetic Resonance*) és especialment útil per estudiar la interacció de les substàncies húmiques amb metalls pesants (Jeziński *et al.*, 2000 a,b).

Es van dur a terme dues mesures EPR: les fraccions húmiques (HA) en fluxes (i) d'amoníac gasós i (ii) oxigen, ambdós en tubs de quars situats en cavitats ressonants (**taula 4**). Les característiques de l'equipament utilitzat per obtenir els corresponents espectres EPR es detallen en la referència bibliogràfica Jeziński *et al.* (2000a).

S'han estudiat tres àcids húmics per tal d'establir les diferents característiques EPR: àcids húmics de la leonardita de Torrelapaja (HAL); àcids húmics de Mequinensa (HAM) i àcids húmics d'un carbó de polònia (HAP). Les tres mostres d'àcids húmics van ser caracteritzades per la tècnica EPR obtenint els resultats de la **taula 4**.

Taula 4.- Valors obtinguts de la tècnica EPR pels àcids húmics HAL, HAM i HAP en oxigen i amoníac gasós (*).

Mostra àcids húmics	Factor <i>g</i>	<i>LineWidth</i> [G]	Concentració radicals $\times 10^{17}$ spins/gram
Leonardita (HAL)	2.00 ^a	30	5
	2.0045*	8.1*	0.3*
Mequinensa (HAM)	2.0038	6.7	1.34
	2.0045*	7.5*	6.5*
Polonia (HAP)	2.0037	4.5	3.20
	2.0045*	7.1*	24.10*

^a un espectre de línia ampla multicomposta.

* Resultats de les mostres saturades amb amoníac gasós

Les mostres HAM i HAL tenen diferents característiques EPR: la mostra HAM és típica de la majoria d'àcids húmics (HAP) mentre que la mostra HAL presenta diferents valors respecte la resta.

El valor *g* i la *concentració de radicals lliures* de la **taula 4** depenen de la naturalesa i la maduresa del material que ens indiquen el grau en que les funcions oxigenades estan lligades a les estructures aromàtiques així com l'extensió de l'aromaticitat. L'increment del valor *g* durant el procés d'oxidació s'atribueix a la formació de grups oxigenats. Per tant el valor *g* és un paràmetre que mesura l'oxidació i el grau de maduresa. La concentració de radicals lliures ens aporta informació addicional respecte la velocitat d'oxidació i el grau d'intensitat en què l'activitat bacteriana té lloc.

Els metalls són principalment complexats per enllaços iònics amb grups carboxils i amb menys intensitat per grups fenòlics però les substàncies húmiques HAL i HAM són complexades principalment per la coordinació de grups carbonils i hidroxils. Aquesta coordinació influeix en l'equilibri i en l'estabilitat de radicals lliures de la quinona-semiquinona. Això es reflecteix pel canvi del valor g que decreix o incrementa el nombre de radicals depenent de la naturalesa magnètica de l'ió metàl·lic. No obstant quan les estructures de quinona no són presents en els àcids húmics aquest efecte no es produeix. Els resultats EPR indiquen que aquest efecte s'observa en HAM i no és observat en HAL. L'extracte húmic de Mequinensa (HAM) conté molts grups carbonils (tipus quinona) i grups hidroxils mentre que la HAL no conté aquests grups en tanta quantitat.

La concentració de radicals lliures i el valor g en HAM són característics de les substàncies húmiques mentre que HAL dona una ressonància multicomposta és el valor g d'algunes línies bastant característic de la presència de sulfonats. Els materials que contenen diversos centres radicals oxigenats es caracteritzen per un espectre EPR amb una única línia, com és el cas de HAM i HAP. Aquests radicals són principalment de natura semiquinona, però l'ambient químic en general i la interacció dels centres radicals amb altres grups oxigenats (ex. OH, COOH, CO) causa canvis de la mitjana observada a valors més alts (Senesi i Loffredo, 1998)

L'efecte amoni està relacionat amb el canvi de l'equilibri quinona-semiquinona sota l'increment de pH. En HAP l'efecte amoni fa que la concentració de radicals augmenti gairebé 8 vegades, mentre que aquest efecte en la mostra de HAM provoca un augment de 5 vegades de la concentració de radicals degut al seu alt contingut en sofre. Per altra banda en HAL l'efecte amoni disminueix unes 16 vegades i l'equilibri quinona-semiquinona és pràcticament absent en HAL.

