

Aplicació d'oliassa al sòl: aspectes ambientals i agrològics

Jordi Sierra i Llopart

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

UNIVERSITAT DE BARCELONA

**DEPARTAMENT DE PRODUCTES NATURALS,
BIOLOGIA VEGETAL I EDAFOLOGIA**

UNITAT D'EDAFOLOGIA

**APLICACIÓ D'OLIASSA AL SÒL:
ASPECTES AMBIENTALS I AGROLÒGICS**

**Jordi Sierra i Llopart
Juny 2003**

4.6. NIVELLS DE COMPOSTOS FENÒLICS EN SÒLS I EFECTES DE L'APLICACIÓ D'OLIASSA AL CAMP

En aquest bloc de resultats es pretén conèixer el contingut habitual de fenols en sòls que no han rebut mai oliassa i de sòls que se'ls ha aplicat històricament amb finalitat agrològica. En un segon apartat, s'estudia l'evolució en el temps dels compostos fenòlics i d'altres paràmetres del sòl, des del moment de l'aportació d'oliassa a diferents dosis agrològiques. Aquest estudi va encaminat a conèixer si l'aportació d'oliassa al sòl com a fertilitzant, pot suposar un risc d'acumulació de compostos fenòlics i l'afectació d'altres paràmetres del sòl.

4.6.1. Nivells de compostos fenòlics en sòls de referència

La finalitat d'aquest apartat és conèixer el contingut habitual de fenols en sòls i si l'aport d'oliassa al sòl (valorització) a dosis agronòmiques pot comportar l'acumulació de compostos fenòlics en aquest. Per a dur a terme aquest estudi s'ha analitzat el contingut de fenols solubles i extractats amb hidròxid sòdic + pirofosfat de l'horitzó superficial (0-20 cm de fondària) de diversos sòls, situats principalment en tres zones oleícoles de Catalunya: Baix Ebre-Montsià, Baix Penedès i Terra Alta.

El valor de fenols extractats amb aigua correspon als fenols que són immediatament biodisponibles i mobilitzables cap a sistemes aquàtics, mentre que els extractats amb hidròxid sòdic 0,1N + pirofosfat sòdic 0,4N permeten estimar el contingut en fenols solubles, més els adsorbits aniónicament formant ponts amb cations polivalents i els lligats dèbilment a la matèria orgànica. Valors elevats d'aquests darrers, poden no estar relacionats amb els efectes tòxics dels fenols, però en canvi poden ser indicadors d'acumulació, per això s'ha considerat convenient emprar ambdós extractants.

En primer lloc s'han analitzat sòls de conreu i forestals que no han rebut mai oliassa. Aquestes anàlisis permeten conèixer els nivells base o de fons de fenols que des del punt de vista de contaminació, es podria considerar nivell zero. Aquests valors de referència són uns valors de qualitat de sòls que

marquen el límit de concentració de fenols per sota de la qual no poden considerar-se afectats (contaminats) i si són superats indiquen que podria existir algun tipus d'afectació del sòl i dels ecosistemes o de l'ésser humà.

Els nivells base es podran comparar amb els resultats de sòls que sí han rebut oliassa, tant amb finalitats agronòmiques com per abocaments incontrolats i se'n podran treure conclusions sobre el nivell d'afectació (contaminació) d'aquests sòls.

A les taules 4.6.1 i 4.6.2 es mostren els valors del contingut de fenols de **sòls que no han rebut oliassa**. Pot observar-se com en cadascuna de les zones oleicoles seleccionades el contingut de fenols tant solubles com extractats amb hidròxid sòdic + pirofosfat sòdic dels sòls forestals, són significativament superiors als dels sòls de conreu, tant si són de conreu d'olivera com no. Aquest fet pot anar relacionat amb el contingut i tipus de matèria orgànica (generalment superior en els sòls forestals).

La correlació lineal de Pearson entre el contingut de matèria orgànica i el de fenols solubles és de 0,763 i amb els fenols extractats amb hidròxid sòdic + pirofosfat és de 0,962. La correlació amb els solubles no és gaire elevada perquè la presència de fenols en la solució del sòl depèn més del tipus i naturalesa de la matèria orgànica, i per tant del tipus de vegetació (Whitehead et al., 1982), i de les condicions ambientals del sòl, que no pas de la quantitat de matèria orgànica en si (fet que també s'ha vist amb els sòls M i T a l'apartat 4.2). També convé tenir en compte que gran part dels sòls forestals seleccionats són pinedes i alguns estudis revelen que els sòls que sostenen boscos de coníferes acostumen a presentar valors de fenols simples més elevats que no pas amb d'altres tipus de vegetació (Kuiters i Denneman, 1987).

Taula 4.6.1. Nomenclatura de referència, localització i valor de fenols solubles i extractats amb hidròxid sòdic 0,1N + pirofosfat sòdic 0,4N, d'horitzons superficials de sòls que mai no han rebut oliassa. (Resultats expressats com a mg d'àcid cafeic kg⁻¹ sòl sec).

Ref. mostres	Fenols solubles	Fenols hidròxid sòdic + pirofosfat sòdic	Observacions
Baix Ebre-Montsià			
NB1	2,7	523,4	Conreu d'olivera.
NB2	7,7	683,5	Conreu d'olivera, usen només adobs químics.
NB3	10,2	529,3	Conreu d'olivera, entre oliveres.
NB4	4,4	639,1	Conreu d'olivera, sota les oliveres.
NB5	13,3	1814,9	Sòl forestal, màquia litoral.
NB6	4,4	605,9	Conreu d'ametllers.
NB7	4,0	444,1	Conreu d'olivera.
NB8	6,3	615,5	Conreu d'ametllers.
NB9	4,2	561,1	Conreu d'olivera.
NB10	4,9	804,3	Conreu de garrofers
NB11	4,2	582,4	Conreu d'olivera.
NB12	4,9	482,5	Conreu d'ametllers.
NB13	10,7	1118,5	Sòl forestal, màquia litoral.
NB14	4,6	626,5	Conreu d'olivera.
NB15	4,1	552,2	Conreu d'ametllers.
NB16	3,8	451,0	Conreu d'olivera.
T	5,6	562,0	Conreu d'olivera.
Terra Alta			
NB17	5,5	517,0	Conreu d'olivera.
NB18	12,2	1248,1	Sòl forestal, pineda.
NB19	6,9	502,1	Conreu d'olivera.
NB20	7,5	619,3	Conreu d'olivera
Baix Penedès			
NB21	7,9	745,6	Conreu d'olivera
NB22	3,8	455,5	Conreu de cereal.
NB23	7,1	661,4	Conreu d'ametllers.
NB24	7,1	604,7	Conreu d'olivera
NB25	28,6	2106,8	Sòl forestal, pineda.
NB26	5,3	532,2	Conreu de cereal.
NB27	4,9	693,6	Conreu d'ametllers
NB28	13,0	1713,4	Sòl forestal, pineda.
NB39	6,9	305,4	Conreu de cereals de més de 40 anys.
NB30	6,5	346,6	Conreu de vinya de 38 anys.
NB31	10,7	1930,9	Sòl forestal, pineda.
NB32	5,7	523,4	Conreu d'olivera.
NB34	7,1	731,4	Conreu d'olivera.
Barcelonès			
G	15,0	1421,4	Sòl forestal, de pi, alzina i roure.
Maresme			
M	9,0	430,1	Sòl forestal de pi i alzina

En canvi, no s'observen diferències significatives entre el contingut de fenols (tant solubles com extractats amb hidròxid sòdic + pirofosfat) de sòls de conreu amb oliveres i sense, en cap de les zones estudiades i tampoc n'hi ha entre els sòls d'olivera de les diferents zones oleícoles, tot i que la zona del Baix Ebre-Montsià presenta uns valors mitjans lleugerament inferiors.

Taula 4.6.2. Valors mitjans i desviació estàndard del contingut de fenols solubles i extractats amb hidròxid sòdic (0,1N) i pirofosfat sòdic (0,4N) d'horitzons superficials de sòls que mai no han rebut oliassa. Lletres diferents dins la mateixa columna indiquen diferències significatives ($P \leq 0,05$). (Resultats expressats com a mg d'àcid cafeic kg^{-1} sòl sec).

Zona Oleícola	Usos del sòl	Fenols solubles	Fenols hidròxid sòdic + pirofosfat sòdic
Baix Ebre-Montsià	Sòls forestals	12,0 ± 1,8b	1466,7 ± 492,4b
	Sòls conreu olivera	5,1 ± 2,2a	560,2 ± 77,5a
	Sòls conreu sense olivera	4,9 ± 0,9a	610,9 ± 114,6a
	Sòls conreu	5,1 ± 1,8a	577,5 ± 92,7a
	Sòls de conreu i forestals	5,9 ± 2,9a	682,1 ± 331,5a
<i>Terra Alta</i>	Sòls forestals	12,2b	1248,1b
	Sòls conreu olivera	6,6 ± 1,0a	546,1 ± 63,8a
	Sòls de conreu i forestals	8,5 ± 2,5a	671,6 ± 386,9a
<i>Baix Penedès</i>	Sòls forestals	17,4 ± 9,7b	1917,0 ± 197,1a
	Sòls conreu olivera	7,0 ± 0,9a	651,3 ± 106,2a
	Sòls conreu sense olivera	5,8 ± 1,3a	499,1 ± 160,0a
	Sòls conreu	6,2 ± 1,3a	560,0 ± 155,4a
	Sòls de conreu i forestals	8,8 ± 6,4a	873,1 ± 615,4a
Conjunt de les tres zones	Sòls forestals	14,2 ± 6,6b	1438,7 ± 575,4b
	Sòls conreu olivera	5,8 ± 1,9a	591,7 ± 100,5a
	Sòls conreu sense olivera	5,4 ± 1,1a	550,5 ± 184,4a
	Sòls conreu	5,7 ± 1,7a	567,9 ± 113,7a
	Sòls de conreu i forestals	7,5 ± 4,7a	769,0 ± 462,9a

Aquests valors mitjans obtinguts, poden ser considerats com a valors base o de referència de sòls no afectats per l'aport d'oliassa.

A la taula 4.6.3 es mostren els resultats de l'anàlisi de fenols de **sòls que han rebut oliassa** amb finalitat agronòmica. El mostreig s'ha efectuat com a mínim sis mesos després de la última aplicació d'oliassa. A partir d'aquests resultats pot comprovar-se com a la zona de la Terra Alta el conjunt de sòls que se'ls ha aplicat oliassa a diferent dosi i durant 1 i 10 anys presenten valors de fenols solubles molt semblants entre sí 7,3 i 7,2 mg kg^{-1} . Comparant aquests resultats amb els nivells base d'aquesta zona oleícola (nivell en sòls no afectats per l'oliassa) s'observa que no hi ha diferències significatives i tampoc amb els

valors base mitjans de qualsevol de les tres zones oleícoles. Els valors obtinguts de fenols extractats amb hidròxid sòdic + pirofosfat sòdic mostren resultats anàlegs als solubles. No s'observen diferències significatives amb els nivells de fons citats.

Taula 4.6.3. Contingut de fenols solubles i extractats amb hidròxid sòdic (0,1N) i pirofosfat sòdic (0,4N), d'horitzons superficials de sòls que se'ls ha aplicat oliassa amb fins agrològics, i nivells base de diferents zones oleícoles. Nombre d'anys i dosi aproximada que se'ls ha aplicat. Lletres diferents dins la mateixa columna indiquen diferències significatives ($P \leq 0,05$). (Resultats expressats com a mg d'àcid cafeic kg^{-1} sòl sec).

Zona oleícola	Referència	Nº d'anys	Dosi aprox. ($\text{m}^3 \text{ha}^{-1} \text{any}^{-1}$)	Fenols solubles	Fenols hidròxid sòdic + pirofosfat sòdic
Terra Alta	OA1	1	50	7,4	406,8
	OA2	1	50	7,8	554,3
	OA3	1	50	6,8	489,7
			Mitjana i desv. st	7,3 ± 0,5a	483,6 ± 73,9a
	OA4	10	250	8,9	604,4
	OA5	10	250	7,4	446,3
	OA6	10	250	6,5	408,0
			6,1	450,8	
		Mitjana i desv st	7,2 ± 1,2a	477,4 ± 86,8a	
Baix Penedès	OA8	1	300	12,7	717,4
	OA9	5	200	7,4	689,4
	OA10	10	350	7,8	644,9
			Mitjana i desv st	9,3 ± 3,0a	696,5 ± 56,4a
Nivell base conreu olivera Terra Alta				6,6 ± 1,0a	546,1 ± 63,8a
Nivell base conreu olivera B. Penedès				7,0 ± 0,9a	651,3 ± 106,2a
Nivell base conreu 3 zones oleícoles				5,8 ± 1,9a	591,7 ± 100,5a

A la zona del Baix Penedès, el conjunt de sòls que han rebut oliassa presenten un valor mitjà de fenols solubles que tampoc és significativament diferent als nivells base de sòls amb conreu d'olivera, tant per de la zona del Baix Penedès com per al conjunt de les tres zones. Comparant els valors un a un, únicament un valor ($12,7 \text{ mg kg}^{-1}$) supera els nivells considerats habituals en sòls d'olivera tant de la zona concreta com del conjunt de les zones mostrejades. Aquesta mostra correspon a un sòl que ha rebut una dosi d'oliassa bastant superior a la dosi màxima permesa de $30 \text{ m}^3 \text{ha}^{-1}$ (pot ser aproximadament d'uns $300 \text{ m}^3 \text{ha}^{-1}$ o fins i tot més) i el temps transcorregut entre l'aplicació i el mostreig és possible que sigui molt proper a 6 mesos. Malgrat això, aquesta mostra no supera la concentració de fenols solubles de fons dels sòls forestals i el resultat de l'extracció amb hidròxid sòdic i

pirofosfat tampoc supera els nivells base dels sòls d'olivera de la zona. Per tant, en aquest cas, no sembla que hi hagi una acumulació de compostos fenòlics adsorbits i únicament s'observa una lleugera alteració de la fracció soluble. Els camps que se'ls ha aplicat oliassa durant 5 i 10 anys presenten valors de fenols solubles i extractats amb hidròxid sòdic i pirofosfat habituals per a sòls de conreu d'olivera de la zona oleícoles concreta.

En general es pot afirmar doncs, que al aplicar oliassa al sòl a dosis agronòmiques (compreses entre 30 i 300 m³ ha⁻¹) i durant llargs períodes (fins a 10 anys) no implica necessàriament un increment significatiu dels fenols solubles i extractables amb hidròxid sòdic + pirofosfat del sòl un cop passat, com a mínim, un període de temps d'uns sis mesos des de la darrera aplicació d'oliassa.

Tenint en compte que quan s'aplica oliassa al sòl a dosis agronòmiques no s'observen canvis en el contingut de fenols, si el temps transcorregut des de l'última aplicació és superior a de sis mesos, pot resultar útil conèixer com evolucionen a curt termini (des del moment de l'aport d'oliassa) els compostos fenòlics i d'altres paràmetres del sòl quan s'aplica oliassa en condicions de camp. Aquest aspecte serà analitzat en el proper apartat.

4.6.2. Efectes de l'aplicació d'oliassa al camp

L'objectiu d'aquest experiment és conèixer l'efecte de l'aportació d'oliassa a dosis agrològiques en condicions de camp, sobre alguns paràmetres del sòl i la seva evolució en el temps, i alhora comprovar si els resultats obtinguts coincideixen amb els experiments de laboratori (columnes lisimètriques i assajos de biodegradació de fenols). L'estudi es va portar a terme en un sòl classificat segons la STS com a Típic Xerorthent (de característiques semblants al sòl T) situat al municipi de Llorenç del Penedès (Baix Penedès).

Es tracta d'un sòl calcari (29% de carbonat càlcic), de pH relativament elevat (8), de textura francargilosa, no salí, amb valors acceptables de matèria orgànica (1,5% carboni oxidable) i moderada capacitat d'intercanvi catiònic (15,7 m eq 100 g sòl⁻¹).

S'ha aplicat una única aportació d'oliassa (OC) generada en un molí d'oli que disposa d'un sistema continu de tres fases, a unes parcel·les experimentals (dotze en total) a dosis d'aplicació equivalents a 30, 180 i 360 m³ d'oliassa per hectàrea. També s'han inclòs parcel·les control (sense aplicació d'oliassa). L'oliassa prové d'una planta depuradora de Llorenç del Penedès propera al camp experimental i les seves característiques es descriuen a la taula 4.1.1 (apartat 4.1.2). Com a trets característics convé destacar l'elevada salinitat, càrrega orgànica, presència de fenols i, excepcionalment, pH bàsic i elevat contingut de sodi.

S'ha seguit l'evolució dels diferents paràmetres durant un període de quatre mesos. Els resultats dels diferents paràmetres, indicats a continuació, corresponen a la mitjana dels valors corresponents a les 3 repeticions efectuades en cada tractament.

A la taula 4.6.4 i figura 4.6.1 s'observa que el **pH actual** de les parcel·les control és moderadament bàsic i està al voltant de 8. Inicialment (a temps 0 dies) en augmentar la dosi d'oliassa també ho fa el pH. Les parcel·les control presenten un pH de 8,02 mentre que a les dosis de 30, 180 i 360 és de 8,20, 8,35 i 8,62 respectivament. A més, aquests valors són significativament diferents als del control. Aquest notable augment del pH actual pot ser degut a

que el pH de l'oliassa aplicada és bàsic (pH 8,55) perquè ha estat neutralitzada prèviament a la depuradora, i tenint en compte que aquest sòl també ho és, la basicitat s'accentua. A més, l'aportació de sodi genera carbonats d'hidròlisi més bàsica que els de calci inicials.

Taula 4.6.4. Valors mitjans de pH actual en funció del temps (dies). Lletres diferents a la mateixa fila indiquen diferències significatives ($P \leq 0,05$).

Temps	Control	30 m³ ha⁻¹	180 m³ ha⁻¹	360 m³ ha⁻¹
0	8,02a	8,20b	8,35b	8,62c
3	8,00a	8,10a	8,36b	8,60c
9	7,95a	8,05a	8,22b	8,44c
30	8,05a	8,08a	8,15a	8,29b
60	8,02a	8,00a	8,10a	8,20a
120	8,02a	8,05a	8,06a	8,08a

Un lleuger augment inicial del pH del sòl també és observat per d'altres autors al utilitzar oliassa sense neutralitzar (Della Monica et al., 1978 i Potenz et al., 1985) i ho atribueixen a la producció d'amoniac. Tardioli et al. (1997) també observen un lleuger augment del pH actual que es recupera en un temps no superior a 6 mesos. En canvi, d'altres autors (Levi Minzi et al., 1992) observen que en aplicar oliassa a sòls calcaris a dosis de 160 i 320 m³ ha⁻¹ el pH actual disminueix inicialment lleugerament i es recupera amb 15 dies. En el present estudi l'augment de pH és més alt i tarda més en recuperar el valor del control per l'efecte del sodi aportat per l'oliassa que desplaça al calci dels carbonats del sòl.

Al llarg del temps el pH actual de les parcel·les que han rebut oliassa tendeix a disminuir de manera que assoleixen els valors del sòl control (no són significativament diferents) a partir del tercer dia per a la dosi de 30, un mes per a la de 180 i dos mesos per a la dosi superior (taula 4.6.4).

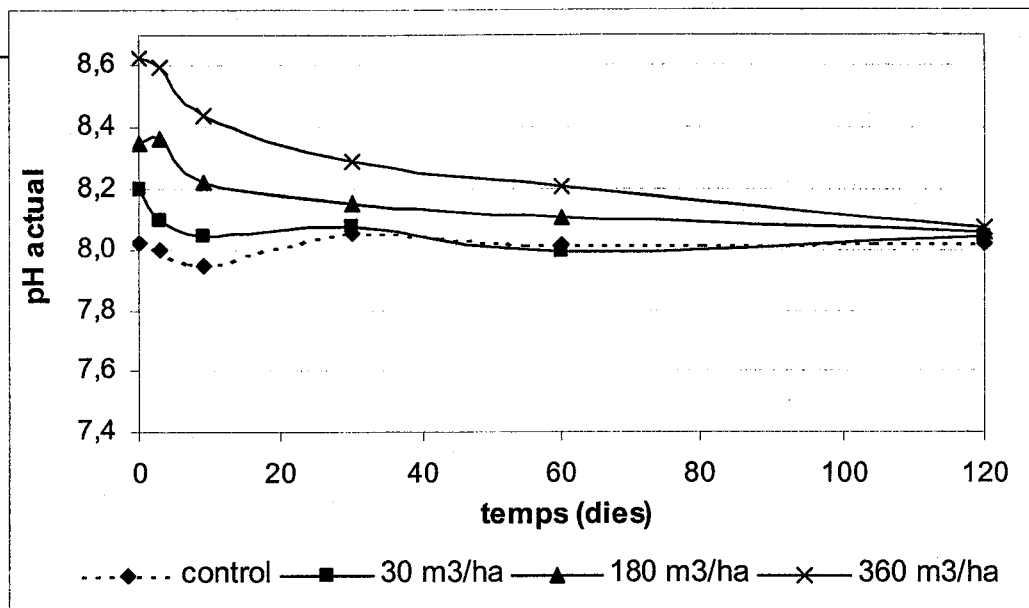


Figura 4.6.1. Representació gràfica dels valors mitjans de pH actual en funció del temps.

El **pH potencial** (taula 4.6.5 i figura 4.6.2) inicialment també augmenta significativament amb la dosi, passant de 7,52 (parcelles control) a 8,00 per a la dosi màxima.

En funció del temps els valors de pH potencial tendeixen a disminuir de forma anàloga al pH actual i s'assoleixen els valors del control a partir de 30 dies per a la dosi de 30, 60 dies per a la dosi de 180 i 120 dies per a la dosi de 360.

Les diferències entre el pH actual i potencial estan al voltant de 0,5 unitats de pH o inferior, fet habitual en sòls amb el complex de canvi saturat, de manera que es un sòl que no presenta una tendència marcada a l'acidificació.

Taula 4.6.5. Valors mitjans de pH potencial en funció del temps (dies). Lletres diferents a la mateixa fila indiquen diferències significatives ($P \leq 0,05$).

Temps	Control	30 m³ ha ⁻¹	180 m³ ha ⁻¹	360 m³ ha ⁻¹
0	7,52a	7,62b	7,78c	8,00d
3	7,49a	7,60b	7,90c	8,08d
9	7,42a	7,51b	7,66c	7,90d
30	7,50a	7,50a	7,61b	7,73c
60	7,47a	7,50a	7,52a	7,62b
120	7,49a	7,49a	7,50a	7,52a

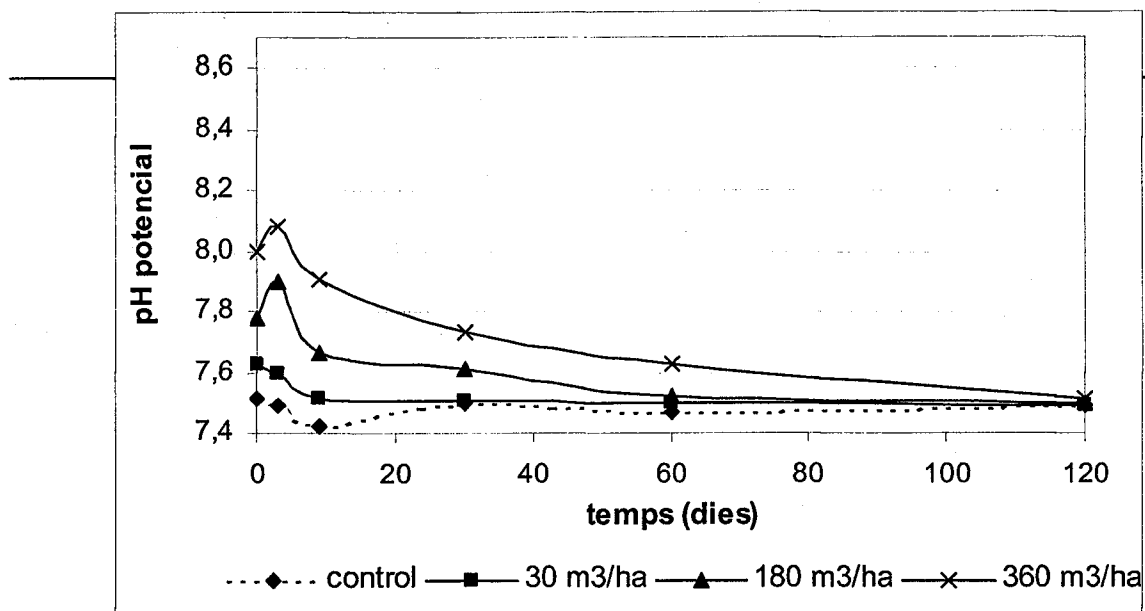


Figura 4.6.2. Representació gràfica dels valors mitjans de pH potencial en funció del temps.

A la taula 4.6.6 i figura 4.6.3 s'observa que la **conductivitat elèctrica** del sòl també augmenta amb la dosi d'oliassa, fet lògic tenint en compte que l'oliassa emprada presenta valors molt alts de salinitat ($11,6 \text{ dS m}^{-1}$). A la dosi de 30 ha fa només lleugerament, en canvi, a majors dosis el valor de la salinitat esdevé significativament superior als del control. A la màxima dosi gairebé es duplica el valor inicial del control i comença a ser un valor suficientment elevat com per afectar negativament a la producció de molts conreus si la humitat del sòl és baixa.

Taula 4.6.6. Valors mitjans de conductivitat elèctrica a 25°C (dS m^{-1}) en funció del temps. Lletres diferents en la mateixa fila indiquen diferències significatives ($P \leq 0,05$).

Temps	Control	$30 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$	$180 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$	$360 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$
0	0,61a	0,66ab	0,89b	1,15c
3	0,59a	0,67ab	0,90bc	1,15c
9	0,58a	0,67ab	0,88bc	1,07c
30	0,55a	0,54a	0,73ab	0,83b
60	0,59a	0,54a	0,62a	0,70b
120	0,56a	0,52a	0,57a	0,63a

La conductivitat elèctrica, pràcticament constant en el temps en les parcelles control, baixa en les tractades, de manera que s'assoleixen els valors del control després de 30 dies per a la dosi de $30 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$, 60 dies per a la dosi de 180 i 120 dies per a la de 360. Aquest descens de la salinitat és atribuïble al rentat de les sals pels episodis de pluja esdevinguts. La pluviometria

acumulada al llarg del període experimental ha estat de 110 mm (taula 4.6.7), sent els primers 30 dies els més plujosos (52 mm).

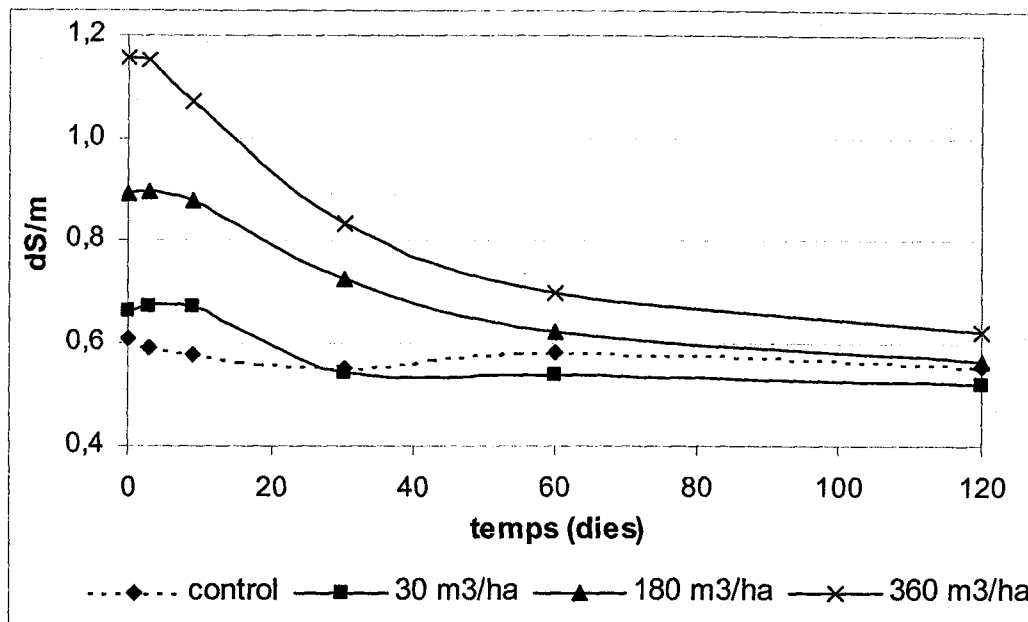


Figura 4.6.3. Representació gràfica dels valors mitjans de conductivitat elèctrica a 25°C en funció del temps.