A més la línia de radical (G) és inusualment ampla comparada amb les altres substàncies húmiques; aquesta línia és característica de radicals aromàtics fortament relacionats.

D'altra banda, HAL i HAM van estar sotmeses sota la complexació amb U(+4) [HA-UO₂]: mentre la HAM presenta una senyal característica del complex format, en la mostra HAL desapareixen les senyals de sulfonats sota la interacció de U(+4) donant lloc a una senyal ampla característica de radicals aromàtics. Així doncs la HAL conté grups sulfonats que no són bons coordinadors de metalls pesants, en general, i en particular l'Urani (IV).

D'altra banda la fracció húmica del lignit de Mequinensa (HAM) té unes característiques químiques i presenta uns espectres EPR semblants a la fracció húmica HAP la qual té propietats per complexar metalls com Ca (II), Zn(II), Cd(II), Hg(II), Co(II), Ni(II) i Cu(II) (Jeziński et al., 2000b).

6.- CONCLUSIONS

En aquest estudi s'ha caracteritzat la fracció húmica d'una leonardita de Torrelapaja per piròlisi (Py-GC-MS) i piròlisi metilació amb hidròxid de tetrametil amoni que ha generat una gran varietat de compostos: els monòmers derivats de la lignina i àcids grassos de C₁₀ a C₂₈, la distribució de la qual reflecteix la contribució de plantes superiors. Un altre tret característic és la presència d'àcids benzencarboxílics i derivats del fenol, no identificats per la piròlisi convencional i que caracteritzen la fracció húmica.

Finalment, s'ha estudiat la capacitat complexant de la Leonardita mitjançant la tècnica EPR: els resultats demostren que els grups carbonils i fenòlics presents en HAM interaccionen amb l'urani (+4) afavorint la seva complexació. En canvi els sulfonats presents en HAL no afavoreixen la interacció amb l'urani (IV).

No obstant ambdues fraccions contenen grups carboxils, hidroxils i fenòlics que poden afavorir la complexació d'altres metalls pesants. Per això i donada la importància del tema es preveu que es portin a terme pròximament més estudis experimentals sobre aquestes fraccions húmiques.

Així doncs aquest estudi introdueix uns coneixements poc coneguts sobre les substàncies húmiques que a part de ser utilitzades com a fertilitzants tenen propietats químiques per complexar metalls pesants i les converteix en potencialment útils per tractar residus industrials i nuclears i en general com a protecció enfront de problemàtiques mediambientals originades pels metalls pesants.

- ADLER E. (1977): Lignin chemistry-past, present and future. *E.Wood Sci. Tecnol.*, **11**, 69.
- ANDERSON K. i WINANS R. (1991): Nature and fate of natural resins in the geosphere.1. Evaluation of pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry for the analysis of natural resins and resinates. *Analytical Chemistry* **63**, 2901-2908.
- BATES A. L., HATCHER P.G., LERCH H.E. III, CECIL C.B., NEUZIL S.G. i SUPARDI (1991): Studies of a peatified angiosperm log cross section from Indonesia by nuclear magnetic resonance spectroscopy and analytical pyrolysis. *Org. Geochem.* **17**, 37-45.
- CHALLINOR J.M. (1989): A pyrolysis-derivatisation-gas chromatography-mass spectrometry technique for the structural elucidation of some synthetic polymers. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **16**, 323-333.
- CHALLINOR J.M. (1991a): Structure determination of alkyd resins by simultaneous pyrolysis/methylation. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **18**, 233-244.
- CHALLINOR J.M. (1991b): The scope of pyrolysis methylation reactions. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **20**, 15-24.
- CHALLINOR J.M. (1994): On the mechanism of high-temperature reactions of quaternary ammonium hydroxides with polymers. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **29**, 223-224.
- CHIAVARI G., TORSI G., FABBRI D. i GALLETTI G.C. (1994): Comparative study of humic substances in soil using pyrolytic techniques and other conventional chromatographic methods. *Analyst* **119**, 1141-1150.
- CLIFFORD D.J., CARSON D.M., MCKINNEY D.E., BORTIATYNSKI J.M. i HATCHER P.G. (1995): A new rapid technique for the characterization of lignin in vascular plants: thermochemolysis with tetramethylammonium hydroxide (TMAH). *Org. Geochem.* **23**, 169-175.
- COOPER J.E. i BRAY E.E. (1963): A postulated role of fatty acids in petroleum formation. *Geochimica Cosmochimica Acta* **27**, 1113-1127.
- CZECHOWSKI F. (1999): Comunicació personal.