Aquest fet ha provocat que durant el primer mes ha estat quan el descens de la conductivitat elèctrica ha esdevingut major. També s'ha de tenir en compte que la pluja caiguda durant l'experiment és l'habitual a la zona.

Taula 4.6.7. Dades pluviomètriques acumulades de l'observatori del Vendrell (població molt propera al camp experimental) cedides pel Servei Meteorològic de Catalunya.

Temps (dies)	30	60	90	120
Pluviometria (mm)	52,4	65,4	96,0	110,4

D'altres estudis amb dosis d'aportació d'oliassa similars (160 i 320 m³ ha⁻¹) als d'aquest treball, obtenen resultats similars al llarg d'un període d'estudi de 135 dies (Levi-Minzi et al., 1992). No obstant alguns estudis amb dosis d'aportació majors i per tant poc representatives d'aports agronòmics (> 360 m³ ha⁻¹) indiquen que el temps necessari per assolir el nivell del control és superior. Així per exemple en aportos d'11.000 a 18.000 m³ ha⁻¹ en tres anys sobre sòls situats a Baeza (Andalusia), després de 9 mesos de l'última aplicació d'oliassa, la salinitat encara es molt superior a la inicial (Cabrera et

al., 1996). En el cas de l'abocador de Santa Bàrbara el temps necessari per a restablir la conductivitat elèctrica ha estat de 2 anys (apartat 4.3).

El contingut de **carboni oxidable**, indicat a la taula 4.6.8 i figura 4.6.4, augmenta molt lleugerament en augmentar la dosi d'oliassa aplicada.

Taula 4.6.8. Valors mitjans de carboni oxidable (%) en funció del temps (dies). Lletres diferents a la mateixa fila indiquen diferències significatives ($P \leq 0,05$).

Temps	Control	30 m³ ha⁻¹	180 m³ ha⁻¹	360 m³ ha⁻¹
0	1,49a	1,55a	1,60ab	1,73b
3	1,48a	1,56ab	1,63ab	1,70b
9	1,50a	1,55ab	1,59ab	1,70b
30	1,49a	1,53ab	1,56ab	1,68b
60	1,48a	1,49a	1,54a	1,58a
120	1,48a	1,48a	1,52a	1,53a

Al llarg del temps el contingut de carboni oxidable de les parcelles control és mantenen més o menys constant, mentre que en les que han rebut oliassa tendeixen a igualar-se a aquest. Dos mesos després de l'aplicació, no existeixen diferències significatives entre els controls i les parcelles que han rebut diferents dosis d'oliassa. Això és degut, com ja s'ha comentat anteriorment, a que gran part de la matèria orgànica de l'oliassa està formada per sucres, àcids orgànics, aminoàcids, compostos nitrogenats etc, tots ells de naturalesa molt làbil.

Levi-Minzi et al. (1992) en l'experiment de camp abans esmentat, observen que a una dosi de 320 m³ ha⁻¹ d'oliassa, tant el carboni oxidable com els sucres i els àcids volàtils assoleixen el valor del sòl control corresponent en 53 dies. López et al., (1992) en un experiment amb contenidors amb capacitat per a 1 m³ de sòl, aplicaren dosis d'oliassa massives (10.000 m³ ha⁻¹) per tal d'eliminar-la i observaren que el carboni orgànic aportat es descompon amb un període de 90 dies. Aquests mateixos autors (López et al., 1996) en un estudi similar, però a més llarg termini, aplicaren dosis anuals de 3.820 i 6.110 m³ ha⁻¹ durant 3 anys i observaren que la major part del carboni aportat és ràpidament mineralitzat, i ho atribuïren a l'elevat contingut en matèria orgànica biodegradable (relació DBO₅/DQO igual a 0,45).

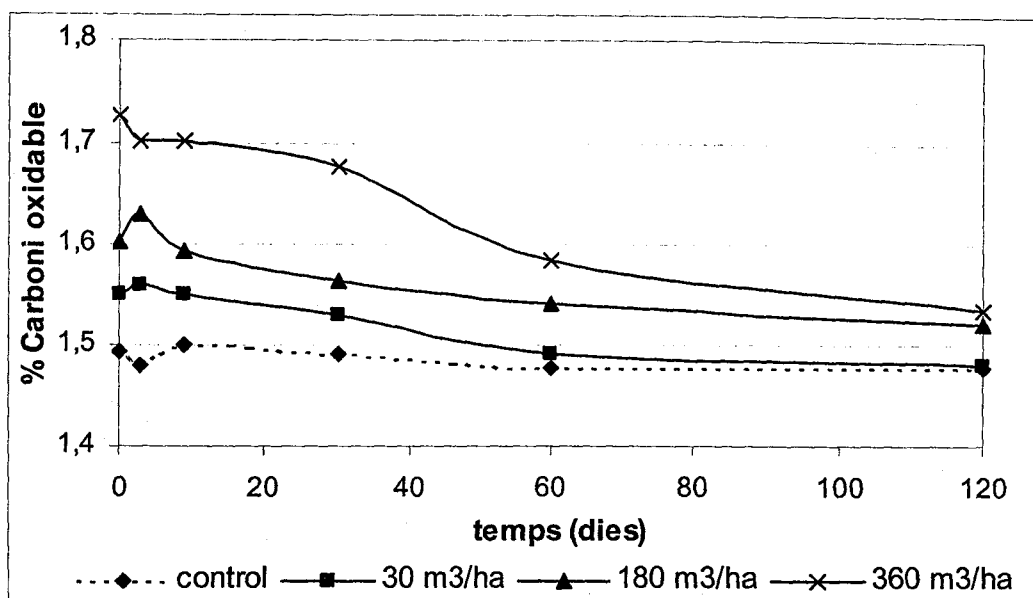


Figura 4.6.4. Representació gràfica dels valors mitjans de carboni oxidable en funció del temps.

Per tant, la fertilització amb oliassa augmenta únicament el contingut en matèria orgànica del sòl inicialment, provocant un increment de l'activitat biològica que s'encarrega de mineralitzar la matèria orgànica aportada pel residu. Fins i tot alguns autors assenyalen (Bernal, 1998) que aquest estímul de l'activitat biològica pot afavorir la degradació de part de la matèria orgànica del sòl, efecte conegut amb el nom de "priming" o d'encebament. Aquest fet no s'ha constatat en cap dels estudis amb oliasses revisat.

Quant a les **formes nitrogenades**, de manera similar al carboni oxidable, el contingut de **nitrogen Kjeldahl** (taula 4.6.9 i figura 4.6.5) augmenta lleugerament amb l'aportació d'oliassa, i és significativament diferent al del control per a les dosis de 180 i 360. Aquests valors, però, tendeixen a igualar-se amb el valor de les parcelles control al llarg del temps, de manera que calen 30 dies per a la dosi de 180 i 60 per a la de 360. Paral·lelament a la disminució del contingut de nitrogen, s'observa un increment de la formació de nitrat (figura 4.6.6) per la mineralització del nitrogen orgànic aportat per l'oliassa. Resultats similars són observats per Pérez i Gallardo-Lara (1987) autors que incuben sòls amb oliassa en condicions de laboratori.

Taula 4.6.9. Valors mitjans de nitrogen Kjeldahl (%) en funció del temps (dies). Lletres diferents a la mateixa fila indiquen diferències significatives ($P \leq 0,05$).

Temps	Control	30 m ³ ha ⁻¹	180 m ³ ha ⁻¹	360 m ³ ha ⁻¹
0	0,195a	0,198ab	0,211bc	0,214c
9	0,198a	0,203ab	0,210ab	0,215b
30	0,201a	0,198a	0,203a	0,213b
60	0,202a	0,201a	0,204a	0,205a
120	0,200a	0,203a	0,200a	0,201a

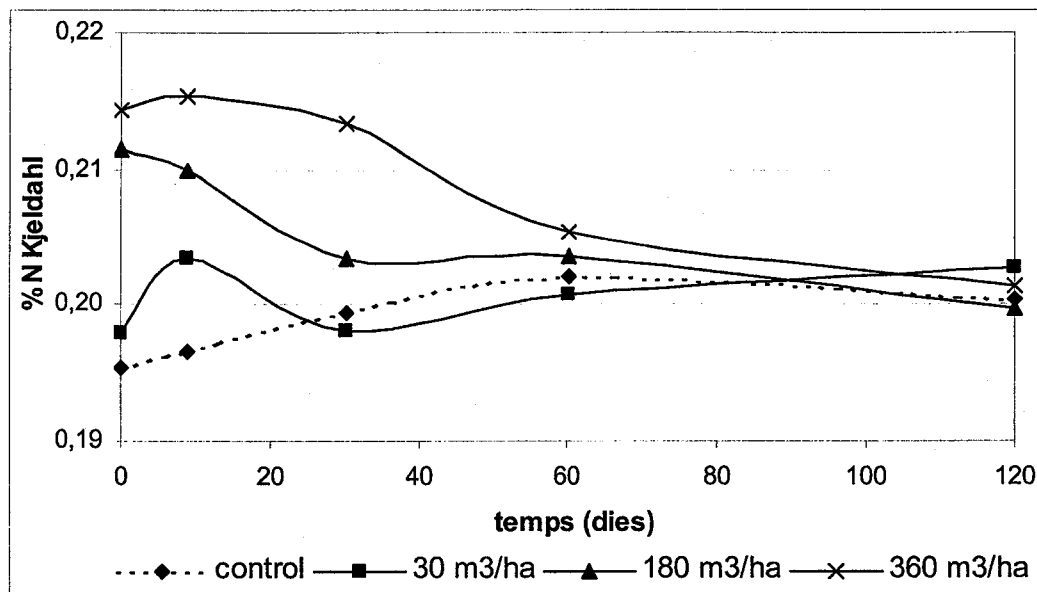


Figura 4.6.5. Representació gràfica dels valors mitjans de nitrogen Kjeldahl en funció del temps.

Tot just després de l'aplicació de l'oliassa, el contingut de **nitrats** de les parcel·les adobades és inversament proporcional a la dosi d'oliassa aplicada (taula 4.6.10 i figura 4.6.6), fins al punt que les que han rebut dosis equivalents a 360 m³ ha⁻¹ tenen valors de nitrat 10 cops inferiors als de les parcel·les control. Aquesta disminució inicial també s'observa, en menor mesura per a la dosi de 30.

Aquest fet confirma el que ja s'havia observat anteriorment en l'experiment en lisímetres i en les proves de degradació de fenols. El fenomen és atribuït als processos d'immobilització del nitrogen per part dels microorganismes del sòl, ja que amb l'aportació d'oliassa s'incorpora al sòl matèria orgànica làbil amb una relació C/N elevada (en aquest cas 33).

Taula 4.6.10. Valors mitjans de nitrat ($\text{mg NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$) en funció del temps (dies). Lletres diferents a la mateixa fila indiquen diferències significatives ($P \leq 0,05$).

Temps	Control	30 $\text{m}^3 \text{ ha}^{-1}$	180 $\text{m}^3 \text{ ha}^{-1}$	360 $\text{m}^3 \text{ ha}^{-1}$
0	192,3a	116,8b	44,6bc	12,9c
3	194,1a	92,0b	84,7b	28,2c
9	215,3a	122,3b	84,5b	38,5b
17	206,6a	153,9ab	154,7ab	116,1b
30	248,8a	160,4ab	164,5ab	153,6b
60	333,8a	239,0a	271,4a	271,5a
120	370,7a	335,2a	359,2a	357,3a

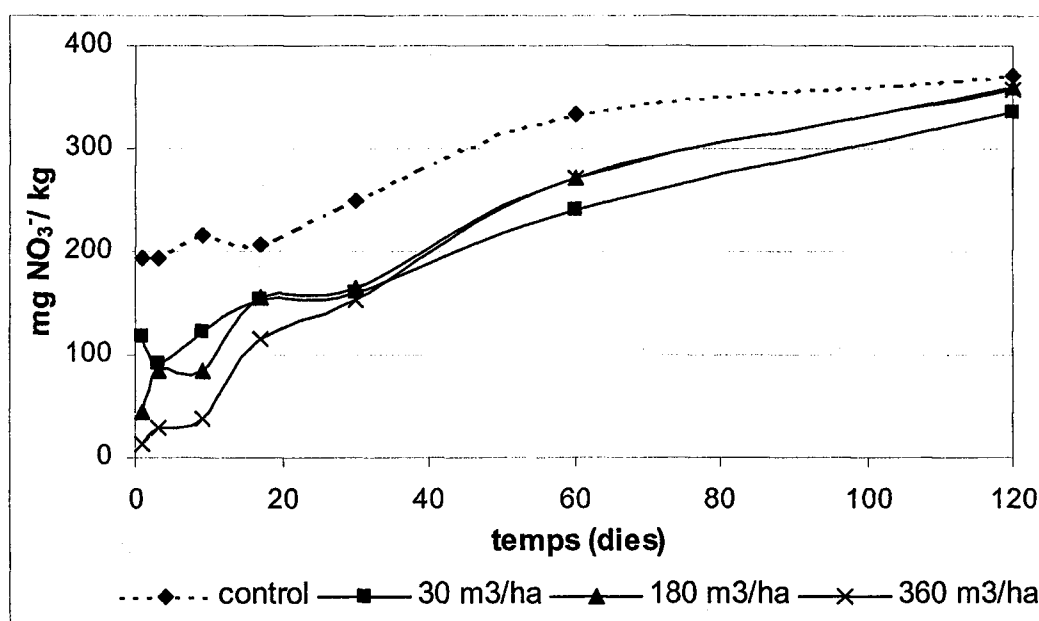


Figura 4.6.6. Representació gràfica dels valors mitjans de nitrats en funció del temps.

Les parcel·les control presenten un notable increment de contingut de nitrats al llarg del temps, perquè les condicions ambientals van ser favorables i s'estimulà l'activitat biològica dels microorganismes nitrificants. En el cas de les parcel·les adobades amb oliassa, després de la minva inicial del contingut de nitrats s'esdevé una recuperació dels valors al llarg del temps, ja que tant el nitrogen orgànic aportat per l'oliassa com l'immobilitzat inicialment són mineralitzats i transformats lentament a nitrat. El temps necessari perquè s'assoleixin valors significativament iguals als dels controls és de 17 dies per a les dosis de 30 i 180, i dos mesos per a la dosi de 360. Levi-Minzi et al. (1992) en un experiment de camp apliquen dosis d'oliassa a raó de $320 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ i calen 135 dies per a restablir el contingut de nitrats com el del control. La relació C/N de l'oliassa, en aquest cas, era de 37, lleugerament superior a la

d'aquest estudi, fet que pot justificar aquest retard en la recuperació dels valors de nitrat, entre d'altres factors com ara les condicions ambientals, etc.

Per tant, convé tenir aquests fets presents a l'hora d'aportar aquest tipus de residus al sòl, de manera que s'aconsella no aplicar oliassa a conreus durant períodes de més necessitats de nitrogen.

També s'ha estudiat l'**amoni intercanviable** per acabar de conèixer els efectes de l'aportació d'oliassa sobre el cicle del nitrogen. En general, els valors d'amoni intercanviable (taula 4.6.11 i figura 4.6.7) tendeixen a augmentar en el temps (fins als 2 mesos) per a totes les dosis (incloses les parcelles control).

Taula 4.6.11. Valors mitjans d'amoni intercanviable ($\text{mg NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}$) en funció del temps. Lletres diferents a la mateixa fila indiquen diferències significatives ($P \leq 0,05$).

Temps	Control	30 m³ ha⁻¹	180 m³ ha⁻¹	360 m³ ha⁻¹
0	5,6a	6,7a	6,2a	7,5a
9	6,1a	7,2a	6,9a	6,8a
30	8,5a	8,3a	8,9a	6,4a
60	8,4a	10,2a	7,4a	11,0a
120	8,5a	9,5a	6,6a	10,4a

Els augments del contingut d'amoni a les parcelles control al llarg del temps són lleugerament inferiors als de les adobades amb oliassa, ja que part del nitrogen aportat per aquesta es va mineralitzant amb el temps. De totes maneres, l'anàlisi dels resultats no assenyala diferències significatives amb les parcelles control, la qual cosa indica que no s'ha detectat immobilització de nitrogen en forma d'amoni ja que està menys disponible que el nitrat (adsorbit al complex de canvi) o que aquest s'ha volatilitzat com a amoníac al pH bàsic d'aquest sòl. Aquesta darrera opció no sembla probable ja que en l'experiment en columnes lisimètriques per al sòl M (de pH àcid) també succeïa.

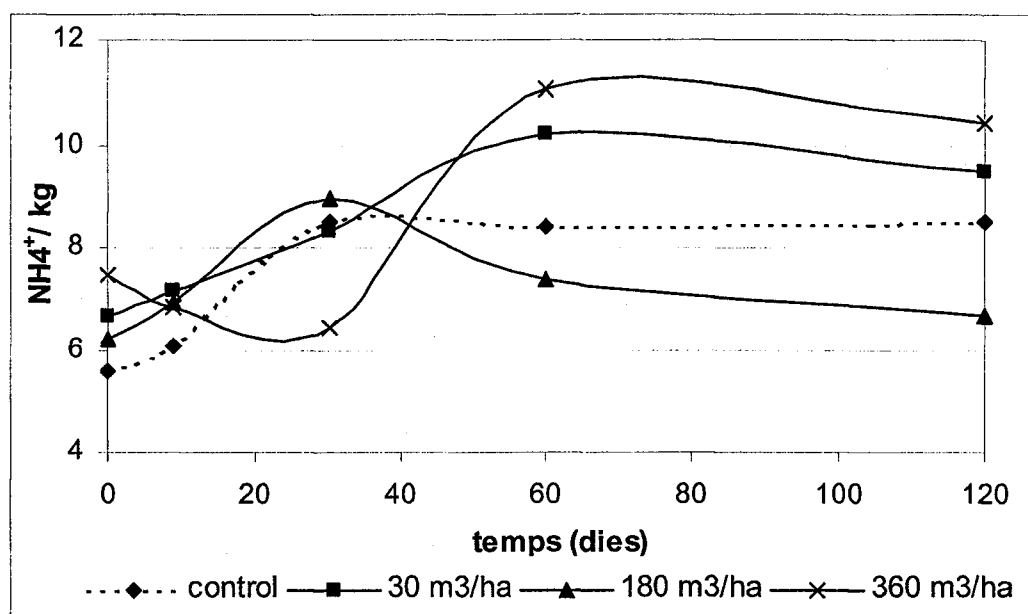


Figura 4.6.7. Representació gràfica dels valors mitjans d'amoni intercanviable en funció del temps.

Quant al **fòsfor assimilable** (taula 4.6.12 i figura 4.6.8) s'observa que inicialment augmenta el seu contingut en incrementar la dosi d'oliassa aplicada. Aquest augment és més notori per a la dosi de 360. Amb el transcurs del temps, els valors de fòsfor de les parcel·les control i de les que han rebut dosis de 30 i 180 es mantenen més o menys constants, mentre que per a la dosi de 360 hi ha un lleuger descens durant el primer mes i després els valors es mantenen constants. Al final del període estudiat (120 dies) el contingut de fòsfor assimilable de les parcel·les que han rebut dosis de 360 continua sent significativament superior al dels controls.

Taula 4.6.12. Valors mitjans de fòsfor (mg P kg^{-1}) assimilable en funció del temps (dies). Lletres diferents a la mateixa fila indiquen diferències significatives ($P < 0,05$).

Temps	Control	30 m ³ ha ⁻¹	180 m ³ ha ⁻¹	360 m ³ ha ⁻¹
0	356,9a	361,0a	389,8ab	480,3b
9	378,7a	389,8a	404,9a	473,1b
30	368,8a	385,0ab	401,9ab	442,2b
60	367,2a	374,3a	408,7ab	448,3b
120	375,1a	379,1a	399,1ab	452,7b

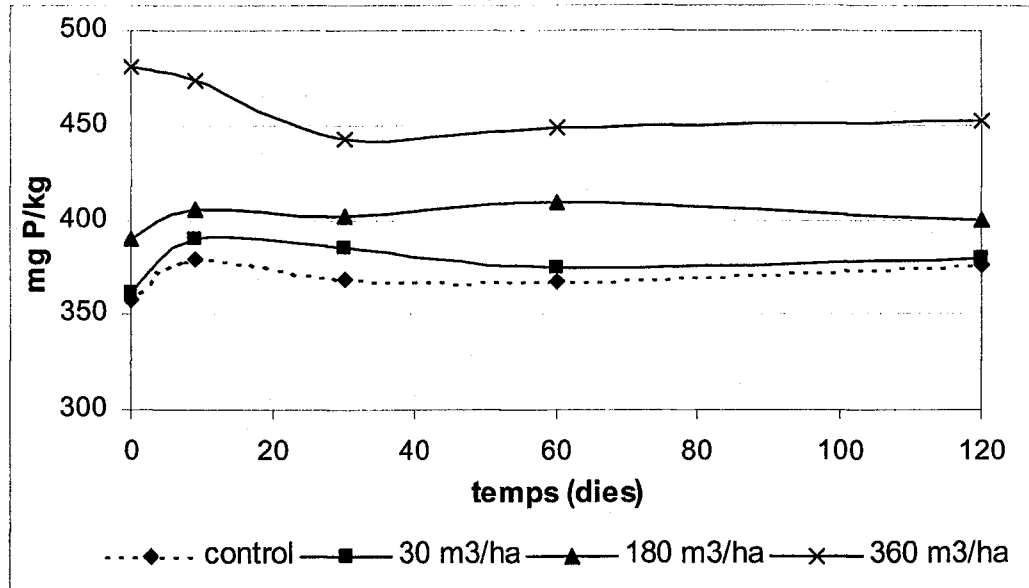


Figura 4.6.8. Representació gràfica dels valors mitjans de fòsfor assimilable en funció del temps.

Pel que fa als **cations assimilables** s'observa en primer lloc que el contingut en **calci** inicialment disminueix notablement en augmentar la dosi d'oliassa per a totes les dosis d'oliassa. Amb el temps els valors de calci es recuperen parcialment arribant únicament al valor del control la dosi de 30 (taula 4.6.13 i figura 4.6.9). Aquest fet (observat també en l'experiment en columnes lisimètriques) pot ser degut a l'elevat contingut en potassi i sodi de l'oliassa aplicada, que desplacen al calci lligat al complex de bescanvi del sòl. Al final de l'experiment el contingut de calci de les parcel·les adobades a les dosis 180 i 360 continuen tenint valors significativament inferiors als dels controls.

Taula 4.6.13. Valors mitjans de calci assimilable ($\text{mg Ca}^{2+} \text{ kg}^{-1}$) en funció del temps (dies). Lletres diferents a la mateixa fila indiquen diferències significatives ($P \leq 0,05$).

Temps	Control	30 m ³ ha ⁻¹	180 m ³ ha ⁻¹	360 m ³ ha ⁻¹
0	6996a	6565ab	6124ab	5864b
9	6757a	6236b	5852ab	5865b
30	6778a	6457b	6066ab	6073b
60	6774a	6626ab	6195ab	6065b
120	6798a	6752ab	6374b	6209b

Quant al **magnesi** (taula 4.6.14 i figura 4.6.10) inicialment a dosis altes augmenta molt dèbilment, tot i que no hi han diferències significatives entre

les parcel·les adobades i les controls. Amb el transcurs del temps, les parcel·les adobades tendeixen a igualar-se amb les que no ho estan.

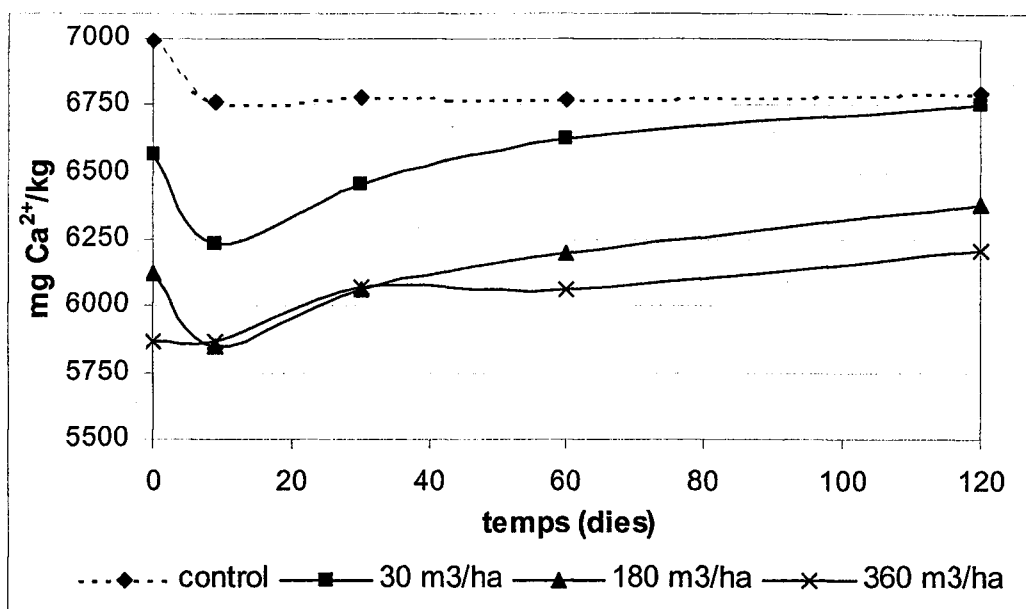


Figura 4.6.9. Representació gràfica dels valors mitjans de calci assimilable en funció del temps.

Taula 4.6.14. Valors mitjans de magnesi assimilable (mg Mg²⁺ kg⁻¹) en funció del temps (dies). Lletres diferents a la mateixa fila indiquen diferències significatives (P<0,05).

Temps	Control	30 m ³ ha ⁻¹	180 m ³ ha ⁻¹	360 m ³ ha ⁻¹
0	274,7a	218,8a	331,2a	296,0a
9	242,7a	276,8a	327,4a	326,7a
30	267,2a	241,3a	359,9a	382,4a
60	279,2ab	245,4a	309,6ab	331,1a
120	263,8a	273,7a	287,7a	313,2a

En relació al contingut de **potassi i sodi assimilables** (taules 4.6.15 i 4.6.16 i figures 4.6.11 i 4.6.12) s'observa que a l'inici augmenten proporcionalment amb la dosi d'oliassa aplicada. Concretament a la dosi de 360 el potassi s'incrementa en un 35% mentre que el sodi ho fa en un 300%. L'increment del potassi i en menor mesura del sodi en el complex de bescanvi és un fet habitual quan s'aplica oliassa al sòl, i ha estat constatat per diversos autors (Torres et al., 1980; García et al., 1990; López et al., 1996).

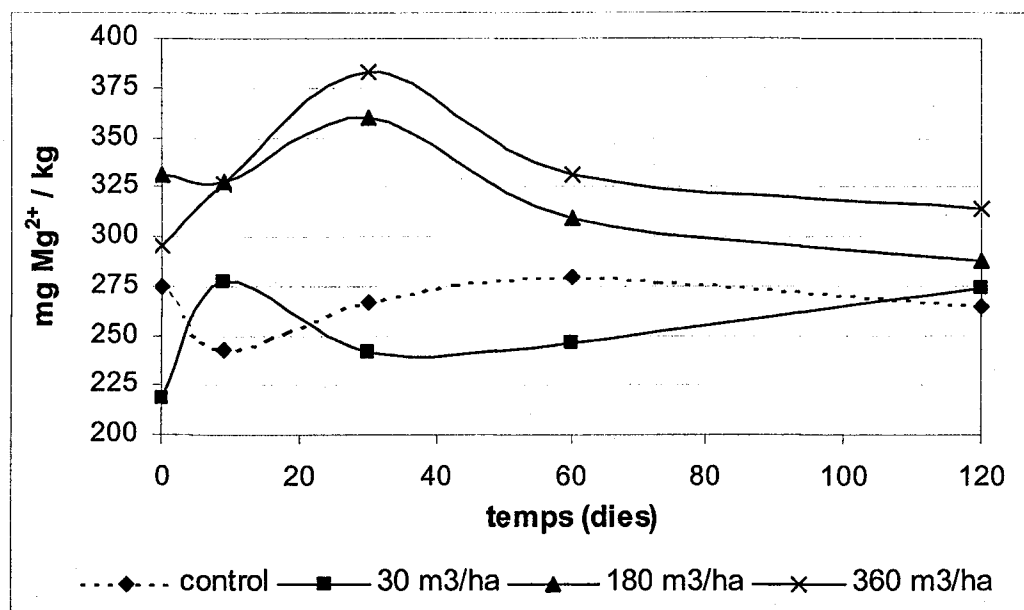


Figura 4.6.10. Representació gràfica dels valors mitjans de magnesi assimilable en funció del temps.

A l'apartat 4.3 corresponent a l'estudi de l'abocador Santa Bàrbara també s'ha observat un increment del contingut de potassi del sòl semblant i en l'experiment de columnes lisimètriques s'incrementa la concentració ambdós cations (apartat 4.4).

Pel que fa al sodi s'observa que el sòl control presenta valors relativament baixos, i tenint en compte la capacitat d'intercanvi catiònic d'aquest sòl (15,7 mEq kg⁻¹) presenta un percentatge de sodi intercanviable (PSI) del 6,8%, mentre que per a la dosi de 360 el PSI s'incrementa fins a valors superiors al 15% (concretament 20,9%), valor a partir del qual es considera que el sòl pot començar a patir problemes de sodificació i dispersió dels col·loides del sòl. Malgrat això, cal tenir en compte que l'extractant emprat és més àcid (pH 7) que el sòl (pH 8) fet que provoca una sobrevaloració de tots els cations assimilables en general i, per tant, també del sodi. De fet la suma dels cations assimilables supera en un 60% la capacitat d'intercanvi catiònic del sòl. Aquest fet és habitual quan el pH de l'extractant és inferior al del sòl. A més, la relació d'adsorció de sodi (RAS), que mesura la proporció relativa entre els continguts de sodi, calci i magnesi assimilables dels sòl, té un valor d'1,1 per al sòl control i de 3,6 per al sòl adobat a la màxima dosi, valors clarament inferiors a 10. Per tant, es confirma que en aquest cas concret no es preveuen

problemes relacionats amb la sodificació, fet habitual en sòls calcaris on hi ha excés d'ions calci.

Cal indicar però, que no és habitual trobar sòls en els que el sodi assimilable s'incrementi tant com aquest cas com a resultat de l'aplicació d'oliassa, ja que aquest catió no acostuma a ser majoritari. Com ja es va comentar al exposar la caracterització de les oliasses (apartat 4.1), aquesta concretament, presenta valors molt elevats de sodi donat que havia estat neutralitzada amb hidròxid sòdic.

Taula 4.6.15. Valors mitjans de potassi assimilable ($\text{mg K}^+ \text{kg}^{-1}$) en funció del temps (dies). Lletres diferents a la mateixa fila indiquen diferències significatives ($P \leq 0,05$).

Temps	Control	30 $\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$	180 $\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$	360 $\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$
0	2190a	2266a	2586ab	2939ab
9	2146a	2213a	2556ab	3016ab
30	2157a	2252a	2651ab	3032ab
60	2221a	2393ab	2704ab	3030ab
120	2117a	2228a	2651ab	2939ab

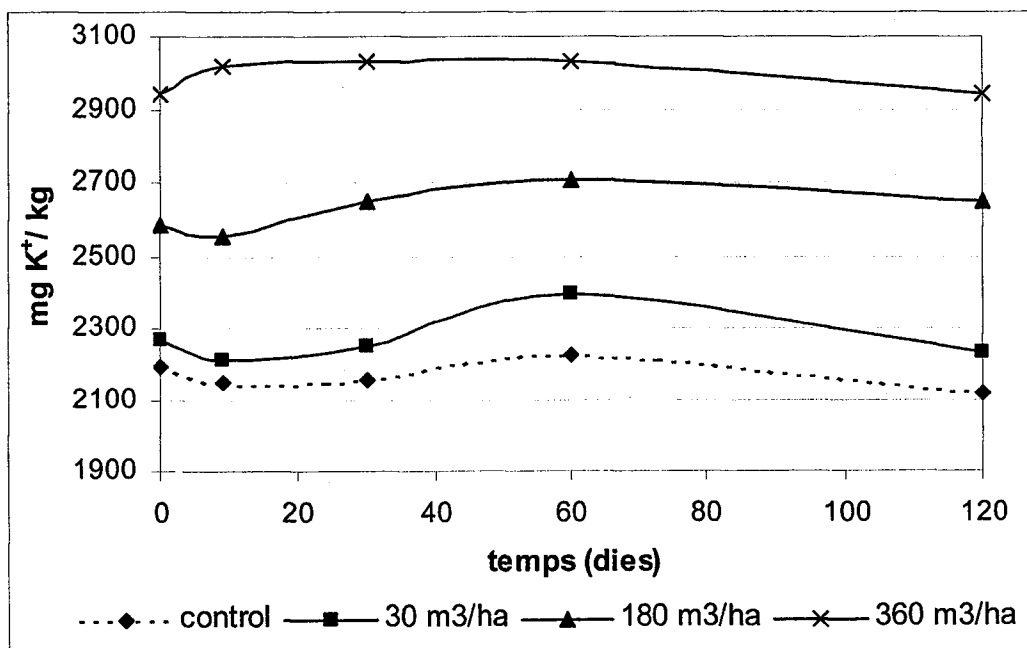


Figura 4.6.11. Representació gràfica dels valors mitjans de potassi assimilable en funció del temps.

Al llarg del temps els continguts de sodi i potassi de les parcelles control es mantenen més o menys constants, mentre que en les que han rebut oliassa únicament mantenen els valors de potassi. Pel que fa al sodi, tendeix a anar

disminuint lentament al llarg del temps, malgrat que a 120 dies els nivells dels sòls adobats a raó de 180 i 360 continuen sent significativament superiors als dels sòls controls. En canvi, el calci es comporta de forma inversa al sodi i el seu contingut tendeix a augmentar amb el temps.

Taula 4.6.16. Valors mitjans de sodi assimilable ($\text{mg Na}^+ \text{kg}^{-1}$) en funció del temps (dies). Lletres diferents a la mateixa fila indiquen diferències significatives ($P \leq 0,05$).

Temps	Control	30 $\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$	180 $\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$	360 $\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$
0	245,1a	281,4a	516,3b	753,3c
9	247,4a	289,9a	519,3b	757,1c
30	233,5a	263,7a	478,9b	667,5c
60	245,5a	293,7a	458,1b	641,9c
120	249,6a	279,8a	432,5b	588,6c

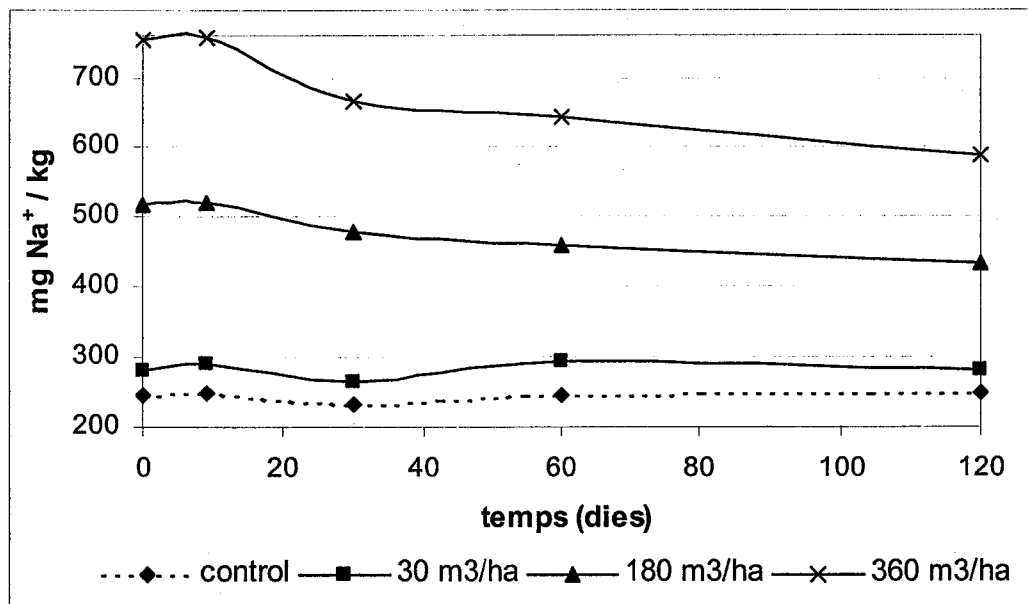


Figura 4.6.12. Representació gràfica dels valors mitjans de sodi assimilable en funció del temps.

En relació als **compostos fenòlics solubles** (taula 4.6.17 i figura 4.6.13) s'observa que inicialment el seu contingut augmenta proporcionalment a la dosi d'oliassa aplicada. El contingut mig de fenols del sòl control és de 7,2 mg d'àcid cafeic kg^{-1} , valor que està dins el marge de valors base dels sòls de conreu estudiat anteriorment (apartat 4.6.1).

Taula 4.6.17. Valors mitjans de compostos fenòlics solubles (mg d'àcid cafeic kg⁻¹) en funció del temps (dies). Lletres diferents a la mateixa fila indiquen diferències significatives (P<0,05).

Temps	Control	30 m ³ ha ⁻¹	180 m ³ ha ⁻¹	360 m ³ ha ⁻¹
0	7,1a	18,2a	46,2b	109,0c
3	7,4a	16,7a	39,7b	81,2c
9	7,5a	17,2a	37,9b	75,5c
17	7,2a	13,2ab	25,8bc	54,0c
30	7,4a	13,1a	23,3ab	34,1b
60	6,7a	7,6ab	16,4b	23,8c
120	6,9a	6,3a	9,7a	11,5a

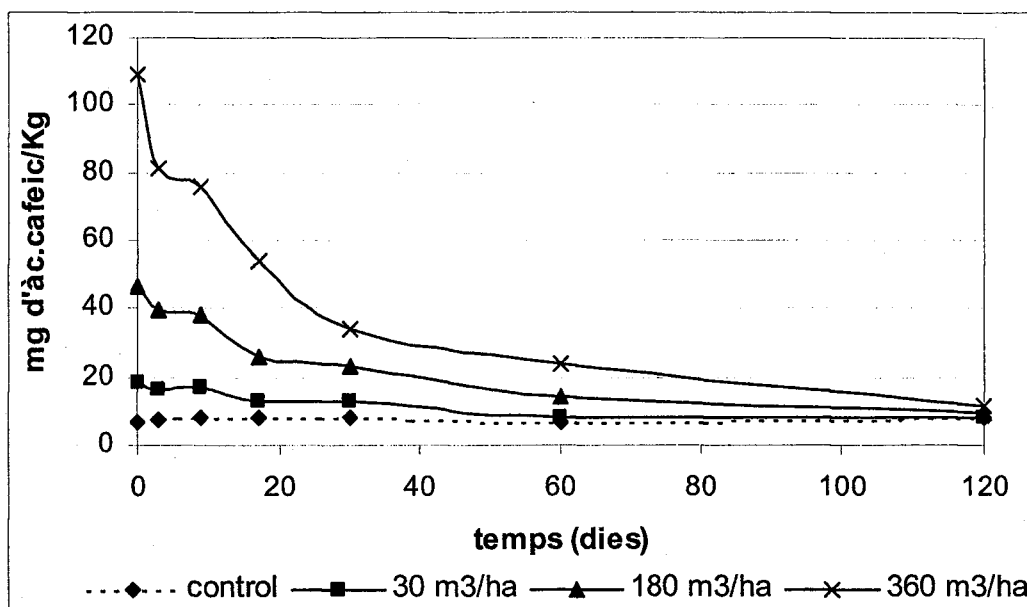


Figura 4.6.14. Representació gràfica dels valors mitjans de compostos fenòlics solubles en funció del temps.

Inicialment a la dosi de 30 el contingut de fenols és 2,5 vegades la del control, 6 vegades per a la dosi de 180 i 15 per a la de 360. Al llarg del temps els valors del control es mantenen constants, mentre que el de les parcel·les que han rebut oliassa tendeixen a recuperar els valors inicials. Han estat necessaris per a assolir nivells semblants als de les parcel·les control 120 dies per a les dosis de 180 i 360. Els principals mecanismes responsables de la disminució de la concentració dels fenols solubles són (com ja es va poder comprovar en l'experiment en columnes lisimètriques): la biodegradació, l'adsorció i la lixiviació. La lixiviació en aquest tipus de sòls rics en carbonats i argiles és un procés de baixa rellevància segons els resultats obtinguts amb les columnes

lisimètriques (fins a un 0,3% per a la dosi de 360 després de 8 cicles d'aplicació). L'adsorció inicial és força elevada i es pot estimar amb l'extracció amb hidròxid sòdic i pirofosfat sòdic. La biodegradació i/o incorporació a la matèria orgànica com s'ha vist en l'apartat d'assajos respiromètrics (apartat 4.5) és un factor clau en la disminució del contingut de fenols solubles.

Quan als **fenols** extractats amb **hidròxid sòdic i pirofosfat sòdic** (taula 4.6.18 i figura 4.6.14) s'observa que inicialment també s'incrementa el seu contingut amb la dosi d'oliassa, encara que en menor mesura que el dels fenols solubles. Concretament a la dosi de 30 l'increment és del 8%, per a la dosi de 180 ascendeix al 18% i per a la dosi superior és del 29%.

Taula 4.6.18. Valors mitjans de compostos fenòlics extractats amb hidròxid sòdic i pirofosfat sòdic (mg d'àcid cafeic kg⁻¹) en funció del temps (dies). Lletres diferents a la mateixa fila indiquen diferències significatives (P≤0,05).

Temps	Control	30 m ³ ha ⁻¹	180 m ³ ha ⁻¹	360 m ³ ha ⁻¹
0	731,4a	793,9a	868,4ab	945,0b
3	723,3a	789,1a	859,8ab	936,9b
9	739,2a	787,3a	860,4ab	934,6b
17	721,7a	721,5a	820,1a	822,7a
30	749,7a	733,5a	773,3a	813,0a
60	729,4a	736,1a	772,1a	801,1a
120	742,6a	748,4a	765,6a	782,6a

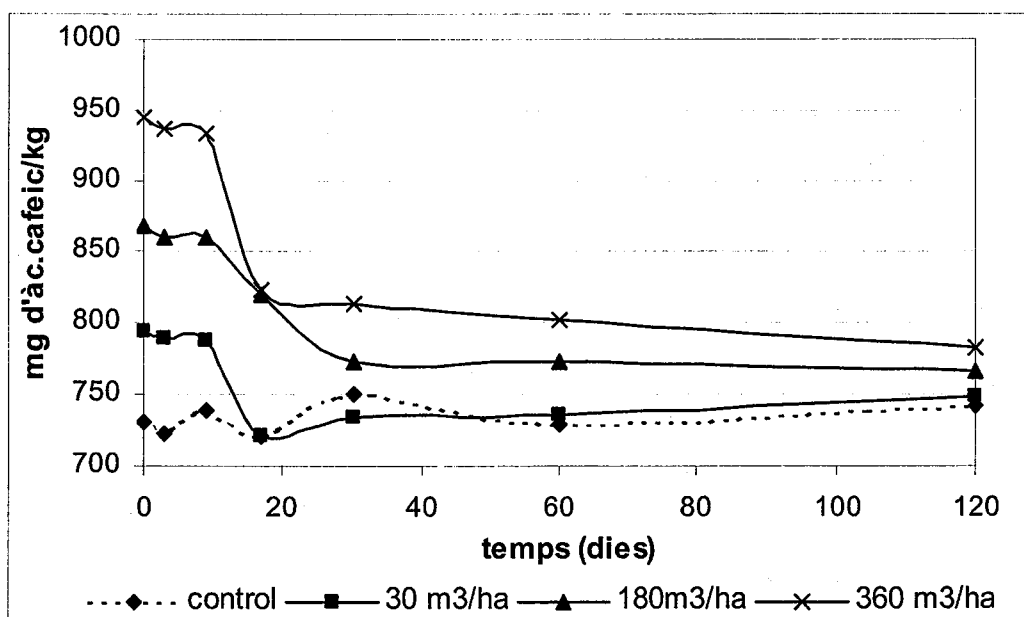


Figura 4.6.15. Representació gràfica dels valors mitjans de compostos fenòlics extractats amb hidròxid sòdic i pirofosfat sòdic en funció del temps.

Els valors dels controls es mantenen constants al llarg del temps i el de les parcelles adobades tendeixen a recuperar els valors dels controls de forma menys marcada que els fenols solubles ja que no tots són susceptibles de ser lixiviats i en estar adsorbits (en part) també són més difícilment biodegradables. La disminució també pot atribuir-se a la incorporació dels fenols a la matèria orgànica del sòl mitjançant enllaços covalents, per formar compostos no extractables amb hidròxid sòdic diluït. D'aquests processos de condensació involucrats en la humificació, en són normalment responsables els microorganismes del sòl (Eschenbach et al., 2001).

Els resultats obtinguts tant pels compostos fenòlics solubles com pels extractats amb hidròxid sòdic i pirofosfat, mostren un comportament molt similar als resultats obtinguts per Levi-Minzi et al. (1992) i Riffaldi et al. (1993), malgrat que aquests autors emprassin a part de l'aigua, hidròxid sòdic 2N per a efectuar l'extracció dels compostos fenòlics.

Aplicant als resultats obtinguts al model cinètic de primer ordre (tal i com s'havia efectuat en l'experiment de degradació de fenols, apartat 4.5) s'observa que per als valors de fenols solubles a les tres dosis d'oliassa assajades, els coeficients de correlació entre el logaritme neperià de la concentració i el temps, són força elevats (entre 0,958 i 0,978), la qual cosa indica que la desaparició d'aquests compostos en condicions de camp s'adapta notablement a aquest model (taula 4.6.19). Les taxes de degradació (K) obtingudes també s'incrementen al passar de la dosi de 30 a 180 i es mantenen més o menys constants entre 180 i 360 tal i com s'havia vist en l'experiment de degradació de fenols (apartat 4.5). En aquest cas però, els valors de K són inferiors als obtinguts pel sòl T (sòl de característiques semblants al d'aquest experiment) en els assajos de laboratori. En l'experiment de laboratori la K per a la dosi de 360 és de $-0,028 \text{ dies}^{-1}$, mentre que en l'experiment de camp és de $-0,018 \text{ dies}^{-1}$. Aquestes diferències cal atribuir-les a les diferents condicions ambientals que han estat sotmesos aquests sòls. Les condicions de laboratori, considerades ideals, ens donen idea de la K màxima o potencial que pot tenir aquest sòl concret, en canvi en l'experiment de camp, la K obtinguda, donat que s'ha efectuat en condicions de camp, s'adapta més a la K real per aquestes condicions.

En el cas dels resultats dels fenols extractats amb hidròxid sòdic i pirofosfat, també s'adapten a la cinètica de 1er ordre, encara que la correlació sigui inferior a la dels fenols solubles. Les taxes de degradació són inferiors a les obtingudes amb l'evolució dels fenols solubles per a les tres dosis assajades, fet lògic tenint en compte que aquest extractant, a més a més solubilitza la fracció intercanviable i la lligada feblement a la matèria orgànica, fraccions que són menys biodisponibles per als microorganismes encarregats de degradar-los.

Taula 4.6.19. Aplicació de la cinètica de primer ordre en la disminució dels fenols solubles i extractats amb hidròxid sòdic i pirofosfat sòdic al llarg del temps. Valors del logaritme neperià de la concentració inicial, constant de la taxa de degradació, coeficient de correlació i temps de vida mitja teòrica i real.

Mostra	$\ln C_0$	K (dies ⁻¹)	r	$t_{1/2}$ teòric (dies)	$t_{1/2}$ real (dies)
Fenols solubles					
30 m ³ ha ⁻¹	2,901	-0,014	0,978	49,2	32,1
180 m ³ ha ⁻¹	3,833	-0,017	0,958	41,3	16,2
360 m ³ ha ⁻¹	4,691	-0,018	0,962	39,2	15,1
Fenols NaOH: pirofosfat					
30 m ³ ha ⁻¹	4,142	-0,011	0,907	61,3	12,0
180 m ³ ha ⁻¹	4,893	-0,012	0,841	58,2	21,7
360 m ³ ha ⁻¹	5,366	-0,012	0,850	59,2	15,2

Malgrat les diferències obtingudes entre els experiments de laboratori i en assaig de camp i entre els fenols solubles i els extractats amb hidròxid sòdic amb pirofosfat, es pot afirmar que els fenols aportats a sòls calcaris per l'aplicació d'oliassa a dosis de entre 30 i 360 m³ ha⁻¹, en règims d'humitat xèric i de temperatura mèsic, són ràpidament biodegradats amb temps de vida mitja reals que oscil·len entre els 12 i 32 dies.

4.6.3. Consideracions sobre els nivells de fenols i els efectes de l'aplicació d'oliassa al camp

Aquest experiment ha permès conèixer l'efecte de l'aportació d'oliassa sobre alguns paràmetres del sòl en condicions de camp, entre ells l'evolució dels compostos fenòlics i alhora ha servit per corroborar alguns fenòmens que

s'havien observat en els experiments de simulació al laboratori (experiments en columnes lisimètriques i assajos de biodegradació de fenols).

Així doncs en l'experiment de camp, s'ha comprovat que l'aportació d'oliassa a dosis considerades d'ús agronòmic (entre 30 i 360 m³ ha⁻¹) incrementa lleugerament el pH del sòl i sobretot la conductivitat elèctrica, així com el contingut de carboni, nitrogen i fòsfor en augmentar la dosi d'oliassa aplicada. Aquests fets també s'havien constatat en l'experiment en columnes lisimètriques. Aquests paràmetres tendeixen a restablir-se en pocs mesos, excepte en el cas del fòsfor.

També s'ha observat un increment dels continguts de potassi i sodi assimilables, que alhora desplacen al calci dels carbonats i del complex de canvi, fet que també s'havia observat en l'experiment en columnes lisimètriques.

La immobilització dels nitrats del sòl quan s'aplica oliassa a qualsevol de les dosis assajades, s'ha pogut constatar tant en l'experiment en columnes lisimètriques com en les incubacions respiromètriques. Finalment en l'assaig de camp s'ha observat que la immobilització no és irreversible i a mig termini els valors de nitrats són semblants als del control.

En relació als compostos fenòlics, en aquest experiment s'ha constatat novament que l'aportació d'oliassa provoca un increment del contingut de fenols solubles i en menor mesura dels adsorbits. En l'experiment en columnes lisimètriques s'havia observat que l'aportació d'una única aplicació d'oliassa a un sòl calcari i de textura fina, similar al de l'experiment de camp, no s'esperen pèrdues de fenols per lixiviació i en els assajos respiromètrics s'observà que la desaparició d'aquests obeeix principalment a fenòmens biològics. Per tant, els descens del contingut de fenols observat en l'experiment de camp cal atribuir-lo fonamentalment a processos de biodegradació o d'incorporació a la matèria orgànica. La velocitat d'aquests processos depèn de les condicions ambientals, sent els règims d'humitat xèric i de temperatura mèsic adequats per a que els fenols aportats a dosis d'aplicació d'oliassa d'entre 30 i 360 m³ ha⁻¹ siguin ràpidament degradats.

4.7. IDENTIFICACIÓ DE COMPOSTOS FENÒLICS EN OLIASSES I SÒLS

Després d'haver quantificat els compostos fenòlics tant d'oliasses com de sòls contaminats amb oliasses i aigües de lixiviació mitjançant el mètode de Folin Ciocalteu es plantejà el repte de conèixer quin tipus de fenols són. Per això s'ha desenvolupat un estudi encaminat a posar a punt un mètode d'anàlisi que permeti la seva identificació.

Per a la realització d'aquest estudi s'han emprat mostres de sòl control (**T**), sòl contaminat amb oliasses de l'abocador incontrolat de Santa Bàrbara (**B2**), el sòl contaminat amb oliassa al laboratori (**Tcont**) i l'oliassa tradicional de Vilalba dels Arcs (**OT**).

L'extractant usat per a extreure els compostos fenòlics dels sòls ha estat l'aigua, perquè com ja s'ha vist anteriorment, la fracció aquosa del sòl és la fracció que pot enriquir-se més amb compostos fenòlics procedents de l'aportació d'oliassa i és la que pot tenir més repercussions ecològiques.

Inicialment es començà a treballar mitjançant tècniques d'HPLC-UV amb patrons comercials de compostos fenòlics. Posteriorment, i com a conseqüència dels resultats obtinguts, s'ha treballat amb un equip d'HPLC-MS amb ionització negativa amb la intenció d'identificar els compostos mitjançant el seu pes molecular. Finalment, s'han obtingut millors resultats treballant amb CG-MS amb una font d'ionització per impacte electrònic i s'han comparat els espectres de masses obtinguts a partir de les mostres amb diferents espectroteques reconegudes per la comunitat científica (Wiley, Nist, NBS i Libtx) amb la finalitat d'identificar compostos dels quals no es disposa dels patrons corresponents. No s'ha d'oblidar que els compostos fenòlics i derivats són una família de compostos molt extensa.

Els patrons emprats han estat fonamentalment els que, segons diferents treballs, era més probable trobar i també s'han escollit d'altres amb diferent polaritat: fenol, àc. p-hidroxibenzoic, àc. vainílic, àc. cafeic, àc. siringic, àc. cumàric, àc. ferúlic, p-hidroxibenzaldehyd, p-hidroxiacetofenona, 3,5-dimetoxi-

4-hidroxiacetofenona, vainillina, siringaldehid, acetovanillona, o-nitrofenol, p-nitrofenol, benzetriol i hidroquinona.

Les extraccions de les mostres de sòl es realitzen partint sempre de l'extracció del sòl amb aigua en proporció 1:10 (p:v) mitjançant agitació durant una nit. Després de filtrar, s'acidifica el sobrenedant i es concentra mitjançant un cartutx d'extracció en fase sòlida (veure apartat 3.2.1.4). L'acidificació es realitza fins a pH 3 per evitar la formació de precipitats ja que quan s'acidifiquen compostos fenòlics es pot afavorir la precipitació d'aquells que tenen cert grau de polimerització en augmentar les possibilitats de interacció i formació de ponts d'hidrogen (Livernoche et al., 1983).

L'objectiu de l'etapa d'extracció en fase sòlida és la concentració de la mostra i l'eliminació de part de les impureses que poden provocar soroll de fons i complicar la interpretació del cromatograma. També s'estalvien dissolvents orgànics i disminueix el temps d'anàlisi.

Amb la finalitat d'avaluar el rendiment d'aquest tipus d'extracció, s'han passat una mescla de patrons (80 mg kg⁻¹ cadascun) de diferent polaritat a través del cartutx d'extracció en fase sòlida "tc18" i s'ha eluït amb acetat d'etil. A la taula 4.7.1 pot observar-se com els percentatges de recuperació varien molt (entre el 26 i el 86%) en funció del tipus de fenol.

Taula 4.7.1. Rendiment de l'extracció en fase sòlida (tc18) en percentatge.

Patró	% recuperació
Àc. P-hidroxibenzoic	60,2 ± 5,1
Àc. Cafeic	54,4 ± 7,4
Vainillina	85,9 ± 6,1
Àc. Ferúlic	26,5 ± 2,9
Fenol	68,7 ± 4,9
p-nitrofenol	65,4 ± 8,3
mitjana	60,2 ± 19,7

Sembla ser que els fenols àcids presenten pitjors rendiments que no pas el fenol simple, el nitrofenol, o bé, el fenol amb grups metoxi o aldehid. El resultat obtingut amb la vainillina és similar a l'obtingut per Kögel i Botcher (1985) i la mitjana de recuperació dels diferents fenols coincideix també amb

la mitjana dels resultats obtinguts per Malovarà et al. (2001) els quals també obtenen moltes diferències entre les diferents classes de fenols.