DE LEEUW J.W. i BAAS W. (1993): The behaviour of esters in the presence of tetramethylamoníacum salts at elevated temperatures: flash pyrolysis or flash chemolysis?. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **26**, 175-184.

DEL RÍO J.C., GARCÍA-MOLLÁ J., GONZÁLEZ-VILA F.J. i MARTÍN F. (1993): Flash pyrolysis-gas chromatography of kerogen and asphaltene fractions isolated from a sequence of oil shales. *Journal of Chromatography A* **657**, 119-122.

DEL RÍO J.C., GONZÁLEZ-VILA F.J., MARTÍN F. i VERDEJO T. (1994): Characterization of humic acids from low-rank coals by ^{13}C -NMR and pyrolysis-methylation. Formation of benzenecarboxylic acid moieties during the coalification process. *Org. Geochem.* **22**, 885-891.

DEL RÍO J.C., MARTÍN F., GONZÁLEZ-VILA F.J. i VERDEJO T. (1995): Chemical structural investigation of asphaltenes and kerogens by pyrolysis-methylation. *Org. Geochem.* **23**, 1009-1022.

DEL RÍO J.C. i HATCHER P.G. (1996): Structural characterization of humic substances using thermochemolysis with tetramethylamoníacum hydroxide. 78-95. "Humic and Fulvic acids. Isolation. Structure and Enviromental Role" ACS Symposium series **651** (Eds. J.S. Gaffaney, N.A. Marley i S.B. Clark) Washington.

DEL RÍO J.C., GONZÁLEZ-VILA F.J. i MARTÍN F. (1996): Thermally assisted hydrolysis and alkylation as a novel pyrolytic approach for the structural characterization of natural biopolymers and geomacromolecules. *Trends in Analytical Chemistry* **15**, 70-79.

DEL RÍO J.C. i HATCHER P.G. (1998): Analysis of aliphatic biopolymers using thermochemolysis with tetramethylamoníacum hidroxide (TMAH) and gas chromatography-mass spectrometry. *Org. Geochem.* **29**, 1441-1451.

DEL RÍO J.C., MCKINNEY D.E., KNICKER H., NANNY M.A., MINARD R.D. i HATCHER P.G. (1998a): Structural Characterization of bio- and geo-macromolecules by off-line thermochemolysis with tetramethylamonium hydroxide. *Journal of Chromatography A* **823**, 433-488.

DEL RÍO J.C., GUTIÉRREZ A., GONZÁLEZ-VILA F.J. i MARTÍN F. (1998b): Characterization of organic deposits produced in kraft pulping of *Eucalyptus globulus* wood. *Journal of Chromatography A* **823**, 457-465.

DEL RÍO J.C., GUTIÉRREZ A., GONZÁLEZ-VILA F.J. i MARTÍN F. (1999): Application of pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry to the analysis of pitch deposits and synthetic polymers in pulp and pulp mills. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **49**, 165-177.

FABBRI D., CHIAVARI G. i GALLETTI G.C. (1996): Characterization of soil humin by pyrolysis (/methylation)/gas chromatography/mass spectrometry: structural relationships with humic acids. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **37**, 161-172.

GONZÁLEZ-VILA F.J., DEL RÍO J.C., ALMENDROS G. i MARTÍN F. (1994): Structural relationships between humic fractions from peat and lignites from the Miocene Granada basins. *Fuel* **73**, 215-221.

GONZÁLEZ-VILA F.J., DEL RÍO J.C., MARTÍN F. i VERDEJO T. (1996): Pyrolytic alkylation-gas chromatography-mass spectrometry of model polymers. Further insights into the mechanism and scope of the technique. *Journal of Chromatography A* **750**, 155-160.