Aquests resultats fan preveure la dificultat en l'aplicació d'aquest sistema a mostres formades per mescleres complexes de les quals no es tenen patrons, i que complicarà molt més la quantificació posterior. Per tant, els resultats han de ser interpretats únicament com a anàlisis qualitatives.

Un cop concentrada i purificada la mostra (ara en acetat d'etil), s'evapora l'acetat d'etil en atmosfera inert (N_2), per evitar l'oxidació dels fenols, i es resuspèn el precipitat amb metanol. La mostra així obtinguda ja es a punt de ser analitzada per cromatografia.

4.7.1. Cromatografia líquida acoblada a un detector d'Ultraviolat Visible (HPLC-UV).

Per a la identificació dels compostos fenòlics s'han utilitzat el conjunt de patrons abans esmentats i s'han efectuat diversos assajos per tal de trobar les condicions més adequades per a la seva separació cromatogràfica.

La polaritat dels diferents compostos fenòlics assajats és molt semblant i per tant es fa necessari l'ús d'una fase mòbil molt selectiva i en condicions molt controlades. També és indispensable l'ús de gradient (augmentant la proporció de fase orgànica en el temps) per eluir els fenols menys polars.

Després d'assajar amb diversos mètodes (EPA, Mètode 604 i Betés-Saura et al., 1996) amb diferents gradients i fases mòbils binàries formades per acetonitril i aigua acidulada amb àcid acètic (pH 2,65), s'ha considerat el mètode de Burtscher et al. (1982) com el més adequat per a la separació dels patrons seleccionats. Aquest mètode requereix ajustar acuradament el pH entre 1,9 i 2,0, per mantenir els fenols protonats. A pH majors es dona un equilibri entre l'àcid lliure i la base conjugada i per tant els temps de retenció obtinguts no són constants. D'altra banda, la baixa molaritat de la solució tampó permet emprar alts percentatges d'acetonitril sense que precipiti el KH_2PO_4 , fet que afavoreix l'elució dels compostos menys polars. La temperatura també ha resultat ser un factor important per a la sensibilitat i la

resolució dels pics cromatogràfics, sent la més adequada 50°C. Altres mètodes freqüentment usats, com la separació amb l'aigua acidificada amb àcid acètic, origina pics amb poca resolució i l'ús de metanol com a solvent orgànic tampoc ha permès una separació adequada.

La majoria dels fenols emprats tenen l'absorció màxima al voltant dels 280 nm, encara que alguns aldehids, com el siringaldehid el tenen en zones properes (308 nm). Per això s'ha seleccionat els 280 nm com a longitud d'ona de treball.

El solvent de la mostra influeix també de forma notable en la qualitat de la separació dels pics cromatogràfics. Així doncs, cal evitar injectar la mostra amb més d'un 50% de metanol donat que aquest afecta a l'equilibri entre la fase mòbil i estacionària, influint en el temps de retenció (l'elució és més ràpida) i per tant els fenols de semblant polaritat apareixen al mateix temps de retenció i no poden ser separats.

Les condicions òptimes d'HPLC finalment emprades estan descrites a l'apartat 3.2.1.4 de materials i mètodes d'aquesta memòria.

A continuació es mostra el cromatograma dels diferents patrons (figura 4.7.1). El nom de cadascun d'ells per ordre d'aparició és: **1** benzetriol, **2** hidroquinona, **3** àc. p-hidroxibenzoic, **4** àc. vainílic, **5** àc. cafeic, **6** àc. siríngic, **7** p-hidroxibenzaldehid, **8** 4-hidroxiacetofenona, **9** vainillina, **10** àc. cumàric, **11** siringaldehid, **12** acetovanillona, **13** fenol, **14** àc. ferúlic, **15** 3,5-dimetoxi-4-hidroxiacetofenona, **16** p-nitrofenol i **17** o-nitrofenol.

L'ordre d'aparició depèn fonamentalment de la polaritat dels compostos i dels efectes estèrics. Així doncs, considerant com a unitat bàsica el fenol, l'increment del nombre de grups hidroxil fa decreixer el temps de retenció, com per exemple el cas del benzetriol (que conté tres grups hidroxil) o la hidroquinona (que en conté dos). En general els grups etil, metil, metoxi, etoxi i nitro, en canvi, retarden els temps de retenció. Per exemple els nitrofenols apareixen els darrers en els cromatogrames presentats i la 4-hidroxiacetofenona s'elueix abans que la 3-5 dimetoxi-4-hidroxiacetofenona.

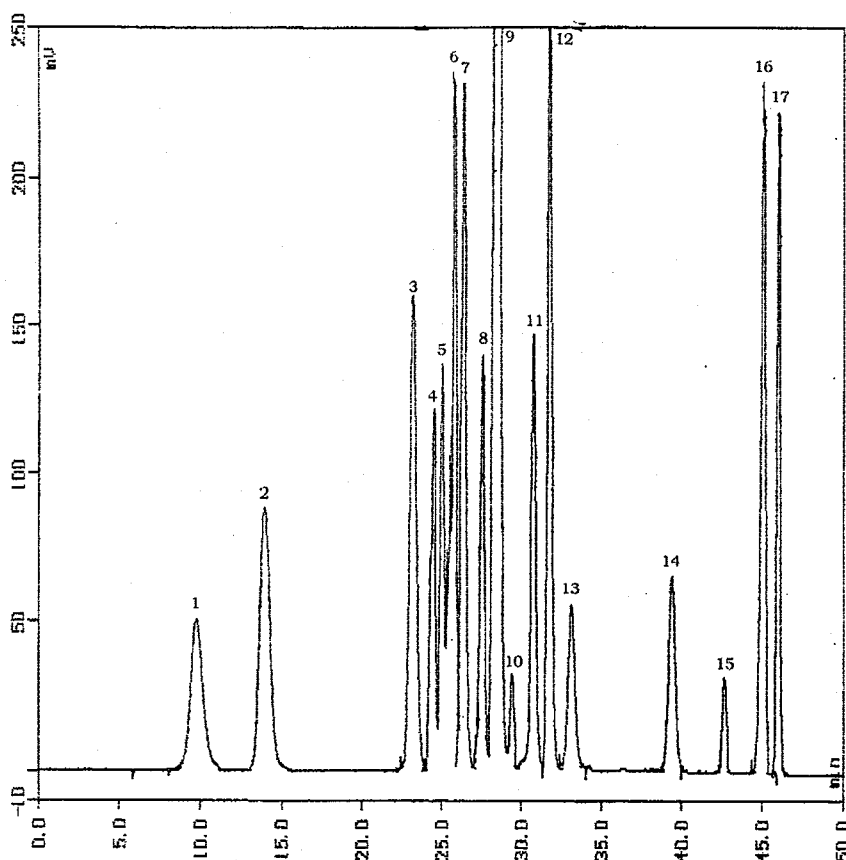


Figura 4.7.1. Cromatograma HPLC-UV dels patrons de fenols seleccionats

Els efectes estèrics també alteren el temps de retenció. Els orto substituïts dificulten l'elució i per tant el p-nitrofenol elueix abans que el o-nitrofenol.

Els aldehyds fenòlics, que contenen com a unitat bàsica el p-hidroxibenzaldehyd elueixen abans que el propi fenol donat que tenen major polaritat.

Els fenols àcids acostumen a eluir més ràpidament que els corresponents fenols i aldehyds, donat que el grup àcid els incrementa la polaritat de la molècula. En són clars exemples l'àcid vainílic i la vainillina i l'àcid siríngic i el siríngaldehyd. En general l'ordre d'elució d'aquests compostos és el següent: àcids benzoics < benzaldehyds < acetofenones < àcids cinàmics. Aquesta seqüència pot veure's alterada amb l'addició d'altres grups funcionals o substituents. Per exemple l'àcid cafeic (derivat de l'àcid cinàmic) s'elueix abans que el p-hidroxibenzaldehyd o la p-hidroxiacetofenona, degut a que conté dos grups hidroxils que aporten molta més polaritat a la molècula. Així doncs

l'ordre d'elució per als substituents quedaria de la següent manera: 3-4 dihidroxi < 4-hidroxi < 4-hidroxi-3-metoxi < 3,5 dimetoxi-4-hidroxi.

Com s'ha comentat anteriorment cal que les condicions cromatogràfiques es controlin exhaustivament perquè és fàcil que diferents compostos de polaritats semblants apareguin en un mateix temps de retenció. Concretament la vainillina i l'àcid cumàric tendeixen a formar un únic pic. Per a separar-los convé treballar a un flux inferior ($0,6 \text{ ml min}^{-1}$) i llavors, si la mescla a separar és molt complexa s'observa que d'altres substàncies apareixen en el mateix temps de retenció.

En relació als cromatogrames de les mostres de sòl i oliassa, a la figura 4.7.2 es representa el cromatograma del sòl **T** (no contaminat amb oliassa) extractat amb aigua (figura 4.7.2) pot apreciar-se com a la zona d'aparició dels patrons de fenols no hi apareix cap pic o senyal. Per tant, o bé no hi ha fenols o estan en concentracions inferiors al límit de detecció de la tècnica, estimat en $0,5 \pm 0,2 \text{ mg L}^{-1}$ dependent del tipus de fenol.

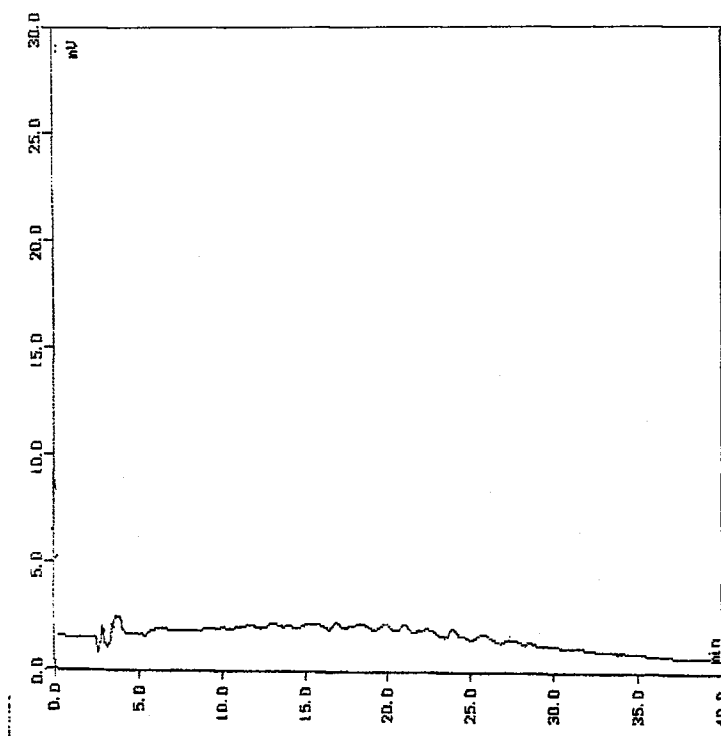


Figura 4.7.2. Cromatograma HPLC-UV de l'extracte aquós del sòl control **T**.

En canvi, en el cromatograma de l'oliassa **OT** (figura 4.7.3) apareixen nombrosos pics (uns 12) i molts d'ells estan a la zona on apareixen els patrons de fenols seleccionats. Tenint en compte que l'oliassa és un residu on hi poden haver infinitat de compostos d'aquesta naturalesa, es fa difícil únicament amb el temps de retenció precisar si es tracta o no d'un dels patrons seleccionats. Sobretot s'ha de considerar que és una família de composts molt gran i amb propietats semblants. Entre els compostos que probablement hi són presents estan l'àcid vainílic i l'àcid cumàric (aquest darrer a més pot confondre's amb la vainillina), això ha pogut comprovar-se mitjançant l'addició a la mostra d'un patró intern.

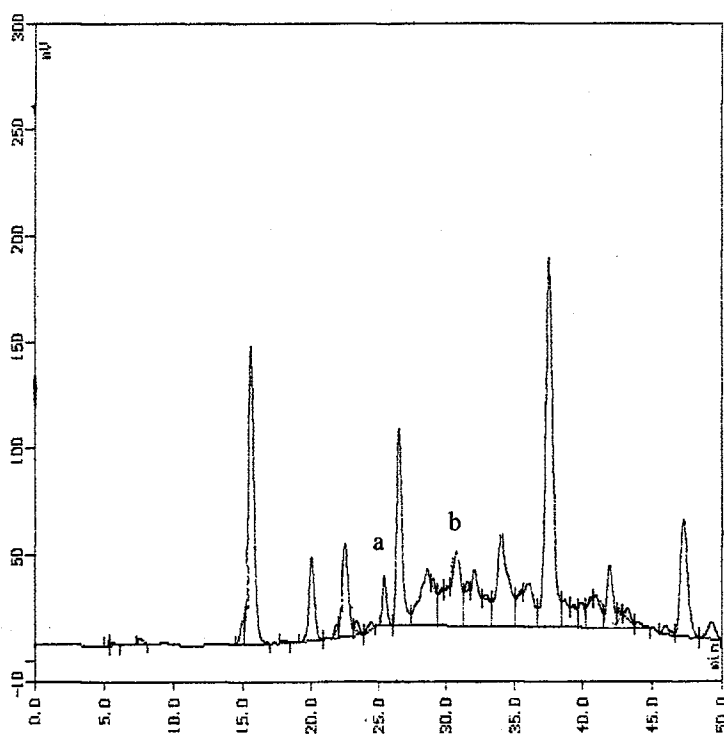


Figura 4.7.3. Cromatograma HPLC-UV de l'oliassa OT. a: àcid vainílic. b: àcid cumàric.

Els sòl recentment contaminat (**Tcont**), en ser extractat amb aigua, presenta en el corresponent cromatograma (figura 4.7.4) nombrosos pics entre els minuts 15 i 45 sobresortint d'una zona on la línia base és convexa. Si es compara aquest cromatograma amb el de l'oliassa s'observa que la majoria de pics coincideixen (en total uns 8-10). En aquesta mostra també s'ha detectat, per l'addició de patró intern, la presència dels àcids vainílic i cumàric.

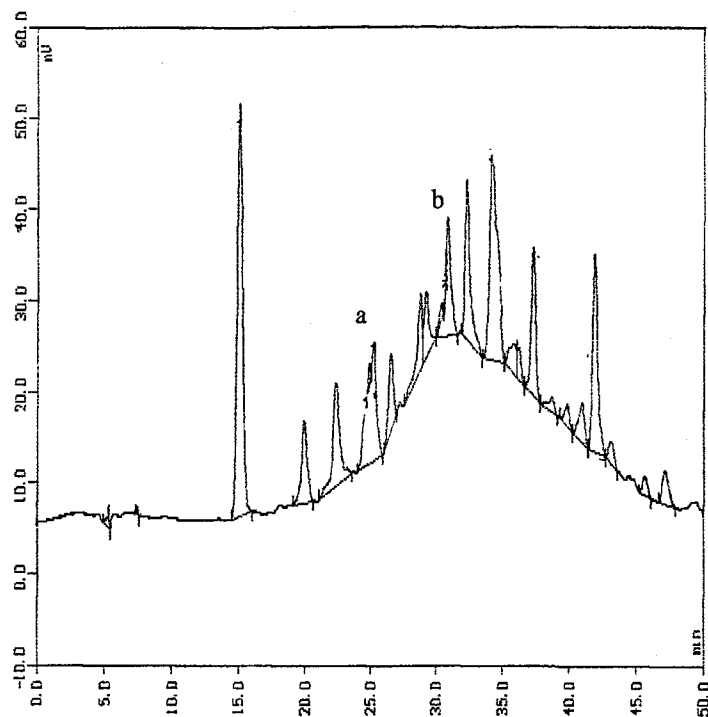


Figura 4.7.4. Cromatograma de l'extracte aquós del sòl contaminat d'oliassa al laboratori **Tcont**. a: àcid vainílic. b: àcid cumàric.

El cromatograma de la mostra de sòl contaminat amb oliassa (**B2**) procedent de l'abocador (figura 4.7.5) presenta un lleuger senyal a la zona on apareixen els patrons. El cromatograma en aquesta zona presenta un forma convexa, on els pics sobresurten molt lleugerament de la línia base. El senyal dels pics és força petit (d'uns 5 mV), la qual cosa indica que aquests compostos estan en concentracions molt baixes. Mitjançant l'addició de patró intern no s'ha detectat cap dels compostos seleccionats com a patró.

La presència d'una línia base convexa pot ser indicatiu de l'existència de diversos compostos que no es separen prou bé o d'impureses.

El fet que en el cromatograma de la mostra de l'abocador (**B2**) apareguin pics de molt baixa intensitat i, en canvi, pel mètode colorimètric de Folin Ciocalteu la presència compostos fenòlics sigui considerablement gran, indica que: o bé el mètode de Folin Ciocalteu sobrevalora molt els compostos fenòlics, fet poc probable ja que el mètode està molt contrastat, o és que els fenols trobats tenen una estructura molecular prou diferent a l'esperada i amb el mètode cromatogràfic seleccionat no poden ser adequadament detectats.

Aquesta segona hipòtesi és amb la que s'ha seguit treballant, ja que com ja s'ha comentat a la introducció, part de la càrrega fenòlica de l'oliassa està en forma de fenols lliures (àcid vainílic, vainillina, etc.), però també se n'han detectat una bona part de força polimeritzats (Sayadi et al., 2000).

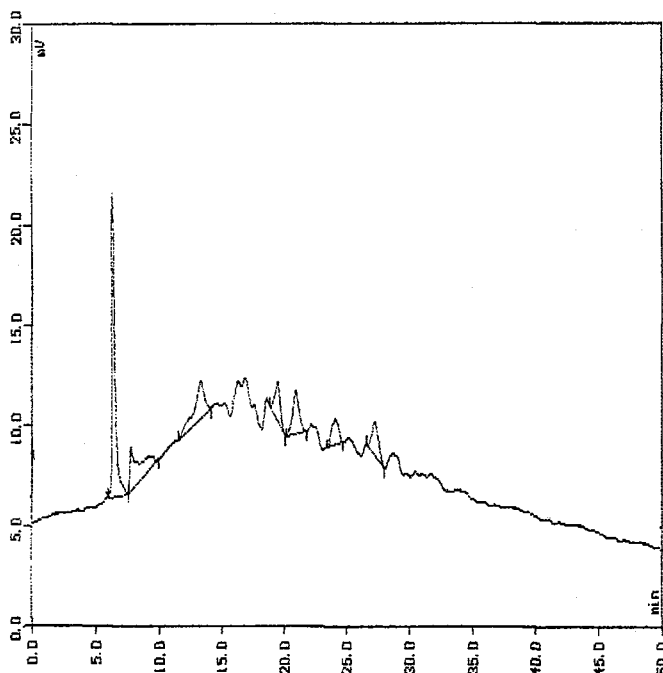


Figura 4.7.5. Cromatograma HPLC-UV de l'extracte aquós de la mostra de sòl B2 de l'abocador de Santa Bàrbara.

Si els fenols solubles que conté la mostra B2 estiguessin polimeritzats, el més probable és que pel mètode de Folin Ciocalteau sí que es detectessin, mentre que pel mètode cromatogràfic escollit no seria possible fer-ho. Tenint en compte que la mostra de sòl B2 està contaminada amb oliassa des de fa anys i sabent que han pogut patir reaccions de condensació i biotransformacions del sòl (mineralització i humificació), el més probable és que part dels fenols aportats inicialment per l'oliassa com a lliures a hores d'ara es trobin polimeritzats.

Un altre fet que pot indicar que es tracta de substàncies altament polimeritzades, és que al injectar els extractes aquosos sense purificar directament al cromatògraf, s'ha observat que a l'inici del cromatograma apareix un pic intens en les mostres (figura 4.7.6), que donen positiu a l'anàlisi colorimètrica de Folin Ciocalteau. Aquest pic, detectable a la λ de 280

nm, surt al inici del cromatograma i això indica que conté substàncies molt polars i per tant son poc retingudes a la columna C18. Quan aquests extractes aquosos es concentren i es purifiquen amb un cartutx d'extracció en fase sòlida "tc18" (que conté el mateix reblliment que les columnes cromatogràfiques C18), lògicament no queden retinguts i per tant no es concentren i no són detectables al cromatògraf.

Per tant amb aquests assajos es pot afirmar que els compostos fenòlics extractats amb aigua presenten bàsicament les següents característiques:

- Són compostos polimeritzats.
- Són molt solubles i polars
- Són detectables a λ de 280 nm.
- Reaccionen amb el reactiu de Folin Ciocalteau.

Efectivament, fins i tot els compostos fenòlics polimèrics acostumen a ser solubles i polars (donat que contenen elevat nombre d'hidroxils fenòlics), acostumen a ser detectables a λ de 280 nm (Fukuzumi, 1986) i s'ha pogut comprovar que reaccionen amb el reactiu de Folin Ciocalteau. Un exemple d'aquest tipus de compost pot ser l'àcid tànnic. Està format per monòmers d'àcid gàllic, amb un pes molecular aproximat de 1.700 u.m.a., té una solubilitat de 2.857 g L⁻¹ i reacciona amb el reactiu de Folin Ciocalteau. Quan es analitza per HPLC-UV no es detecta a la zona dels fenols simples i en canvi apareix un gran pic a l'inici del cromatograma (figura 4.7.7).

Per a poder identificar els possibles fenols polimeritzats una opció podria ser buscar mètodes qualitius que permetin l'anàlisi més o menys directa d'aquest tipus de compostos, com per exemple aplicar algun mètode d'anàlisi per tanins. Aquesta opció seria la ideal si no fos perquè seria molt difícil, o bé impossible trobar patrons que coincidissin amb els compostos presents a les mostres de sòls. S'ha de tenir en compte que l'oliassa és un producte d'origen vegetal, fet que indica que el tipus de substàncies que conté poden ser molt variables i heterogènies i a més en entrar en contacte amb el sòl poden haver estat modificades per la multitud de processos que s'esdevenen en aquesta matriu.

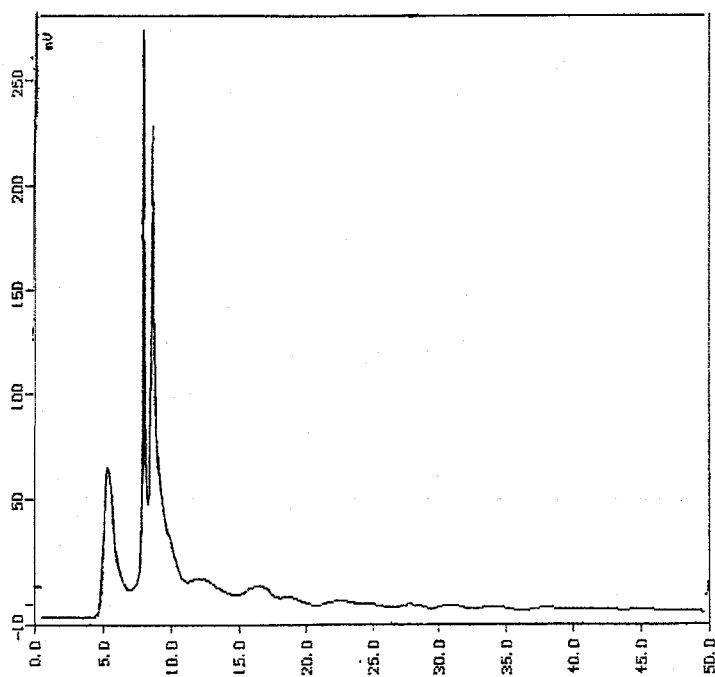


Figura 4.7.6. Cromatograma HPLC-UV de la mostra B2 sense purificar.

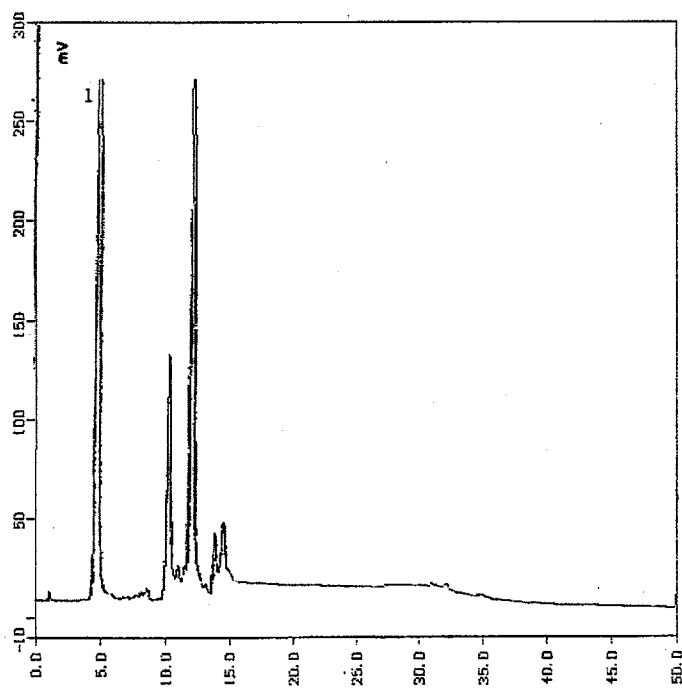


Figura 4.7.7. Cromatograma HPLC-UV de l'àcid tànnic, model de compost fenòlic polimeritzat. 1. àcid tànnic.

L'altra opció, és intentar simplificar la identificació dels fenols fragmentant aquestes grans molècules en molècules més simples, i per tant més fàcilment identificables. L'avantatge d'aquest mètode es que si s'aconsegueix fragmentar la molècula complexa en unitats més senzilles és més probable trobar patrons amb qui comparar. Els principals inconvenients d'aquest mètode són, en primer lloc, trobar la manera de fragmentar els polímers per a què les unitats resultants estiguin el menys alterades possible i que alhora siguin identificables amb els mètodes disponibles. Un altre gran inconvenient pot derivar de la generació de noves molècules en el procés de fragmentat que no tinguin gaire a veure amb la molècula original. Finalment, si s'arriba a aconseguir fragmentar adequadament i identificar els fragments, encara cal interpretar com estaven aquestes molècules enllaçades en la molècula original.

S'ha cregut més convenient aplicar la segona opció, donat que les probabilitats d'èxit són majors si s'aconsegueix treballar amb molècules senzilles. A més a més, hi ha precedents d'estudis en què s'ha aconseguit despolimeritzar el pigment de l'oliassa obtenint molècules de molt més fàcil identificació (Pérez, 1988).

Tenint en compte que bona part dels fenols identificats a l'oliassa són els anomenats compostos derivats de la degradació de lignines, s'han cercat mètodes que permetin la fragmentació d'aquestes. Kögel i Botcher (1985) per a l'anàlisi de mostres de sòl proposà efectuar una oxidació lleu amb hidròxid sòdic, òxid de coure i sal de Mohr (sulfat ferrós amònic) per a alliberar els fenols derivats de la degradació de la lignina adsorbits dèbilment al sòl. Aquest tipus d'oxidació segons Stevenson (1982) no arriba a trencar els enllaços carboni-carboni.

El que s'ha fet és sotmetre els extractes aquosos de sòl a l'oxidació lleu tal i com descriu Kögel i Botcher (1985), però aplicant-ho a líquids (en aquest cas a 200 ml d'extracte de sòl) en comptes de sòlids i també s'han fet alguns canvis en l'atac de l'extracte aquós de la mostra **B2**. Els diferents atacs s'han efectuat amb els següents reactius:

- Hidròxid sòdic 2N, òxid de coure (2,5 g) i sal de Mohr (250 mg).

- Hidròxid sòdic 2N, òxid de coure (2,5 g). Per fer més agressiva l'oxidació.
- Hidròxid sòdic 2N. S'obvia l'òxid de coure per a despolimeritzar únicament mitjançant hidròlisi bàsica.
- Àcid sulfúric 2N. Despolimerització per hidròlisi àcida.

Malgrat utilitzar diferents atacs s'ha seguit fidelment la tècnica original, adaptant-la a líquids (apartat 3.2.1.4).

El cromatograma de l'extracte de sòl **T** atacat segons el mètode de Kögel i Botcher (1985) presenta alguns pics de molt baixa intensitat (l'escala del cromatograma està molt ampliada) que són pràcticament no identificables en les condicions assajades (figura 4.7.8). Pot tractar-se de matèria orgànica humificada soluble que s'ha fragmentat mínimament.

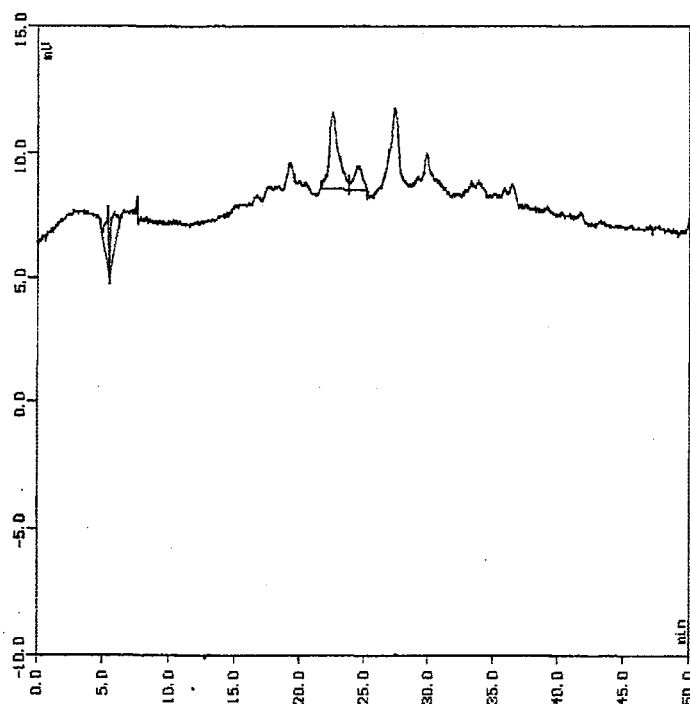


Figura 4.7.8. Cromatograma HPLC-UV del Sòl control **T** extractat amb aigua i posteriorment atacat pel mètode de Kögel i Botcher (1985).

Pel que fa a l'oliassa (**OT**) en ser atacada el cromatograma canvia força (figura 4.7.9). Apareix una línia base convexa, algun pic desapareix en relació al cromatograma de la mostra sense atac (figura 4.7.6), com és el cas del primer

(temps retenció 15') i el més alt minva d'intensitat (temps retenció 37'). Per altra banda en general a la zona compresa entre temps de retenció 17 i 35 minuts hi ha un fort augment tant del nombre de pics com de la intensitat, sent destacable el pic central.

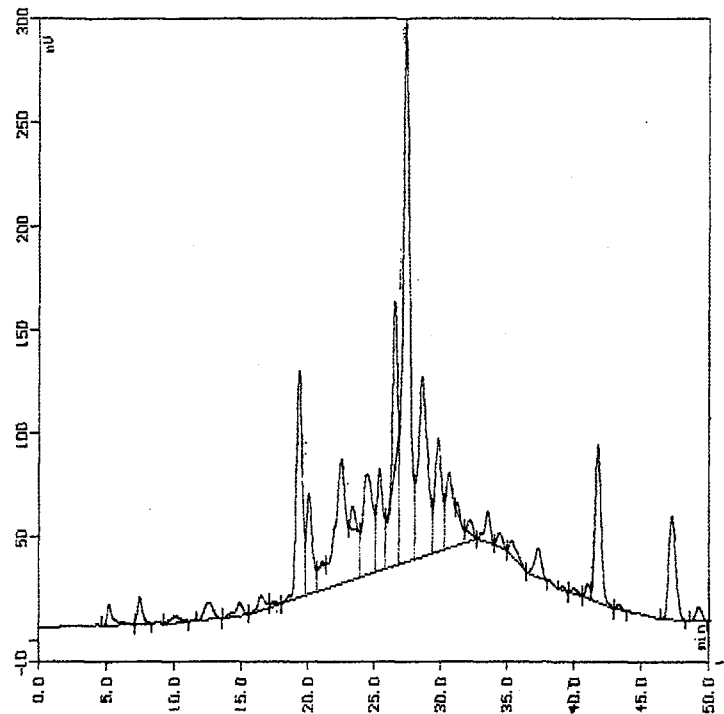


Figura 4.7.9. Cromatograma HPLC-UV de l'oliassa **OT** atacada pel mètode de Kögel i Botcher (1985).

L'extracte aquós atacat del sòl **Tcont** presenta un cromatograma (figura 4.7.10) molt semblant a l'oliassa atacada. La línia base també adopta una forma bastant més convexa que la mostra sense atacar. En relació al cromatograma de la mostra sense atacar (figura 4.1.4) desapareix el primer pic (temps de retenció 15') i a la zona compresa entre els 17 i 35 minuts hi ha també un augment tant del nombre com de la intensitat dels pics. Especialment el pic central.

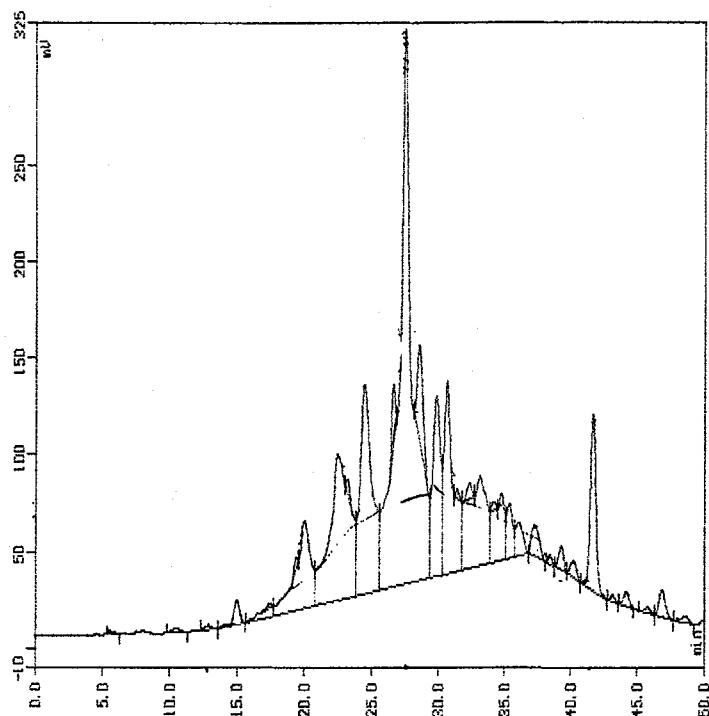


Figura 4.7.10. Cromatograma HPLC-UV de l'extracte aquós de la mostra **Tcont** atacat pel mètode de Kögel i Botcher (1985).

La mostra on indiscutiblement s'observen més pics després de l'atac és la **B2** de l'abocador de Santa Bàrbara (figura 4.7.11). Apareix també una línia base convexa, però hi ha força pics amb prou entitat per a ser distingits. En general entre el temps de retenció 17 i 35 minuts hi ha un fort augment del nombre i intensitat dels pics.

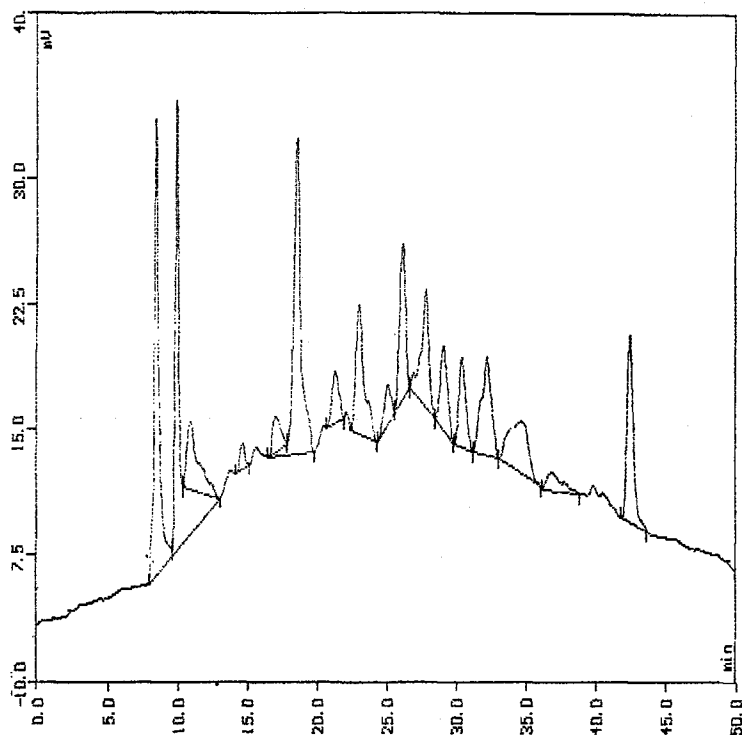


Figura 4.7.11. Cromatograma HPLC-UV de l'extracte aquós de la mostra **B2** atacat pel mètode Kögel i Botcher, (1985)

Els extractes de la mostra de sòl **B2** atacat i sense atacar s'han sotmès a l'anàlisi colorimètrica de Folin Ciocalteu i l'atacat ha donat un contingut de fenols tres vegades més gran que el no atacat, la qual cosa indica que molt probablement l'atac hagi afavorit la fragmentació d'alguns fenols polimeritzats amb la qual cosa s'alliberen fenols de menor pes molecular globalment amb major poder reductor.

L'atac en diferents condicions només s'ha efectuat amb la mostra **B2** perquè és la mostra que ha donat millors resultats amb l'atac pel mètode original. Així doncs, quan l'atac de l'extracte aquós de la mostra B2 s'efectua amb hidròxid sòdic únicament (figura 4.7.12) també s'incrementa els nombre de pics a la zona del cromatograma compresa entre els minuts 15 i 40, però la resolució dels pics és pitjor. En atacar la mateixa mostra amb àcid sulfúric també apareixen nombrosos pics a la zona on apareixen els patrons (figura 4.7.13), però també de menor intensitat i resolució que amb l'atac en condicions oxidants (Kögel i Botcher, 1985). La hidròlisi bàsica o àcida sense oxidació controlada, sembla donar, doncs, cromatogrames menys ben resoltos.

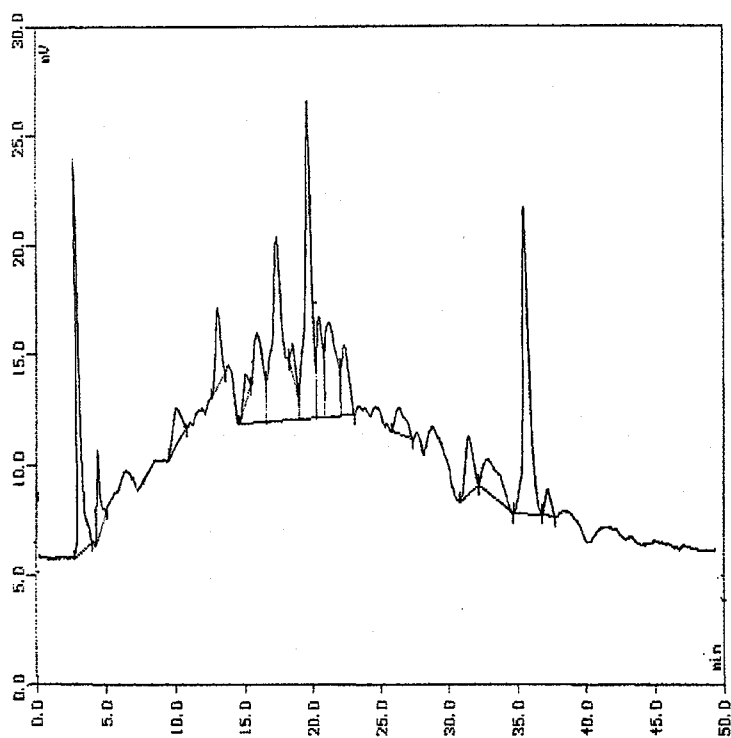


Figura 4.7.12. Cromatograma HPLC-UV de l'extracte aquós de la mostra **B2** atacat amb hidròxid sòdic 2N.

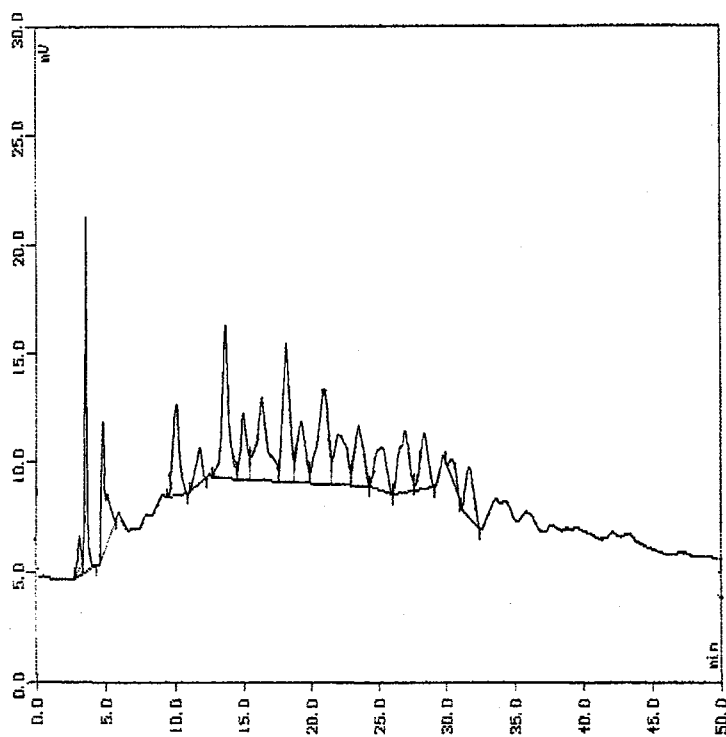


Figura 4.7.13. Cromatograma HPLC-UV de l'extracte aquós de la mostra **B2** atacat amb àcid sulfúric 2N.

En general sembla que l'oliassa, el sòl **Tcont** i la mostra **B2** atacades amb el mètode de Kögel i Botcher (1985) presenten un mateix pic al minut 27 que s'incrementa en afegir vainillina com a patró intern, el que prova que s'han generat compostos fenòlics semblants als patrons. A més a més coincideix amb el pic central, que és un dels de més intensitat. També cal destacar un pic d'intensitat notable cap al final del cromatograma (temps de retenció 42').

S'ha de remarcar que la forma de la línia base i la complexitat de les substàncies fenòliques provoca un desplaçament del temps de retenció dels pics respecte als patrons, dificultant molt més la seva identificació. Per aquest motiu es decidí, analitzar aquestes mateixes mostres mitjançant un equip d'HPLC acoblat a un detector de masses per poder identificar els compostos en base als pesos moleculars.

4.7.2. Cromatografia líquida acoblada a un detector de masses (HPLC-MS)

En primer lloc es passaren alguns compostos fenòlics patró per conèixer els temps de retenció de cada un d'ells i alhora l'espectre de masses que generaven.

A la taula 4.7.2 i figura 4.1.14 es mostren els fragments principals de l'espectre de masses dels diferents patrons usats.

S'ha observat que en ser injectats a l'HPLC-APCI-MS i aplicar un voltatge d'ionització en el con de mostreig de - 25V, són fàcilment ionitzats (forma aniònica). Es a dir, el detector de masses rep un senyal del pes molecular real del fenol menys una unitat de massa que correspon al protó alliberat.

Tot i que l'APCI (ionització a pressió atmosfèrica) dóna lloc a una ionització tova que gairebé no produeix fragmentació, bona part dels compostos fenòlics usats com a patró mostren el fragment corresponent a la ionització del grup fenòlic i a més apareixen fragments secundaris. Aquests fragments, detectats pel detector de masses, corresponen a la molècula original sense algun o alguns dels grups funcionals o dels substituents. De manera que en

l'espectrograma d'un compost poden aparèixer diferents pics (normalment entre dos i tres) que corresponen a les diferents maneres d'ionitzar-se o ionitzacions que ha sofert el compost. Generalment a voltatges constants el percentatge de molècules ionitzades d'una forma o altra es manté constant.

Aquests pics de pes molecular diferent al del compost original poden ser característics d'un únic compost, o bé, d'una família de substàncies que contenen un mateix grup estructural. Per exemple, els àcids fenòlics acostumen a ionitzar-se de dues maneres alhora: un percentatge de molècules ho fa perdent el protó fenòlic, mentre que les demés ho fan perdent el grup àcid. Per tant, en l'espectre de masses és detecten dos pics, l'un de massa molecular original menys un protó (M-H)⁻ i l'altre amb la massa original menys el grup àcid (M-COOH)⁻. Entre els àcids fenòlics que han mostrat aquest comportament tenim als àcids p-hidroxibenzoic, cafeic i cumàric.

Taula 4.7.2. Temps de retenció, pes molecular real i fragments de l'espectre de masses dels diferents compostos fenòlics usats com a patrons.

Compost	tr	m real	m/z	Possible assignació
Benzetriol	14,72	126	125	(M-H) ⁻
Àc. p-hidroxibenzoic	15,51	138	137 93	(M-H) ⁻ (M-COOH) ⁻
Àc. vainillic	19,09	168	167	(M-H) ⁻
Àc. cafeic	19,22	180	179 135	(M-H) ⁻ (M-COOH) ⁻
Àc. siríngic	19,59	198	197 167	(M-H) ⁻ (M-OCH ₃) ⁻
p-hidroxibenzaldehid	21,51	122	121	(M-H) ⁻
p-hidroxiacetofenona	22,39	136	135	(M-H) ⁻
Vainillina	22,61	152	151 137	(M-H) ⁻ (M-CH ₃) ⁻
Àc. cumàric	22,65	164	163 119	(M-H) ⁻ (M-COOH) ⁻
Siringaldehid	23,09	182	181	(M-H) ⁻
Acetovanillona	23,41	166	165 151	(M-H) ⁻ (M-CH ₃) ⁻
Àc. ferúlic	26,76	194	193	(M-H) ⁻
3,5 dimetoxi-4-hidroxiacetofenona	27,16	196	195 181 165	(M-H) ⁻ (M-CH ₃) ⁻ (M-CH ₃ -OCH ₃) ⁻
p-nitrofenol	28,99	139	138	(M-H) ⁻

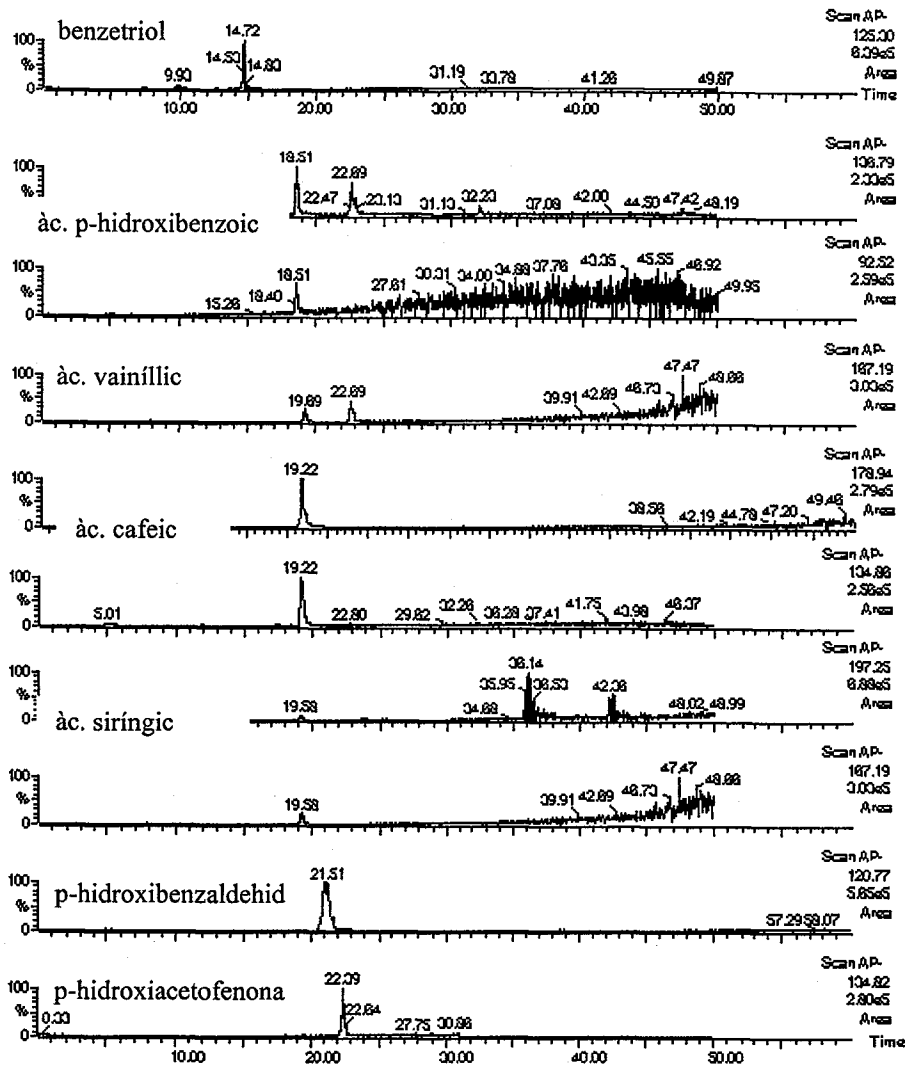


Figura 4.7.14. Fragmentogrames dels diferents patrons emprats de dalt a baix tenim: benzetriol, àcid p-hidroxibenzoic, àcid vainílic, àcid cafeic, àcid siríngic, p-hidroxibenzaldehid, i la p-hidroxiafetofenona.

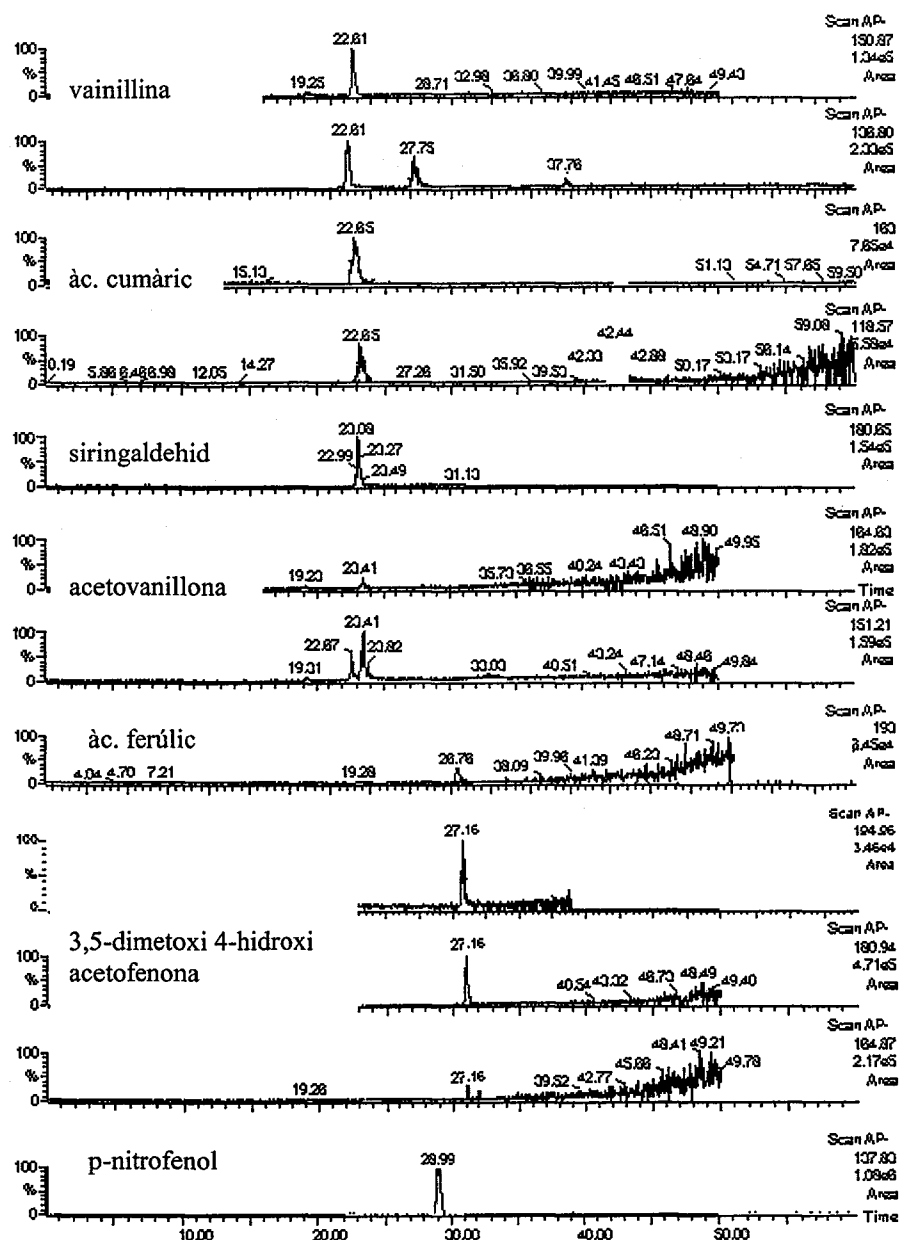


Figura 4.7.14. Fragmentogrames dels diferents patrons emprats de dalt a baix tenim: vainillina, àcid cumàric, siringaldehid, acetovanillona, àcid ferúlic, 3,5 dimetoxi 4-hidroxiacetofenona i p-nitrofenol.

Altres substituents que també són susceptibles de ser despresos de la molècula original durant la fase d'ionització són els grups metoxi (presentes en l'àcid siringic i la 3,5-dimetoxi-4-hidroxiacetofenona) i grups metil no enllaçats directament amb l'anell aromàtic (com en l'àcid siringic i la 3,5-dimetoxi-4-hidroxiacetofenona).

Quant a les mostres de sòls i oliasses estudiades pot observar-se com en l'espectrograma referent a la quantitat total d'ions (TIC) de l'extracte aquós del sòl control T (figura 4.7.15) a la zona d'aparició dels patrons (entre els minuts 15' i 30') gairebé no destaca cap pic i el soroll de fons és molt intens, fet que indica que molt probablement no hi ha compostos fenòlics similars als patrons. En l'anàlisi detallada del cromatograma s'observen només 4 pics i cap d'ells s'ha identificat (taula 4.7.3). Un d'ells, de pes molecular 182, apareix a totes les mostres de sòls. Donat que probablement la massa real és senar (183) implica que no pot estar formada únicament per C, O i H, sinó que hauria de tenir algun altre element com ara N. A partir del minut 35 els pics que surten a tots els cromatogrames són restes de la fase de rentat de la columna i per tant no tenen major transcendència.

Mostra I,

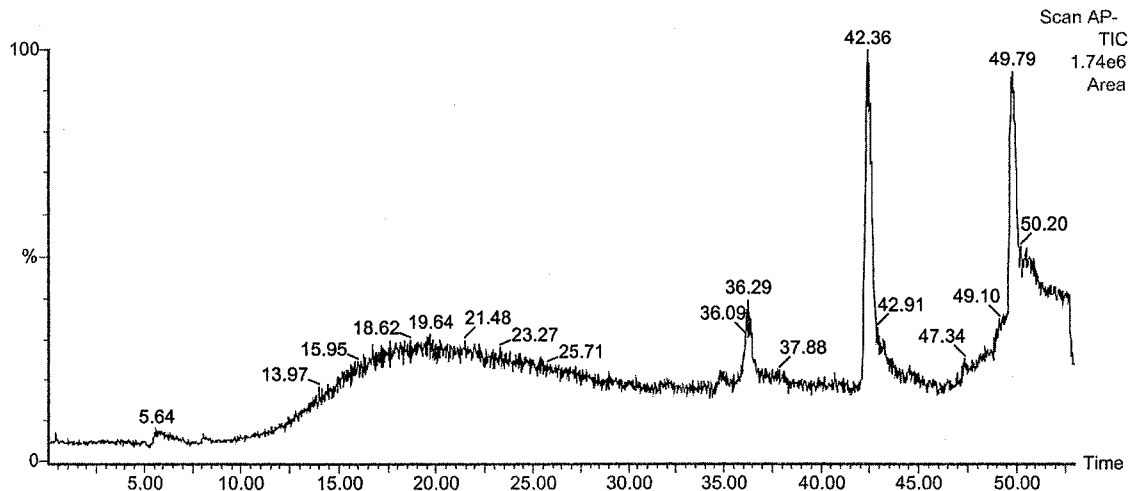


Figura 4.7.15. cromatograma HPLC-MS (TIC) corresponent a un extracte aquós de la mostra de sòl **T** control.