HATCHER P.G. (1990): Chemical structural models for coalified wood (vitrinite) in low rank coals. *Org. Geochem.* **16**, 959-701.

HATCHER P.G., LERCH H.E. III, KOTRA R.K. i VERHEYEN T.V. (1988): Pyrolysis-gc-ms of a series of degraded woods and coalified logs that increase in rank from peat to subbituminous coal. *Fuel* **67**, 1069-1075.

HATCHER P.G., LERCH H.E. III, BATES A.L. i VERHEYEN T.V. (1989): Solid-state ¹³C nuclear magnetic resonance studies of coalified gymnosperm xylem tissue from Australian brown coals. *Org. Geochem.* **14**, 145-155.

HATCHER P.G. i CLIFFORD D.J. (1994): Flash pyrolysis and *in situ* methylation of humic acids from soil. *Org. Geochem.* **21**, 1081-1092.

HATCHER P.G. i MINARD R.D. (1995): Comment on the origin of benzoic acids in pyrolysis methylation studies. *Org. Geochem.* **23**, 991-994.

HATCHER P.G., NANNY M.A., MINARD R.D., DIBLE S.C. i CARSON D.M. (1995): Comparison of two thermolytic methods for the analysis of lignin in decomposing gymnosperm wood: the CuO oxidation method and the method of thermochemolysis with tetramethylamoníacum hydroxide (TMAH). *Org. Geochem.* **23**, 881-888.

HOLLOWAY P.J. (1982): The chemical constitution of plant cutins. In *The Plant Cuticle*, eds. D.F. Cutler, K.L. Alvin and C.E. Price, 45-85. Academic Press, New York.

JEZIERSKI A., CZECHOWSKI F., JERZYKIEWICZ M. i DROZD J. (2000a): EPR investigation of structure of humic acids from compost, soil, peat and soft brown coal upon oxidation and metal uptake. *Appl. Magn. Reson.* **18**, 127-136.

JEZIERSKI A., CZECHOWSKI F., JERZYKIEWICZ M., CHEN Y. i DROZD J. (2000): Electron paramagnetic resonance (EPR) studies on stable and transient radicals in humic acids from compost, soil, peat and brown coal. *Spectrochim. Acta Part A* **56**, 379-385.

KOLATTUKUDY P.E. (1978): Chemistry and biochemistry of aliphatic components of suberin. *Biochemistry of wounded plant tissues*, ed. G. De Kahl, 43-84. De Gruyter, Berlin.

KOLATTUKUDY P.E. (1980): Biopolyester membranes of plants: cutin and suberin. *Science* **208**, 990-1000.

KOLATTUKUDY P.E. (1984): Biochemistry and function of cutin and suberin. *Canadian Journal of Botany* **62**, 2918-2933.

KRALERT P.G., ALEXANDER R. i KAGI R.I. (1995): An investigation of polar constituents in kerogen and coal using pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry with *in situ* methylation. *Org. Geochem.* **23**, 627-639.

LARGEAU C., DERENNE S., CASADEVALL E. i SELLIER N. (1986): Pyrolysis of immature torbanite and of the resistant biopolymer (PRB A) isolated from the extant alga *Botryococcus braunii*. Mechanism for the formation and structure of torbanite. *Org. Geochem.* **10**, 1023-1032.

MARTÍN F., GONZÁLEZ-VILA F.J., DEL RÍO J.C. i VERDEJO T. (1994). Pyrolysis derivatization of humic substances, 1. Pyrolysis of fulvic acids in the presence of tetramethylamoníacum hydroxide. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **28**, 71-80.

MARTÍN F., DEL RÍO J.C., GONZÁLEZ-VILA F.J. i VERDEJO T. (1995 a): Pyrolysis derivation of humic substances, 2. Pyrolysis of soil humic acids in the presence of tetramethylamoníacum hydroxyde. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **31**, 75-83.

MARTÍN F., DEL RÍO J.C., GONZÁLEZ-VILA F.J. i VERDEJO T. (1995 b): Thermally assisted hydrolysis and alkylation of lignins in the presence of tetra-alkylamoníacum hidroxides. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **35**, 1-13.