Quan aquest mateix extracte és atacat (Kögel i Botcher, 1985) el nivell de fons del TIC decreix en relació al senyal dels pics de l'espectrograma (no en valor absolut, veure escala del TIC a la figura 4.7.16). En relació als pics trobats, apareix algun pic més que sense atacar, però tampoc coincideix amb cap dels patrons seleccionats (taula 4.7.3).

Taula 4.7.3. Temps de retenció i càrrega/massa (m/z) dels diferents pics detectats en els extractes aquosos del sòl **T** atacats i sense atacar. També s'indica el pes molecular probable i si s'ha identificat o no (NI).

Mostra	tr	m/z	M real probable	Possible compost
T	15,1	182	183	NI
	18,8	166	167	NI
	24,7	187	188	NI
	25,3	212	213	NI
		198		
T atacat	15,1	182	183	NI
	18,8	166	167	NI
	21,7	195	196	NI
	25,8	209	210	NI
	27,6	179	180	No és àc. cafeic.
	28,1	137	138	NI

Mostra K

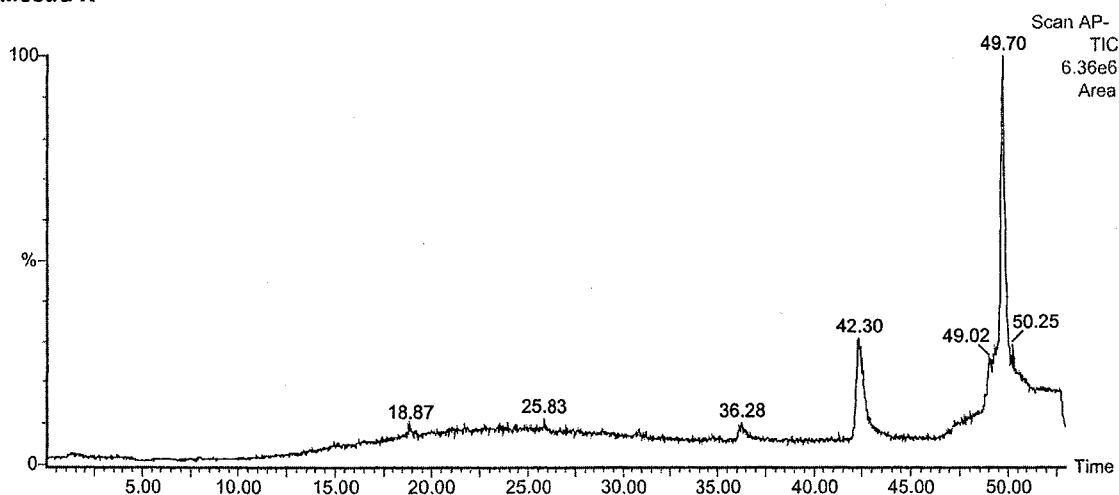
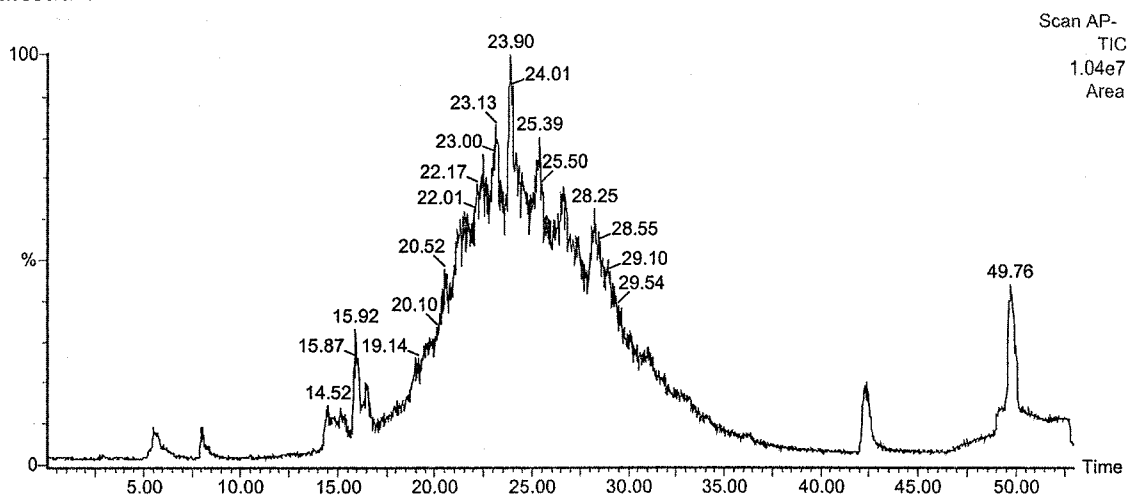


Figura 4.7.16. Cromatograma HPLC-MS (TIC) de l'extracte aquós de la mostra T atacat pel mètode de Kögel i Botcher, (1985).

En relació a l'espectrograma de l'oliassa sense atacar (figura 4.7.17 i taula 4.7.4) apareixen nombrosos pics entre els minuts 15 i 30, tot i que estan molt emmascarats pel soroll de fons present. Dels patrons seleccionats apareixen l'àcid siríngic, la vainillina i la 3,5-dimetoxi-4-hidroxiacetofenona. Molts altres pics no identificats presenten masses associades de 45 unitats màssiques menys, produïdes probablement per la pèrdua de grups carboxílics. Entre ells en trobem alguns de pes molecular al voltant de 200 i 300 u.m.a que podrien estar relacionats amb els àcids grassos lliures procedents de restes d'oli.

Mostra G

Figura 4.7.17. Cromatograma HPLC-MS (TIC) de l'oliassa **OT**.

L'oliassa atacada (figura 4.7.18 i taula 4.7.4) presenta un senyal de TIC lleugerament superior a l'oliassa sense atacar, però en canvi els pics estan força més emmascarats pel soroll de fons. També es detecta la presència de vainillina, àcid siríngic i nombrosos pesos moleculars associats a la pèrdua de grups àcids.

Taula 4.7.4. Temps de retenció i càrrega/massa dels diferents pics trobats a l'oliassa atacada (Kögel i Botcher, 1985) i sense atacar. També s'indica el pes molecular probable i si s'ha identificat el compost o no (NI).

Mostra	tr	m/z	M real probable	Fragments	Possible compost
OT	8,0	191,133, 114	192		NI
	14,5	264, 164, 153, 135,123	265		NI
	15,2	228, 166	229		NI
	15,9	199, 155	200	(M-COOH) ⁻	Pot tractar-se d'un àcid.
	19,4	197,153	198	(M-COOH) ⁻	Àc. siringic.
	20,5	183,165, 139	184		NI
	21,5	456	457		NI
	22,2	243			NI
	22,5	151,136	152	(M-CH ₃) ⁻	Vainillina
	23,7	195, 151	196	M-COOH) ⁻	3,5 dimetoxi 4OH acetofenona
	24,7	186	187		NI
	25,2	301, 257,201	302	M-COOH) ⁻	Poden ser àcids grassos.
	28,2	285, 137	286		Poden ser àcids grassos.
	31,2	269	270		Pot ser algun flavonoide
OT atacada	8,0	191,133, 114	192		NI
	15,2	228, 166	229		NI
	21,2	227,195, 151	228	(M-COOH) ⁻	Pot tractar-se d'un àcid.
	22,0	348	349		
	22,5	151	152		4 OH acetofenona
	22,8	303			
	23,1	197, 153	198	(M-COOH) ⁻	Pot ser un àcid fenòlic tipu àc.vanillilmandèlic
	23,8	195, 151, 137	196	(M-COOH) ⁻ (M-COOH) ⁻ CH ₃) ⁻	És una molècula que al perdre el carboxil dona lloc a vainillina.
	24,6	336			
	24,9	283,239, 165	284	(M-COOH) ⁻	Molècula amb grup carboxílic.
	28,1	137	138		NI
	28,5	351, 333	352		NI
	29,0	301, 269	302		NI
	29,7	332,163	333		NI
	30,0	301,150	302		NI
31,0	286,120	287		NI	
31,1	316,150	317		NI	

Mostra H

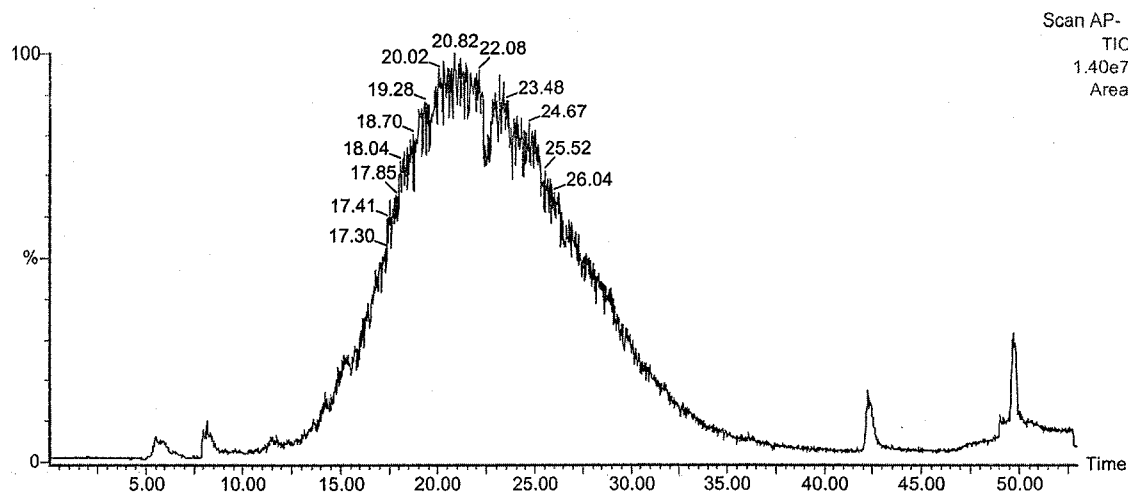


Figura 4.7.18. Cromatograma HPLC-MS (TIC) de l'oliassa **OT** atacada pel mètode Kögel i Botcher, (1985).

En relació a l'extracte aquós de la mostra **B2**, el TIC mostra una forma convexa entre els minuts 10 i 30 on el soroll de fons emmascara els possibles pics presents (figura 4.7.19). En estudiar el cromatograma detalladament (taula 4.7.5) s'observen nombrosos pics (uns 15), dels quals alguns també mostren pics associats a la pèrdua de grups àcids. Apareixen algunes substàncies amb pes molecular al voltant de 200 i 300 u.m.a. (taula 4.7.5).

Mostra C

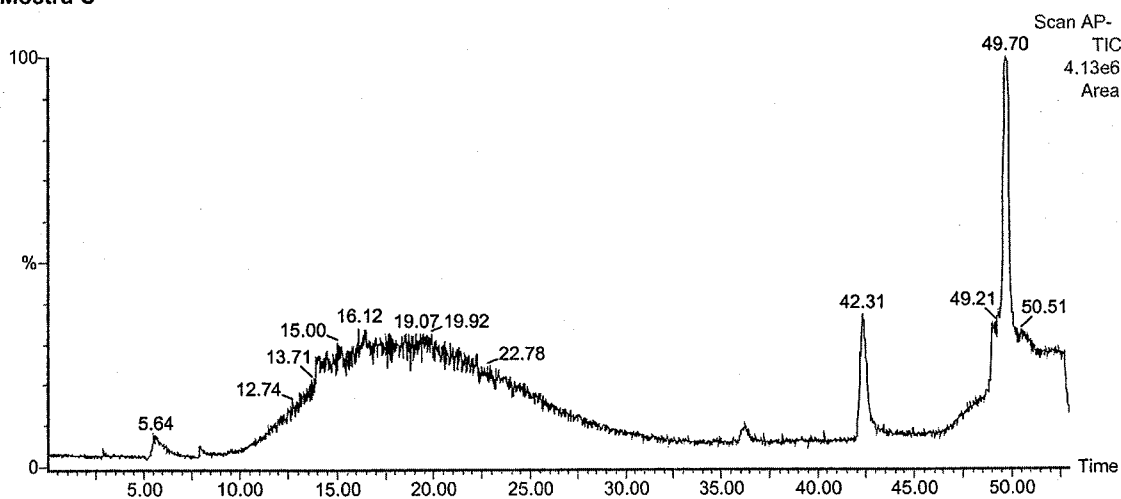


Figura 4.7.19. Cromatograma HPLC-MS (TIC) de l'extracte aquós de la mostra **B2**.

Quan aquest mateix extracte (**B2**) és atacat (figura 4.7.20 i taula 4.7.6), el senyal del TIC augmenta considerablement i nombrosos pics sobresurten de la línia de fons, que també presenta una forma convexa. De l'anàlisi detallada de

l'espectrograma s'observen 7 pics que poden correspondre a compostos amb grups carboxílics. També s'observen pics secundaris fruit de la pèrdua de grups hidroxil, aldehyd i metil. Hi ha nombrosos pics també de pes molecular entre 200 i 300 que contenen pics secundaris que poden estar formats per unitats de fenols monomèrics com ara l'àcid cumàric, siringaldehyd, p-hidroxibenzaldehyd, àcid siringic, fenol i altres. La qual cosa indica que alguns dels fenols solubles de la mostra després de l'atac encara es troben parcialment polimeritzats.

Apareix la p-hidroxiacetofenona com a únic pic que coincideix amb el temps de retenció del patró.

Mostra J, 100 µl (CV -25V)

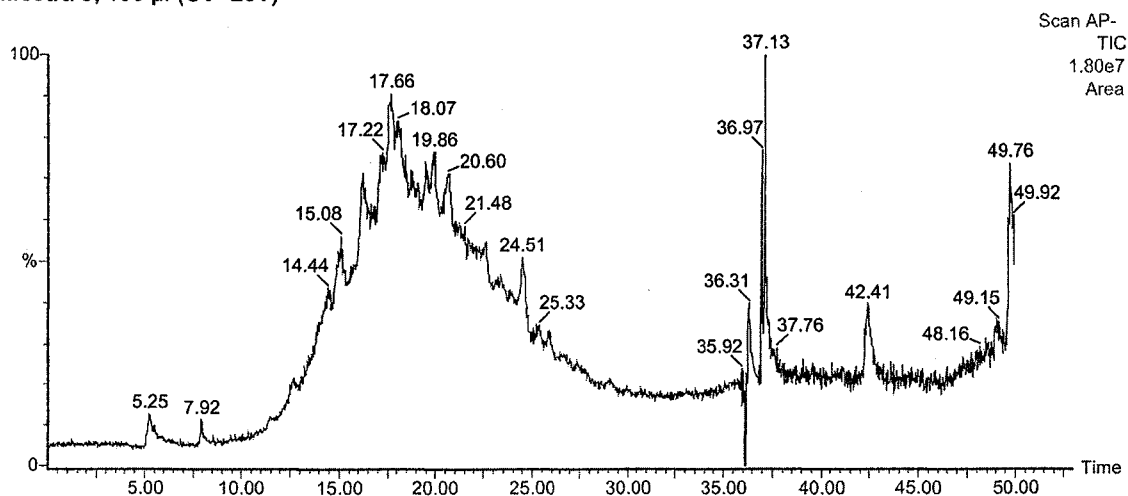


Figura 4.7.20. Cromatograma HPLC-MS (TIC) de l'extracte aquós de la mostra **B2** atacat segons el mètode de Kögel i Botcher (1985).

Alguns dels pics detectats tenen valors de m/z 111, 121, 137, 165, 181, 191, 207, 225, 235, 251, 253, 269 i 295 que segons McIntyne et al. (2002) estan relacionats amb l'estructura dels àcids fúlvics de sòls i torbes quan són identificats per HPLC-MS en ionització negativa. Moltes d'aquestes masses difereixen entre si en 44 unitats i això s'atribueix també a la presència de grups àcids.

També s'han detectat alguns compostos amb dos grups àcids que poden estar relacionats amb els ftalats (plastificants).

Taula 4.7.5. Temps de retenció i càrrega/massa dels diferents pics trobats a l'extracte aquós de la mostra de sòl B2. També s'indica el pes molecular probable i si s'ha identificat el compost o no (NI).

Mostra	tr	m/z	M real probable	Fragments	Possible compost
B2	14,1	193,180, 136	194	(M-H) ⁻ (M-COOH) ⁻	Possiblement es tracta d'un àcid.
	15,1	182	183	(M-H) ⁻	NI
	16,0	164, 120	165	(M-H) ⁻ (M-COOH) ⁻	Possiblement es tracta d'un àcid.
	16,2	257	258	(M-H) ⁻	NI
	16,5	208, 163	209	(M-H) ⁻	NI
	19,5	291, 174	292	(M-H) ⁻	NI
	21,6	246,202	247	(M-H) ⁻	NI
	22,8	302, 141	303	(M-H) ⁻	NI
	23,7	263	264	(M-H) ⁻	NI
	24,9	117	118	(M-H) ⁻	NI
	25,5	318, 198	319	(M-H) ⁻	NI
	27,2	156, 116	157	(M-H) ⁻	NI
	27,4	228	229	(M-H) ⁻	NI
	30,6	183, 167	184	(M-H) ⁻ (M-OH) ⁻	NI
	31,3	169	170	(M-H) ⁻	NI
31,8	182, 166	183	(M-H) ⁻	NI	

Taula 4.7.6. Temps de retenció i càrrega/massa dels diferents pics trobats a l'extracte aquós de la mostra de sòl **B2** atacat segons el mètode de Kögel i Botcher (1985). També s'indica el pes molecular probable i si s'ha identificat el compost o no (NI).

Mostra	tr	m/z	M real probable	Fragments	Possible compost
B2 atacat	14,1	193,148	194	(M-H) ⁻	NI
	15,1	251, 207, 182	252	(M-H) ⁻ (M-COOH) ⁻	Molècula que pot contenir un grup àcid.
	16,2	257, 221, 177	258	(M-H) ⁻ (M-COOH) ⁻	Molècula que pot contenir un grup àcid.
	17,1	209	210	(M-H) ⁻	NI
	17,6	205, 161, 117	206	(M-H) ⁻ (M-COOH) ⁻ (M-2COOH) ⁻	Molècula que pot contenir dos grups àcids.
	17,7	230, 186, 142	231	(M-H) ⁻ (M-COOH) ⁻ (M-2COOH) ⁻	Molècula que pot contenir dos grups àcids.
	18,0	293, 275, 130	294	(M-H) ⁻	NI
	19,5	317, 207, 189, 173, 163, 119,	318	(M-H) ⁻ (M-COOH) ⁻	Les masses 163 i 119 poden tenir relació amb l'àc. cumàric.
	19,8	207, 163, 145, 119	208	(M-H) ⁻ (M-COOH) ⁻ (M-2COOH) ⁻	Molècula que pot contenir dos grups àcids.
	20,4	181, 153, 137, 93	182	(M-H) ⁻ (M-2CH ₃) ⁻ (M-2CH ₃ -OH) ⁻	Massa relacionada amb el siringaldehid (181) i p-hidroxibenzoic (137)
	20,6	165, 121	166/166	(M-H) ⁻ (M-COOH) ⁻	Possible impuresa de ftalat.
	22,0	135	136	(M-H) ⁻	p-hidroxiacetofenona.
	23,2	307, 197, 153	308	(M-H) ⁻ (M-COOH) ⁻	Les masses 197 i 153 poden tenir relació amb l'àc. siríngic
	24,5	165, 137, 121, 93	166	(M-H) ⁻ (M-CHO) ⁻ (M-CHO-OH) ⁻ (M-CHO-OH-2CH ₃) ⁻	Pot ser una molècula tipus dimetil p-hidroxi-benzaldehid
	25,3	247,203	248	(M-H) ⁻ (M-COOH) ⁻	Molècula que pot contenir un grup àcid.
27,4	257, 179, 135	258	(M-H) ⁻ (M-?) ⁻ (M-?-COOH) ⁻	Les masses 179 i 135 poden tenir relació amb l'àc. cafeic.	
29,0	301, 193	302	(M-H) ⁻	La massa 193 pot tenir relació amb l'àc. ferúlic	

Donada la complexitat dels cromatogrames els resultats de **Toli** i **Toli atacat** no es mostren en aquest treball.

Tot aquest trencaclosques sembla molt difícil esbrinar-lo amb el coneixement del temps de retenció i el pes molecular. Ja que es disposen de pocs patrons i a falta d'espectroteques d'HPLC-MS s'ha optat per a intentar identificar aquests compostos amb GS-MS. En aquest cas sí que existeix àmplia col·lecció d'espectrogrames de diferents compostos que a més, a través d'un programa informàtic (Masslab) permeten deduir el grau de semblança amb un pic concret de la mostra.

4.7.3 Cromatografia de gasos acoblada a un detector de masses (CG-MS)

Un dels inconvenients de l'HPLC-MS, com ja s'ha comentat, és la fase mòbil líquida que cal eliminar abans d'entrar al detector de masses perquè ocasiona un soroll de fons que pot interferir amb els pics dels analits si aquests estan en baixes concentracions. La fase mòbil líquida també pot interaccionar amb els analits. La cromatografia gasosa s'acobla molt millor als detectors de masses, ja que no s'ha d'eliminar cap líquid i el gas portador és inert enfront els analits. A més, les columnes capil·lars de gasos són molt més llargues que les d'HPLC amb la qual cosa pot aconseguir-se una millor separació del components d'una mescla complexa com ara les mostres que són objecte d'estudi en aquesta tesi.

Per a l'anàlisi de les mostres s'han utilitzat dues columnes cromatogràfiques:

*Columna apolar Hewlett Packard HP5 amb rebliment de siloxà, de 30 m de llargària, 0,32 mm de diàmetre i un gruix de rebliment de 0,25 μm . Aquest tipus de columna requereix la derivatització de les mostres polars que contenen.

*Columna polar Innowax de 30 m de llargària, 0,25 mm de diàmetre i 0,25 μm de gruix de rebliment farcit de poliglicols apta per a la separació de substàncies polars. La utilització d'aquesta columna permet obviar el pas previ de derivatització per formar compostos apolars, amb la qual cosa la mostra esdevé menys manipulada.

Les condicions cromatogràfiques s'indiquen a l'apartat 3.2.1.4 de mètodes d'aquesta memòria.

En el nostre cas s'han obtingut molt millors resultats amb la darrera ja que els compostos de l'oliassa i els extractats del sòl (amb aigua) són molt hidròfils i per tant es separen millor lògicament amb una columna polar com la Innowax.

La ionització en aquest cas s'ha efectuat per Impacte electrònic (IE) a 70 eV. Aquest voltatge és prou alt com per trencar qualsevol enllaç químic de manera que es genera per a cada molècula que arriba al detector, una sèrie de fragments (de pes molecular inferior) característics d'aquest compost. L'espectre de masses o conjunt de fragments d'una molècula concreta és manté constant (sempre que es mantingui el potencial d'ionització) fins i tot la quantitat relativa de cada fragment, de manera que l'espectre de masses per IE pot considerar-se com l'empremta dactilar d'un compost concret. Els espectres de masses obtinguts s'han comparat amb les espectroteques: Wiley 6, NBS, Nist, Libtx. Per confirmar la presència d'un compost concret en cadascuna de les mostres, s'ha comparat tant amb el temps de retenció del patró com amb l'espectre de masses. En cas de no disposar del patró corresponent, s'ha donat com a vàlida la identificació quan l'espectre de masses coincideix com a mínim en un 90% amb l'espectre d'algun compost de les espectroteques seleccionades.

Tal i com s'ha efectuat en les anteriors tècniques analítiques, en primer lloc s'han passat una sèrie de patrons, en aquest cas 10 en total, de diferent polaritat (taula 4.7.7). El cromatograma del conjunt de patrons (figura 4.7.21) és molt bo, presenta alta resolució i la intensitat és molt bona. Els patrons seleccionats apareixen entre el minut 14 i el 34. La majoria de patrons emprats no s'altera en les condicions cromatogràfiques seleccionades, sobretot pel que fa als aldehids i cetones. En canvi, la majoria d'àcids són susceptibles de perdre el carboxil tant si està unit a l'anell aromàtic com a una cadena carbonada lateral. Així doncs, per exemple els fenols derivats de l'àcid cinàmic (com ara els àcids cumàric i ferúlic) es detecten com a vinilfenols. Els grups metoxi, metil, hidroxils i benzaldehids no s'alteren en les condicions assajades.

Taula 4.7.7. Nom del patró, temps de retenció (tr) i substància detectada al passar els patrons per CG-MS.

N	tr	Patró	Substància detectada	Observacions
1	14,7	Àc. p-hidroxibenzoic	Fenol	Pèrdua d'un grup àcid
2	17,4	Àc. ferúlic	4-vinil 2-metoxifenol	Pèrdua d'un grup àcid
3	18,4	Àc. siríngic	2,6-dimetoxifenol	Pèrdua d'un grup àcid
4	20,3	Àc. cumàric	4-vinilfenol	Pèrdua d'un grup àcid
5	22,5	Vainillina	Vainillina	No s'altera
6	27,3	Siringaldehid	Siringaldehid	No s'altera
7	27,6	p-hidroxibenzaldehid	p-hidroxibenzaldehid	No s'altera
8	27,9	4-hidroxi-3,5-dimetoxiacetofenona	4-hidroxi-3,5-dimetoxiacetofenona	No s'altera
9	28,3	p-hidroxiacetofenona	p-hidroxiacetofenona	No s'altera
10	34,2	Àc. vainílic	Àc. Vainílic	No s'altera

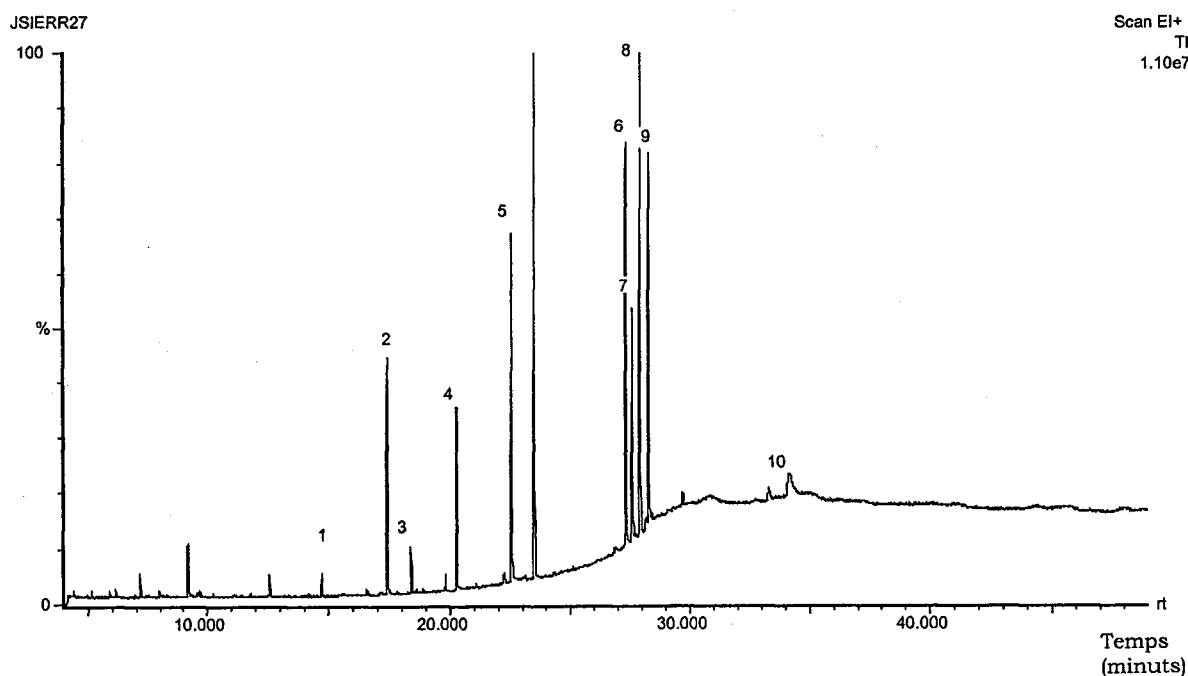


Figura 4.7.21. Cromatograma CG-MS (TIC) dels patrons seleccionats

En relació a l'extracte aquós del sòl control **T** (taula 4.7.8 i figura 4.7.22), s'observa que conté nombrosos hidrocarburs lineals majoritàriament amb deu o més carbonis, alguns d'ells insaturats, d'altres amb radicals hidroxil, àcids i alguns formen èsters metàlics. Aquests darrers originalment podien haver estat àcids ja que en presència de metanol i donat que la mostra havia sofert una acidificació prèvia poden haver-se format els corresponents èsters. També s'han detectat alguns ftalats i estabilitzants de dissolvents com ara el butilhidroxitoluè i el 3,4-bis-(1,1 dimetiletíl)fenol.

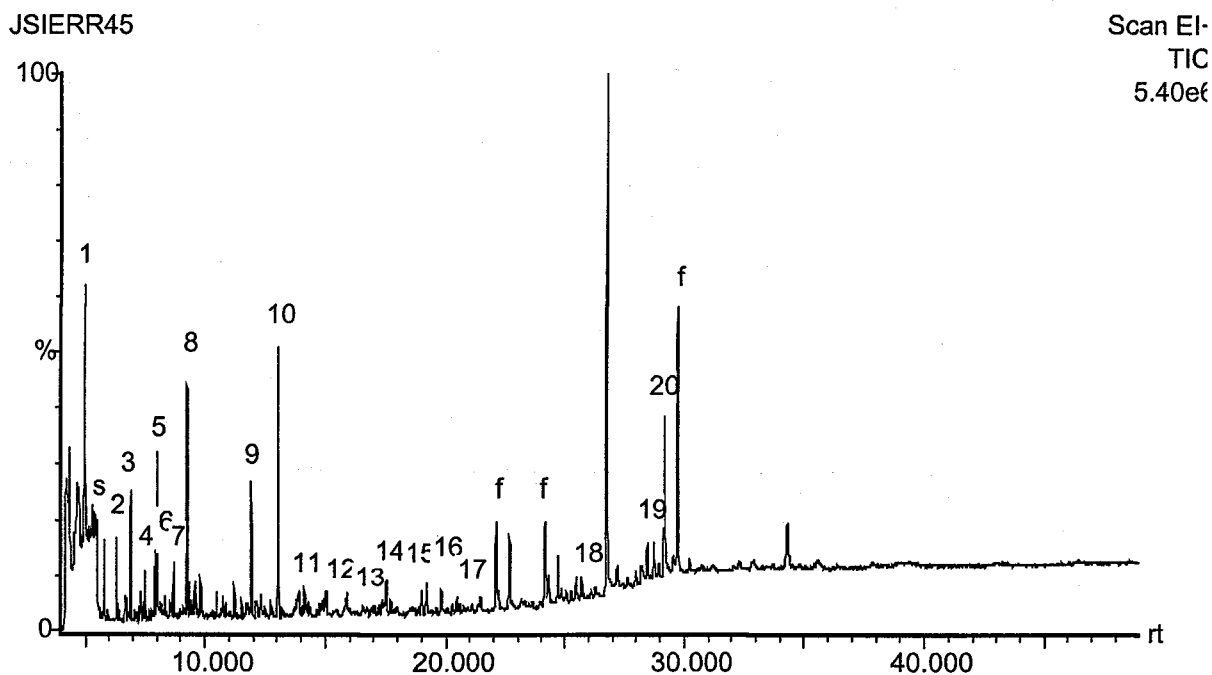


Figura 4.7.22. Cromatograma CG-MS (TIC) de l'extracte aquós del sòl **T** control. f: ftalat.

Quan l'extracte aquós del sòl T és atacat pel mètode de Kögel i Botcher (1985) (taula 4.7.7 i figura 4.7.23), s'observa que també abunden els hidrocarburs lineals, la majoria en forma d'èsters, alguns compostos aromàtics i alguna estructura fenòlica natural (acetovanillona i 2-hidroxibenzotiazol). També, apareixen alguns estabilitzants que provenen d'algun dels dissolvents emprats. S'ha detectat també, tant en forma d'àcid com d'èster, a l'àcid benzoic que és susceptible de reaccionar amb el reactiu de Folin Ciocalteu.

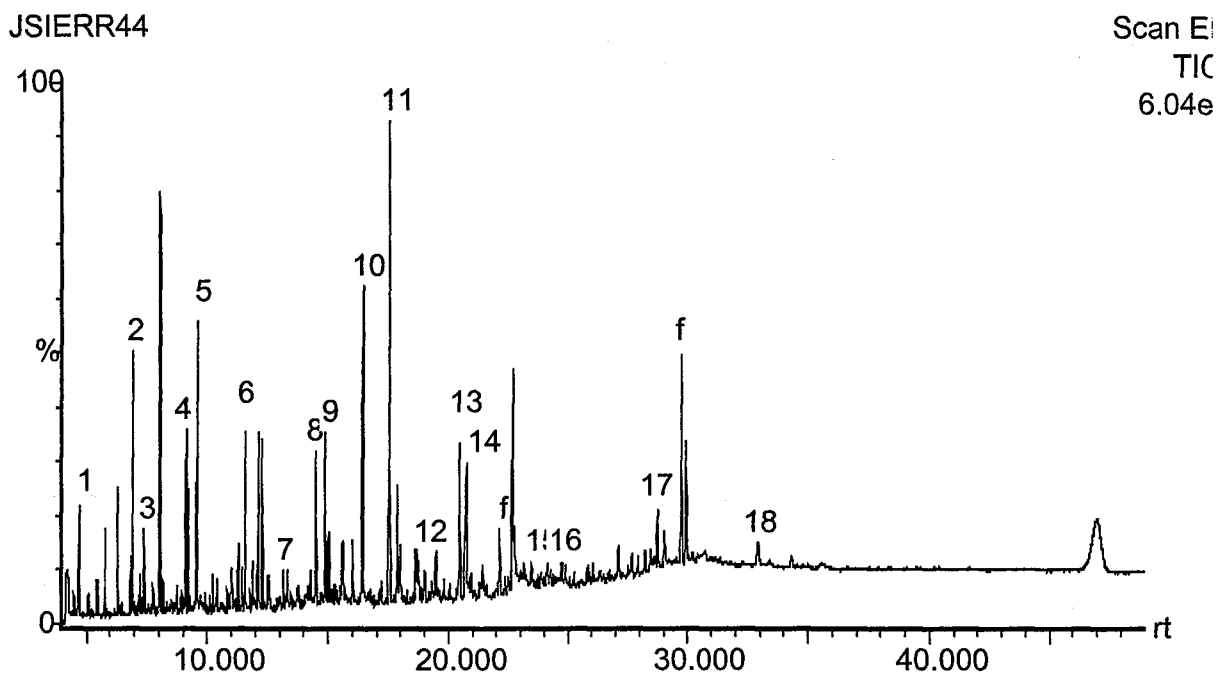


Figura 4.7.23. Cromatograma CG-MS (TIC) de l'extracte aquós del sòl **T** atacat pel mètode Kögel i Botcher (1985).

En relació a l'oliassa **OT** (figura 4.7.25 i taula 4.7.9) s'han detectat abundants hidrocarburs lineals, alcohols, èsters i àcids amb cadenes carbonades de diferent longitud. S'han detectat àcids grassos lliures que provenen de l'oli com ara els àcids oleic, palmític i linoleic, compostos aromàtics i fenols (en total 10) molts d'ells derivats del feniletil. També apareixen alguns derivats de la vainillina i algun o-difenol. S'ha identificat el 4-vinilfenol que molt probablement correspon a l'àcid cumàric que ha perdut el grup carboxílic, ja que presenta el mateix model de fragmentació i temps de retenció que el corresponent patró.

Per a l'anàlisi de la composició relativa de fenols es poden classificar en funció del tipus de monòmer (figura 4.7.24): p-hidroxibenzils (H), 4-hidroxi 3-metoxibenzils (Vanillil, V), 3,5-dimetoxi 4-hidroxibenzil (siringil, S) i fenilpropens que corresponen als derivats de l'àcid cinàmic (C). Excepte els del primer grup (que poden tenir diversos orígens) els demés provenen fonamentalment de les lignines (Hedges et al., 1988a; Milter i Zech, 1998) o sigui dels materials relacionats amb els teixits llenyosos vegetals.

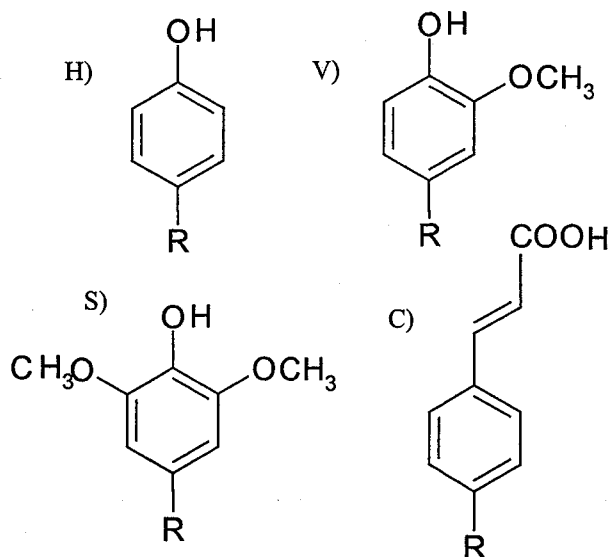


Figura 4.7.24. Tipus de monòmer d'alguns compostos detectats. H: p-hidroxibenzil. V: vanillil. S: siringil. C: àcid cinàmic.

Taula 4.7.8. Temps de retenció de les substàncies identificades en l'extracte aquós del sòl **T** atacat pel mètode Kögel i Botcher 1985 i sense atacar.

Nº	Tr	T	Tr	T atacat
1	4,9	Metil-3-butenil èster	4,7	Èster metílic de l'àc. 3-metilpentanoic
2	6,3	n-decà	6,9	1-dodecè
3	6,9	1-dodecè	7,4	Èster metílic de l'àc.octanoic
4	7,5	Nonadecà	9,2	Butadioic dimetil èster.
5	8,0	1-dodecà	9,5	Metil èster de l'àc. benzoic
6	8,3	Decà	11,5	Èster metílic d'àc.dodecanoic
7	8,5	Èster metílic de l'àc. 2-metoxibenzeacètic	13,0	Butilhidroxitoluè
8	9,2	1-tetradecanol	14,5	Èster metílic de l'àc. tetradecanoic 12-metil,
9	11,8	Tridecanol	14,8	Èster dimetílic d'àc.octadioic
10	13,0	Butilhidroxitoluè	16,4	Èster dimetílic d'àc nonadioic
11	13,9	Benzotiazol	17,5	Èster metílic de l'àc. 13-metil tetradecanoic
12	15,8	2,6-di(t-butil)-4-hidroxi-4-metil 2,5-ciclohexadien 1-ona	19,0	Èster metílic de l'àc.9-metil hexadecanoic
13	17,3	2,6-di(t-butil)-4-metoxi p-cresol	20,4	Èster metílic de l'àc. 10,13-dimetiltetradecanoic
14	17,5	Èster metílic de l'àc. 13-metiltetradecanoic	20,7	Àc.benzoic
15	19,0	3,4-bis-(1,1-dimetiletil)fenol	23,4	acetovanillona
16	19,2	fenil metil èster de l'àc. carbàmic	24,7	p-tertbutilfenol
17	20,4	Èster metílic de l'àc. 10,13-dimetiltetradecanoic	28,7	n-butilbenzesulfonamida
18	26,7	Àc. decanoic	32,9	2-hidroxibenzotiazol
19	28,7	n-butilbenzèsulfonilamina		
20	29,1	Àc. esteàric		

En general abunden més els monòmers del p-hidroxibenzil seguit dels monòmers de vainillil i en darrer lloc els derivats de l'àcid cinàmic. Probablement aquests darrers hi són poc freqüents perquè són més biodegradables (Cotrim et al., 2001).

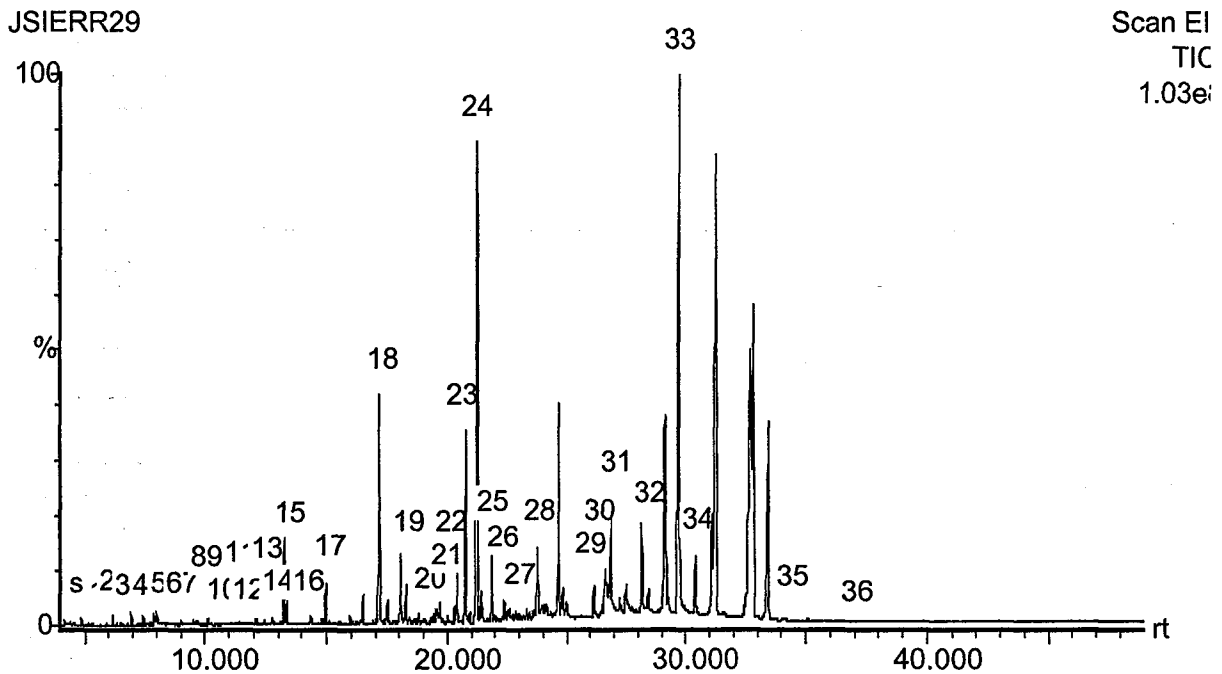


Figura 4.7.25. Cromatograma CG-MS (TIC) de l'oliassa **OT**.

Tot això demostra que aquesta oliassa conté fenols lliures, fet que ja havien constatat diversos autors en analitzar diverses oliasses (Vázquez Roncero et al., 1974; Casa et al., 2003).

S'han identificat també alguns compostos fenòlics lliures no descrits en la bibliografia consultada:

- El 4-hidroxi-3-metoxifenil etanol, és un compost derivat de la família de la vainillina que també s'anomena alcohol homovainílic.
- L'aminofenol.
- El 4-etilcatecol tampoc ha estat descrit i forma part de la mateixa família de compostos que el catecol i metilcatecol, compostos de l'oliassa descrits com a molt tòxics (Ramos-Cormenzana i Monteoliva-Sánchez, 2000).

Taula 4.7.9. Principals substàncies identificades per CG-MS de l'oliassa OT sense atacar.

N	tr	Compostos aromàtics	N	tr	Compostos no aromàtics
11	11,2	Èster metílic de l'àc benzèacetic	1	5,3	Octadecà
12	11,8	Èster etílic de l'àc. benzèacetic	2	6,9	1-dodecen
13	12,7	Benzèmetanol	3	7,0	Tetradecà
14	12,8	p-aminofenol	4	7,4	1-undecanol
15	13,2	Fenil etil alcohol	5	8,6	Butandiol
17	14,9	Fenil etil 2 metoxi	6	8,7	Pentadecà
18	12,8	p-etilfenol	7	8,8	1,1-dimetoxidecà
20	19,3	2-(4 metoxifenil)etanol	8	9,4	Tetradecanol
21	20,3	p-vinilfenol (àc. cumàric)	9	9,6	Tridecanol
22	20,4	Benzè 1,2,3-trimetoxi-5-metil	10	10,1	Àc. 3-metil pentanoic
23	20,7	Èster etílic de l'àc. p-hidroxi fenilacètic	16	14,4	Èster metílic de l'àc. 5-hidroxiundecanoic
27	22,8	Fenil acètic àcid	19	18,0	Èster etílic àc hexadecanoic
28	23,4	Èster etílic de l'àc. 4-hidroxi-3-metoxibenzoic (etilvainillat)	24	21,0	Èster etílic de l'àc oleic
29	26,1	4-hidroxi 3-metoxi fenil etanol (alcohol homovanílic)	25	21,4	Èster metílic de l'àc. linoleic
30	26,6	4-etilcatecol	26	21,8	Èster etílic de l'àc. linoleic
32	28,1	4-hidroxibenzeetanol	31	26,8	Àc. palmític
35	34,0	Àc. vainílic	33	29,7	Àc. oleic
36	37,2	3-hidroxi enzeetanol	34	30,4	Àc cis cis linoleic

Quan l'oliassa **OT** es sotmet a l'**atac** de Kögel i Botcher (1985) s'obtenen una sèrie de canvis en els espectrogrames resultants (taula 4.7.9 i figura 4.7.26). Algunes substàncies desapareixen amb l'atac respecte a l'oliassa sense atacar, com ara el benzèmetanol, alguns àcids grassos, l'etilvainillat, el 4-etilcatecol, el 4-hidroxibenzeetanol, l'aminofenol i el 1,2,3-trimetoxi-5-metilbenzè. En canvi nombroses substàncies apareixen, entre elles destaquen sobretot els fenols monomèrics derivats de la degradació de les lignines com ara: la vainillina, acetovanillona, siringaldehyd, 4-hidroxi-3,5-dimetoxiacetofenona, els àcids siringic, homosiringic, vainílic i cinàmic. També apareixen alguns derivats dels àcids benzoic, benzeacètic.

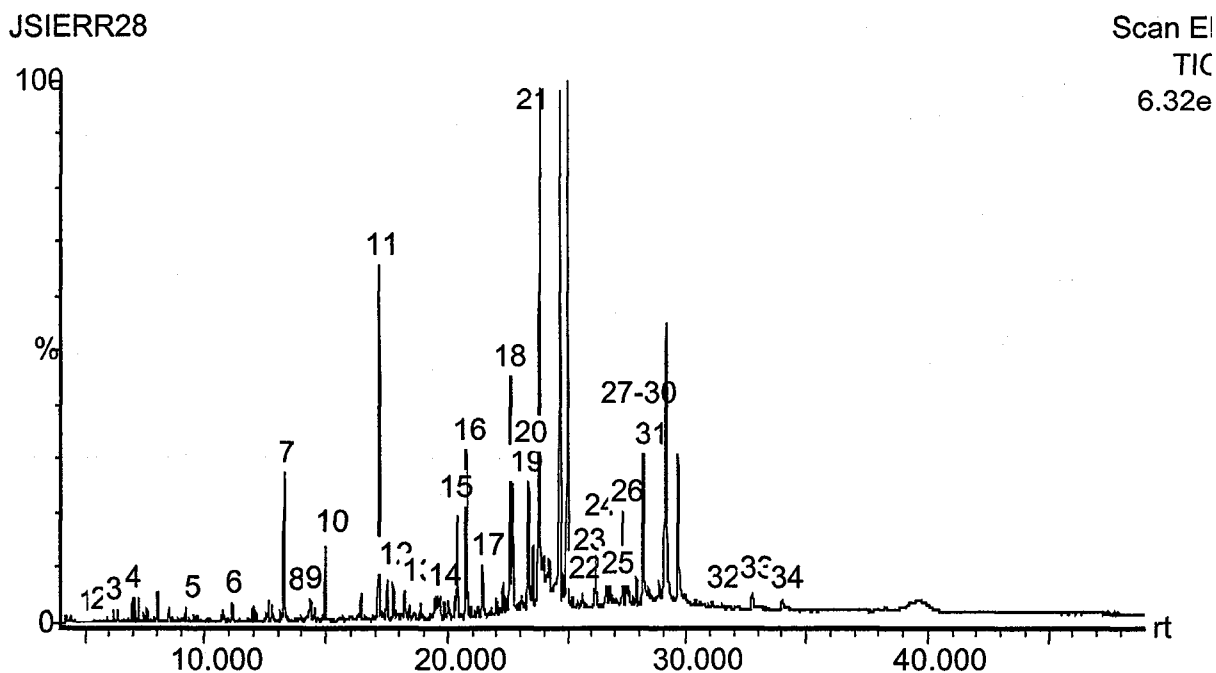


Figura 4.7.26. Cromatograma CG-MS (TIC) de l'oliassa **OT** atacada pel mètode de Kögel i Botcher (1985)

En general, en atacar l'oliassa la proporció relativa de fenols és més abundant pels d'origen ligninià (H,V,C), fet que pot indicar que, en part, l'origen dels fenols de l'oliassa prové dels teixits llenyosos de les olives (pinyol). Després de l'atac també apareixen força grups metoxi que originalment podien tractar-se de grups fenòlics, que en presència d'alcanols (metanol) en medi bàsic (NaOH) i aquós es formen els corresponents èsters (síntesi de Williamson). Un exemple d'això pot ser el 4-etilcatecol (present en l'oliassa sense atacar) que passa a 4-etil-2-metoxifenol quan l'oliassa és sotmesa a l'atac.

També apareix un bicicle i dos pics entre els temps de retenció 24,5 i 25 minuts que sembla que també tenen estructura de bicicle, però en aquest cas no s'ha pogut esbrinar.

L'aparició d'alguns nous compostos fenòlics en atacar l'oliassa (per tant no presents en forma lliure) es formen (com ja s'ha vist) per la reacció entre compostos presents a l'oliassa, però d'altres (major part) s'han format com a conseqüència de la despolimerització d'una molècula més gran de naturalesa fenòlica. Això indica que bona part de la càrrega fenòlica d'aquestes molècules

es troba en forma de polímers susceptibles de ser trencats, com a mínim en part, amb una oxidació lleu en medi bàsic. L'existència de fenols polimeritzats a l'oliassa ja havia estat constatat per d'altres autors (Pérez et al., 1987; Sayadi et al., 2000).

Taula 4.7.9. Principals substàncies identificades per GS-MS de l'oliassa **OT** atacada amb el mètode de Kögel i Botcher (1985).

N	Tr	Compostos aromàtics	N	tr	Compostos no aromàtics
6	11,1	Èster metílic de àc benzeacetic	1	4,9	Èster metílic de l'àc. octanoic
7	13,2	feniletalcohol	2	5,3	Octadecà
10	14,9	4-etil 2-metoxifenol	3	5,8	1-octadecè
11	17,1	3-etilfenol	4	6,9	1-dodecè
13	18,4	2,6-dimetoxifenol (àc siringic)	5	9,2	Èster dimetílic de l'àc.propadioic
14	20,3	4-vinilfenol	8	14,4	Èster metílic de l'àc.5-hidroxiundecanoic
15	20,4	1,2,3-trimetoxi 5-metilbenzè	9	14,5	Èster dimetílic àc.hidroxiabutadioic
18	22,5	Vainillina	12	17,5	Èster metílic àc. 14-metil pentadecanoic
19	22,6	1,4 dihidro 3H-2-benzopirè-3-ona	16	20,7	Èster metílic de l'àc.oleic
20	22,9	Àc.fenilacetic	17	21,4	Èster metílic de l'àc. linoleic
21	23,5	4-hidroxi-3-metoxiacetofenona (acetovanillona)	27	27,3	Èster metílic de l'àc palmític
22	25,6	Èster metílic l'àc. 2-metoxi benzoic			
23	25,7	Àc 4-vinilbenzoic			
24	26,1	4-hidroxi-3-metoxi feniletanol (alcohol homovainílic)			
25	26,6	Àc. cinàmic			
26	27,3	Siringaldehid			
28	27,6	Èster metílic de l'àc.4-hidroxi benzepropanoic			
29	27,8	Àc. 4-hidroxi-3-metoxibenzeacètic			
30	27,9	4-hidroxi-3,5-dimetoxi acetofenona			
31	28,1	4-hidroxi benzeetanol			
32	31,5	Àc. 3-(2-metoxi 5-metilfenil) propanoic			
33	32,7	3,5-dimetoxi-4-hidroxi fenilacètic			
34	34,0	Àc. vainílic			

En relació a l'extracte aquós de la mostra de sòl **B2** (taula 4.7.10 i figura 4.7.27) en general s'observen àcids lineals i apareixen nombrosos compostos aromàtics com ara l'èster metílic de l'àcid fenilcarbàmic i la n-butylbenzesulfonamida, que ja s'havia detectat en el sòl control i l'àcid benzoic

en el sòl control atacat. També apareixen altres compostos aromàtics del tipus l'etilbenzè, benzaldehid, acetofenona, un compost fenòlic i dos bicicles.

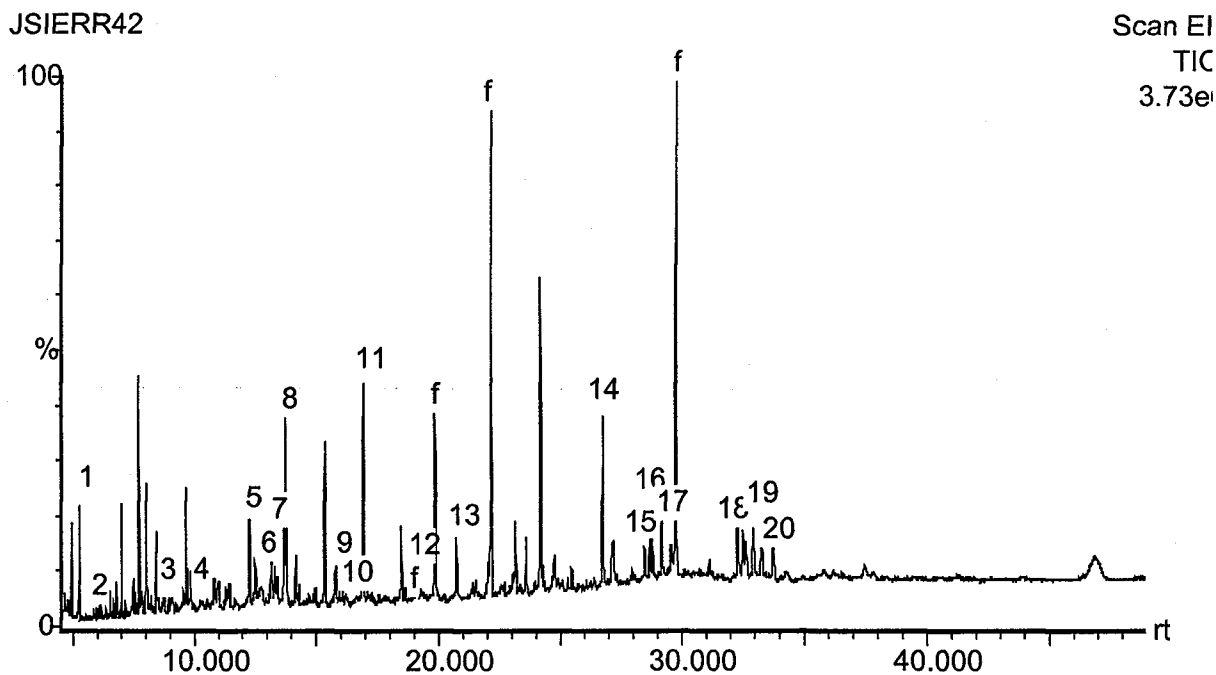


Figura 4.7.27. Cromatograma CG-MS (TIC) de l'extracte aquós de la mostra **B2**.