MCKINNEY D.E., CARSON D.M., CLIFFORD D.J., MINARD R.D. i HATCHER P.G. (1995): Off line thermochemolysis vs. flash pyrolysis for the in situ methylation of lignins: is pyrolysis necessary? *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **34**, 41-56.

NIP M., TEGELAAR E.W., DE LEEUW J.W., SCHENCK P.A. i HOLLOWAY P.J. (1986): A new non-saponifiable highly aliphatic and resistant biopolymer in plant cuticles. Evidence from pyrolysis and 13-C-NMR analysis of present day and fossils plants. *Naturwissenschaften* **73**, 579-585.

SAIZ-JIMÉNEZ C. (1994a): Analytical pyrolysis of humic substances: pitfalls, limitations and possible solutions. *Environmental Science and Technology* **28**, 197-200.

SAIZ-JIMÉNEZ C. (1994b): Pyrolysis/methylation of soil fulvic acids: benzenecarboxylic acids revisited. *Environmental Science and Technology* **28**, 1773-1780.

SAIZ-JIMÉNEZ C., HERMOSÍN B. i ORTEGA CALVO J.J. (1993): Pyrolysis/methylation: a method for structural elucidation of the chemical nature of aquatic humic substances. *Water Research* **27**, 1693-1696.

SAIZ-JIMÉNEZ C., ORTEGA CALVO J.J. i HERMOSÍN B. (1994): Conventional pyrolysis: a biased technique for providing structural information on humic substances?. *Naturwissenschaften* **81**, 28-29.

SCHNITZER M. (1974): Alkaline cupric oxide oxidation of a methylated fulvic acid. *Soil biology biochemistry* **6**, 1-6.

SCHNITZER M. i SKINNER S.I.M. (1974): The low temperature oxidation of humic substances. *Canadian Journal Chemistry* **52**, 1072-1080.

SCHULTEN H.R i SCHNITZER M. (1993): A state-of-the-art concept for humic substances. *Naturwissenschaften* **80**, 29-30.

SCHULTEN H.R i SCHNITZER M. (1995): 3-Dimensional models for humic acids and soil organic matter. *Naturwissenschaften* **82**, 487-498.

SCHULTEN H.R. i SORGE C. (1995): Pyrolysis/methylation-mass spectrometry of whole soils. *European Journal of Soil Science* **46**, 567-579.

SCHULTEN H.R, PLAGE B. i SCHNITZER M. (1992): A chemical-structure for humic substances. *Naturwissenschaften* **79**, 330-331.

SCHULTEN H.R., LEINWEBER P. i THEG B.K.G. (1996): Characterization of organic matter in an interlayer clay-organic complex from soil by pyrolysis/methylation-mass spectrometry. *Geoderma* **9**, 105-118.

SENESI N. (1992): Humus, its Structure and Role in Agriculture and Environment. (Ed. Kubat J.) 11-26. *Elsevier Science*, Amsterdam.

SENESI N. i LOFFREDO E. (1998): Soil Physical Chemistry. *The Chemistry of Soil Organic Matter*. (Ed. Sparks D.L.) 239. *CRS Press*, New York.

SENILLOSA M. (1999): Caracterització de les substàncies húmiques dels carbons. Escola Universitària Politècnica de Manresa, [Projecte Fi de Carrera] .

STOUT S.A., BOON J.J. i SPACKMAN W. (1988): Molecular aspects of the peatification and early coalification of angiosperm and gymnosperm woods. *Geochim. Cosmochim. Acta* **52**, 405-414.

TEGELAAR E.W., DE LEEUW J.W. i HOLLOWAY P.J. (1989a): Some mechanisms of flash pyrolysis of naturally occurring higher plant polyesters. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **15**, 289-295.

TEGELAAR E.W., DE LEEUW J.W., LARGEAU C., DERENNE, SCHULTEN S., MÜLLER H.R., BOON R., NIP J.J. i SPRENKELS J.C.M. (1989b): Scope and limitations of several pyrolysis methods in the structural elucidation of a macromolecular plant constituent in the leaf cuticle of *Agave americana* L. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **15**, 29-54.