Nº	tr	Compostos aromàtics	Nº	tr	Compostos no aromàtics
1	5,2	etilbenzè	5	12,0	Àc. pentanoic
2	5,9	1-metil-2-(metiletil)benzè	6	12,1	Àc. valèric
3	8,5	benzaldehyd	8	13,8	Àc. 2-etilhexanoic
4	9,8	Àc. benzècarbotoic	9	15,7	Àc. ciclohexanoic
7	13,0	Butilhidroxitoluè (conservador)	11	16,8	Àc. decanoic
10	15,9	Acetofenona	14	26,8	Àc. palmític
12	19,2	Èster metílic de l'àc. fenilcarbàmic	16	29,1	Àc. octadecanoic
13	20,7	Àc. benzoic			
15	28,7	N-butilbenzèsulfonamida			
17	29,5	Àc. (Bicicle (2,2,1)-hept-2-en-7-ilidene)acètic			
18	32,3	Àc. (ditertbutil-4-hidroxifenil) propiònic			
19	33,2	4-metilen-2-oxabicycle (4,4,0) decan-2-ona			
20	33,7	2,2-metilenbis (6-(1,1-dimetiletil)-4-etilfenol)			

Taula 4.7.10. Principals substàncies identificades per GS-MS de l'extracte aquós de la mostra **B2**.

L'únic compost que coincideix amb l'oliassa és l'àcid palmític, àcid gras present a les oliasses que pot esdevenir fitotòxic.

Quan l'extracte aquós de **B2** es sotmet a l'atac amb mètode de Kögel i Botcher (1985) apareixen nombroses estructures aromàtiques i entre elles abunden les de naturalesa fenòlica, 14 en total (taula 4.7.11 i figura 4.7.28). Aquest fet demostra que els fenols solubles d'un sòl contaminat amb oliassa es troben majoritàriament polimeritzats de manera que quan aquest extracte es sotmet a l'atac (oxidació bàsica lleu), part de les unitats polimeritzades es despolimeritzen i apareixen les estructures aromàtiques monomèriques.

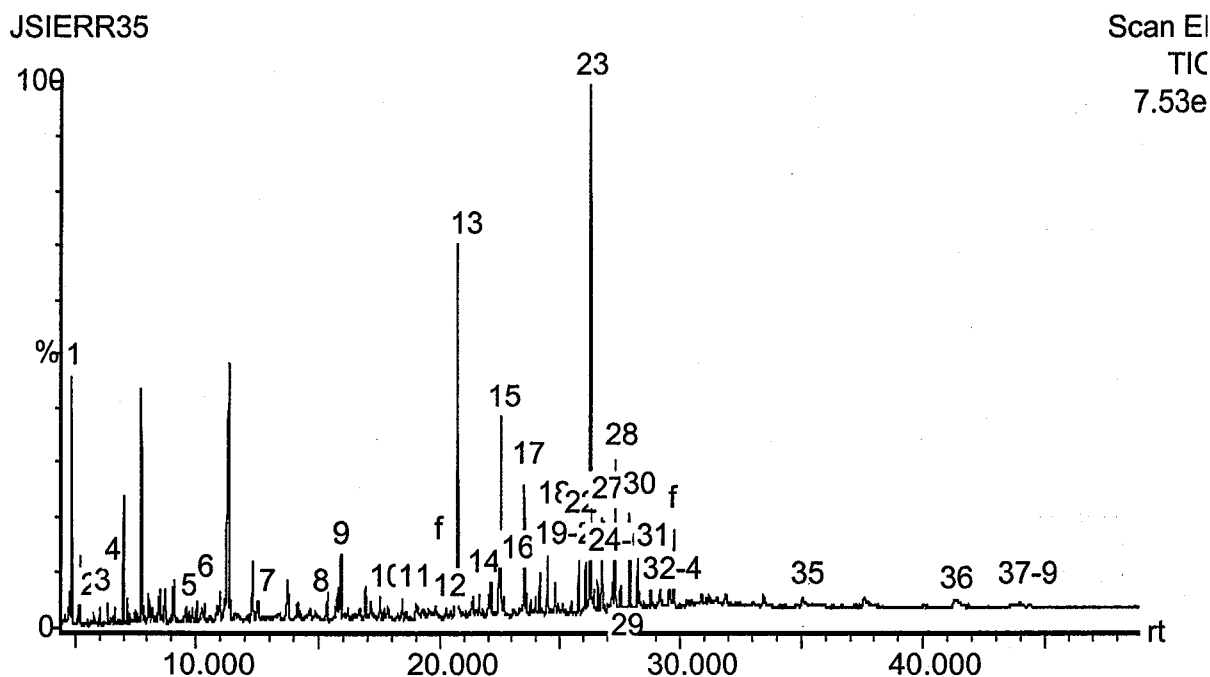


Figura 4.7.28. Cromatograma CG-MS (TIC) de l'extracte aquós de la mostra **B2** atacat pel mètode de Kögel i Botcher (1985).

En atacar apareixen alguns àcids grassos (tant en forma d'àcid com d'èster) fet que indica que probablement els polímers solubles del sòl estan formats per una mescla de fenols i àcids grassos del propi sòl i els procedents de les oliasses (fonamentalment àcids oleic, palmític i esteàric). Entre la composició de fenols, abunden principalment els formats per monòmers del 4-hidroxibenzil, seguits pels que contenen grups vainillil i en darrer lloc per monòmers de siringil i cinamil. Aquest fet indica que part dels fenols poden provenir de fonts no ligninianes (mesocarp de les olives). Entre els grups funcionals que més abunden són els àcids (forma més oxidada) enfront dels aldehids, cetones i grups fenòlics sols. La relació entre els grups àcids, aldehids i cetones d'anells fenòlics s'ha emprat comunament per a establir si

la matèria orgànica que prové del sòl és fresca o està més degradada (Hedges et al., 1988b; Reeves i Preston, 1991). Per tant, aquest fet pot indicar que la matèria orgànica soluble d'aquest sòl contaminat pot haver sofert processos oxidatius de forma anàloga als àcids húmics del sòl on també hi predominen els grups àcids. Tot això indica que els compostos fenòlics aportats per l'oliassa, en aquest cas, poden estar en fase de degradació o/i d'humificació.

Taula 4.7.11. Principals substàncies identificades per CG-MS de l'extracte aquós de la mostra **B2** atacat amb el mètode de Kögel i Botcher (1985).

Nº	Tr	Compostos aromàtics	Nº	Tr	Compostos no aromàtics
1	4,7	Etilbenzè	8	15,0	1-tetradecanol
2	5,5	1-etil-2-metilbenzè	10	16,9	Àc.decanoic
3	5,9	1-metil-2-(1-metiletil)benzè	11	18,4	Èster metílic de l'àc.decanoic
4	6,0	1,3,5-trimetilbenzè	19	24,6	Èster metílic de l'àc. oleic
5	9,8	Àc.benzocarbotioic	20	24,8	Èster dimetílic d'àc.octadioic
6	10,2	o-hidroxibenzaldehid	21	25,6	Àc. decanoic
7	12,5	3-hidroxi-3-metilbenzaldehyd	23	26,1	Àc. nonadienoic
9	15,9	p-cresol	26	26,7	Àc palmític
12	20,3	2-metilbenzaldehyd	27	27,1	Àc.oleic
13	20,9	Àc. benzoic	34	29,2	Àc heptadecanoic (Àc.estèaric)
14	22,3	4-metilacetofenona			
15	22,5	Vainillina			
16	22,6	3H, 2-benzopirè-3-ona, 1,4-dihidro-3-isocromanona			
17	23,5	3-hidroxi-3-metoxiacetofenona			
18	24,5	m-viniltoluè			
22	25,7	1-metil 4- (1-propenil)benzè			
24	26,4	Àc. cinàmic			
25	26,5	p-hidroxiacetofenona			
28	27,3	Siringaldehid			
29	27,5	p-hidroxibenzaldehid			
30	27,9	4,5-dimetoxi-2-hidroxiacetofenona			
32	28,2	p-hidroxiacetofenona			
32	28,3	3-hidroxi-2-metilbenzaldehyd			
33	28,8	n-butylbenzesulfonamida			
35	33,4	Àc. vainillic			
36	41,5	Àc. p-hidroxibenzoic			
37	43,2	Àc. m-hidroxibenzoic			
38	43,8	Àc. 3-hidroxi-4-metilbenzoic			
39	43,9	Àc. 4-hidroxibenzacètic			

En els cromatogrames de la mostra **B2** atacada només amb hidròxid sòdic i òxid de coure (en no tenir sal de Mohr l'atac és més oxidant), apareixen les

mateixes estructures que amb presència de sal de Mohr (resultats no mostrats).

Respecte a l'atac de l'extracte aquós de la mostra **B2** amb hidròxid sòdic 2N (taula 4.7.12 i figura 4.7.29), s'obté un espectrograma on els nombre de pics és menor. També apareixen algunes estructures aromàtiques, de les quals únicament tres són compostos fenòlics. Això indica que per a que l'atac sigui efectiu cal que s'efectuï amb un medi oxidant, efecte que dóna l'òxid de coure controlat per la sal de Mohr.

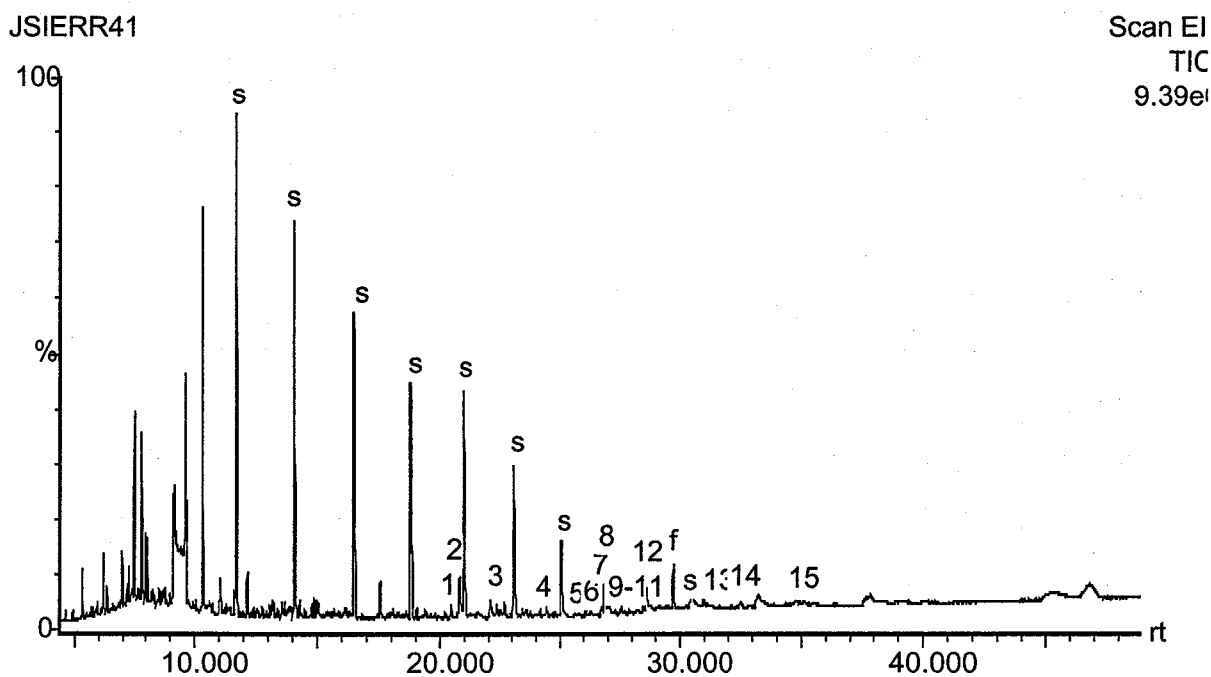


Figura 4.7.29. Cromatograma CG-MS (TIC) de l'extracte aquós de la mostra **B2** atacat amb hidròxid sòdic 2N.

Taula 4.7.12. Principals substàncies identificades per GS-MS de l'extracte aquós de la mostra **B2** hidrolitzat amb hidròxid sòdic 2N.

Nº	Tr	Compostos aromàtics	Nº	Tr	Compostos no aromàtics
1	20,2	2-metilbenzaldehyd	8	26,7	Àc. palmític
2	20,8	Àc. benzoic			
3	22,1	Àc. 3-metilbenzoic			
4	24,4	m-viniltoluen			
5	25,8	1-metil-(1propenil)benzè			
6	26,1	Èster metílic de l'àc. 3-hidroxi benzoic			
7	26,3	Àc. cinàmic			
9	27,0	Àc. cianobenzoic			
10	27,3	Siringaldehyd			
11	27,5	4-metil benzèmetanol			
12	27,9	4-hidroxi 3,5-dimetoxiacetofenona			
13	31,0	4-(p-metilfenil)isoxazol			
14	32,5	2-etil-2H-isoindol			
15	33,5	Àc. vainílic			

En la despolimerització en medi àcid (taula 4.7.13 i figura 4.7.30) apareixen també menys estructures fenòliques (4 en total) que en l'atac amb els reactius de Kögel i Botcher (1985). En realitzar un atac àcid i posteriorment l'addició de metanol s'ha afavorit la metilació dels grups àcids. Per tant els nombrosos èsters metílics que apareixen probablement originàriament eren àcids.

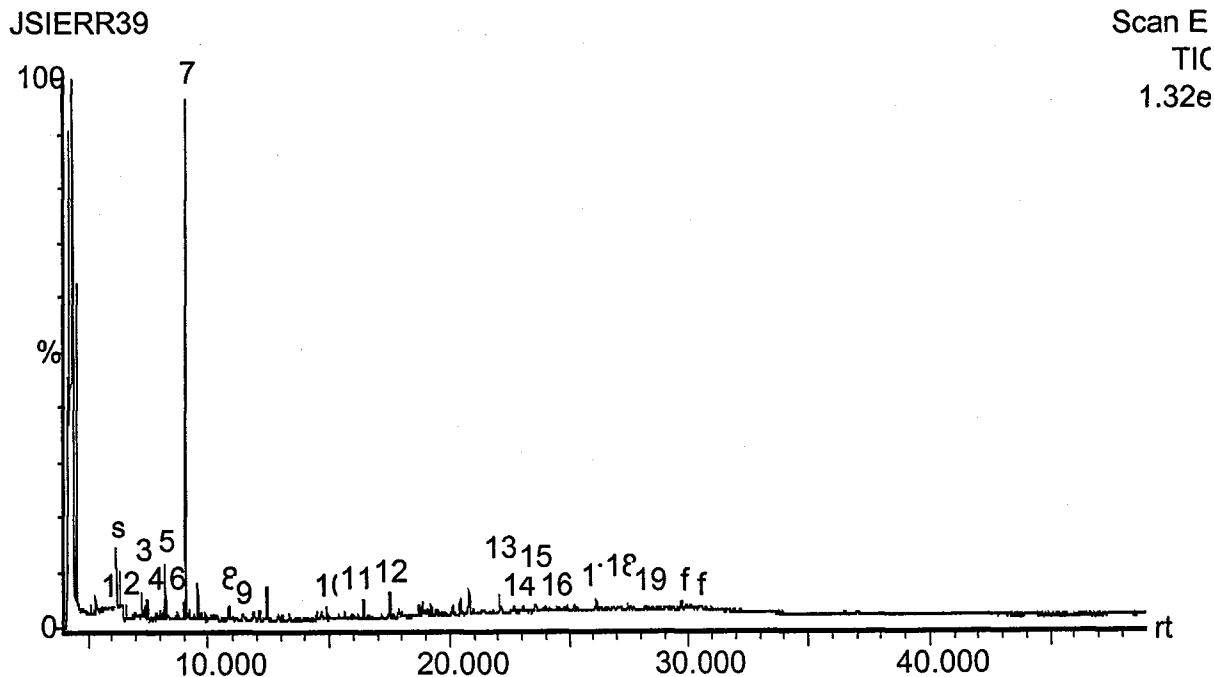


Figura 4.7.30. Cromatograma CG-MS (TIC) de l'extracte aquós de la mostra **B2** atacat amb àcid sulfúric 2N.

Taula 4.7.13. Principals substàncies identificades per CG-MS de l'extracte aquós de la mostra **B2** atacat amb àcid sulfúric 2N.

N	Tr	Compostos aromàtics	N	Tr	Compostos no aromàtics
1	5,6	Vinilbenzè	3	7,3	1-dodecè
2	6,6	Àc. 1-metoxibenzen acètic	4	7,8	Etadiamina
5	8,2	2-metoxi 1,4-dimetilbenzè	6	8,7	Àc. 2-butendioic
8	10,8	Èster metílic de l'àc. 4-metil benzoic	7	9,1	Trimetilester de l'àc.fosfòric
9	11,4	Èster metílic de l'àc. 2-hidroxibenzoic	10	14,8	Èster dimetílic de l'àc. octadioic
11	15,6	Èster metílic de l'ac.cinàmic	12	16,4	Èster dimetílic de l'àc. nonadioic
13	22,0	Àc. 3-metilbenzoic	16	23,1	Èster de l'àc. hexadecanoic
14	22,1	Èster metílic de l'àc. 2-fenoximetilbenzoic			
15	23,0	Èster de l'àc. 4-hidroxi-3-metoxibenzoic (ester vainílic)			
17	26,1	Èster de l'àc.3-hidroxibenzoic			
18	27,4	Èster de l'àc.4-hidroxibenzoic			
19	27,6	Àc. 4-hidroxi-3,5-dimetoxi hidrazida benzoic?			

La mostra de sòl contaminada amb oliassa al laboratori, **Tcont**, (taula 4.7.14 i figura 4.7.31) i extractada amb aigua presenta un contingut en compostos fenòlics molt superior al sòl sense contaminar (T) i en canvi molts d'ells s'han detectat a l'oliassa.

Entre els compostos fenòlics que apareixen en ambdós casos (oliassa i sòl contaminat) es pot trobar els àcids vainílic i cumàric, l'alcohol homovainílic i el 4-hidroxibenzenòl. Entre els fenols que només s'han detectat a l'oliassa i per tant han quedat adsorbits al sòl, l'èster etílic de l'àcid vainílic i al 4-etilcatecol. L'únic compost fenòlic que apareixen de nou és l'àcid ferúlic.

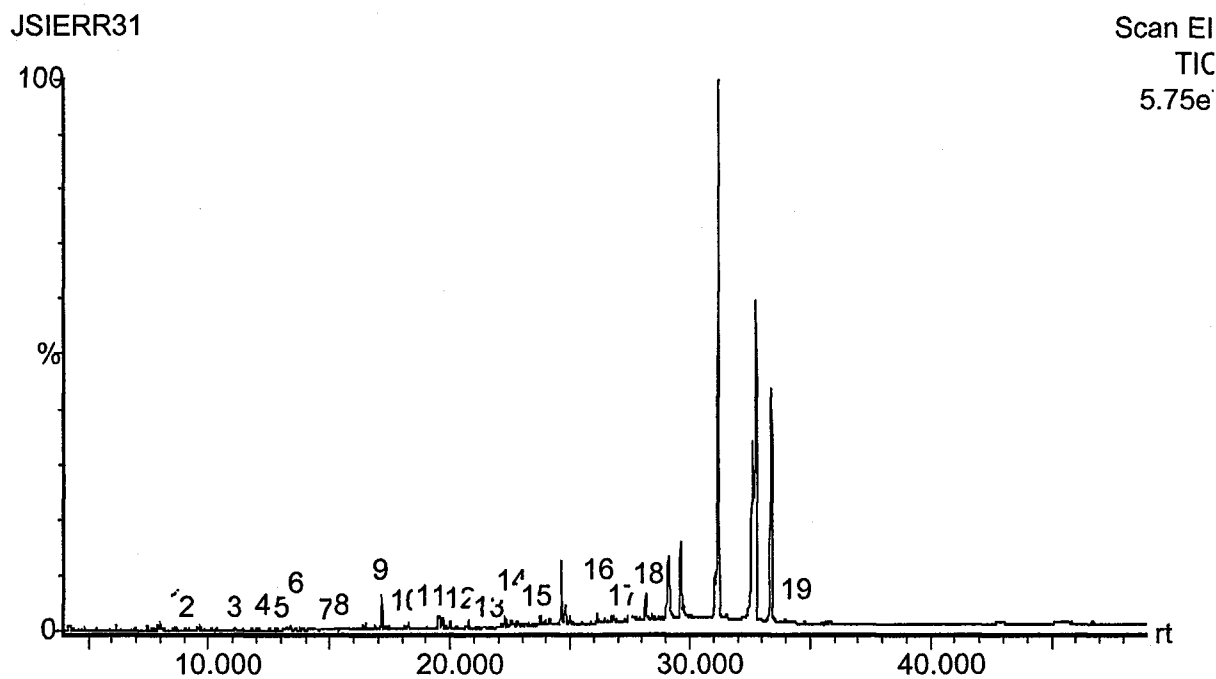


Figura 4.7.31. Cromatograma GS-MS (TIC) de l'extracte aquós de la mostra **Tcont**.

Taula 4.7.14. Principals substàncies identificades per GS-MS de l'extracte aquós de la mostra **Tcont**.

N	Tr	Compostos aromàtics	N	Tr	Compostos no aromàtics
1	8,5	Benzaldehyd	7	14,4	Èster metílic de l'àc. undecanoic
2	8,6	Dimetoximetilbenzè	17	26,8	Àc. palmític
3	11,1	Àc. benzacètic			
4	12,7	Èster metílic de l'àc. salicílic			
5	12,8	p-aminofenol			
6	13,2	benzemetanol			
8	14,9	4-etil-2-metoxifenol			
9	17,1	3-etilfenol			
10	17,4	2-metoxi-4-vinilfenol (àc. ferúlic)			
11	19,3	2-(4-metoxifenil)etanol			
12	20,3	4-vinilfenol (àc. cumàric)			
13	21,3	Àc. benzoic			
14	21,6	3,4,4-trimetil-3-(3-oxobutil)-2-ciclohexen-1-ona			
15	22,8	Àc. fenilacètic			
16	26,1	3-metoxi 4-hidroxifeniletanol (alcohol homovainílic)			
18	28,1	4-hidroxibenzetanol			
19	33,9	Àc. vainílic			

En atacar pel mètode de Kögel i Botcher (1985) a l'extracte aquós del sòl **Tcont** (taula 4.7.15 i figura 4.7.32) apareix un espectrograma força més ric en substàncies (durant els primers 30 minuts), que no pas a l'extracte aquós

sense atacar. El tipus de substàncies que apareixen de nou són fonamentalment compostos aromàtics, dels quals la majoria són fenols (14 en total). Entre els compostos fenòlics que apareixen es troben: l'àcid p-hidroxibenzoic, la vainillina, l'acetovanillona, el siringaldehid, la 4-hidroxi 3,5-dimetoxiacetofenona, la p-hidroxiacetofenona, el p-hidroxibenzaldehid i el 2-metoxifenol. Aquests compostos molt probablement es troben originalment en el sòl formant un polímer soluble.

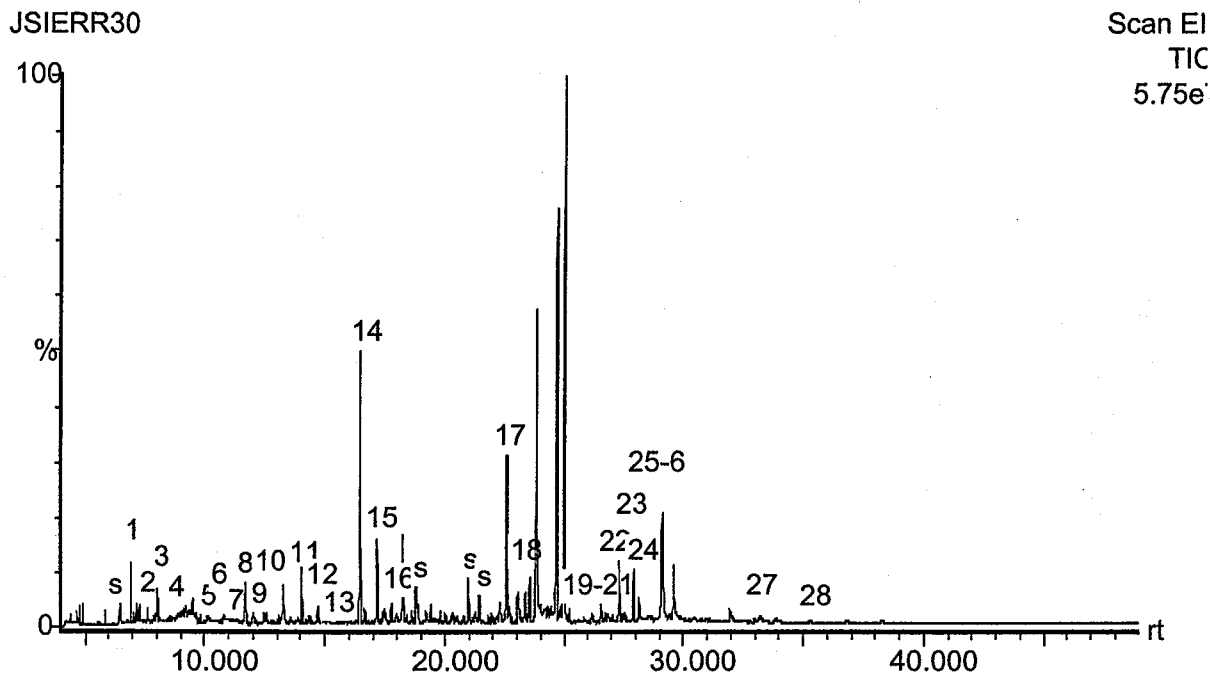


Figura 4.7.32. Cromatograma GS-MS (TIC) de l'extracte aquós de la mostra **Tcont** atacat pel mètode de Kögel i Botcher (1985).

L'extracte aquós de la mostra **Tcont** atacat presenta un espectrograma força similar al de l'oliassa atacada. Entre els compostos fenòlics que es detecten en ambdues mostres es pot citar: vainillina, acetovanillona, siringaldehid, àcid vainílic, 4-hidroxi-3,5-dimetoxiacetofenona, 4-etil-2-metoxifenol i 3-etilfenol. Alguns compostos fenòlics desapareixen respecte l'oliassa atacada com: l'acetovanillona, l'alcohol homovainílic, l'èster metílic de l'àcid 4-hidroxi benzepropanoic, i els àcids homovainílic, homosiringic, siríngic i cumàric. Entre els fenols que apareixen de nou hi ha: p-hidroxiacetofenona, p-hidroxibenzaldehid, 4-hidroxibenzeetanol i el 2-metoxifenol, l'aparició d'aquests compostos pot ser degut a les possibles modificacions que per diferents mecanismes (tant biòtics com abiòtics) pot patir l'oliassa en entrar en contacte amb el sòl.

Taula 4.7.15. Principals substàncies identificades per CG-MS de l'extracte aquós de la mostra **Tcont** atacat amb el mètode de Kögel i Botcher (1985).

N	Tr	Compostos aromàtics	N	Tr	Compostos no aromàtics
4	8,6	Dimetoximetilbenzè	1	6,9	Èster metílic de l'àc.octanoic
5	9,9	Dibenzoil	2	7,2	Èster metílic de l'àc.acètic
6		1,3,5-trimetil 2-(1,3-butadienil) benzè	3	8,0	Èster metílic de l'àc. nonanoic
7		Èster metílic de l'àc. benzeacetic	14	16,4	Àc.nonadioic
8		Metilacetofenona	21	27,0	Àc. 3,7-dimetil 2-octè 1,8-dicarboxílic
9	12,5	2-metoxifenol			
10	12,8	Benzemetanol			
11	13,9	4-metil-2-metoxifenol			
12	14,7	Fenol (àc. p-hidroxibenzoic)			
13	15,0	4-etil-2-metoxifenol			
15	17,2	4-etilfenol			
16	17,4	3-hidroxi-3-metoxibenzemetanol			
17	22,5	vainillina			
18	22,7	1,4- dihidro-3H-2-benzopiran-3-ona			
19	26,5	Àc.cinàmic			
20	26,7	Èster metílic de l'àc.3-hidroxibenzacètic			
22	27,3	Siringaldehid			
23	27,6	p-hidroxibenzaldehid			
24	27,9	4-hidroxi 3,5-dimetoxiacetofenona			
25	28,1	p-hidroxibenzetanol			
26	28,2	p-hidroxiacetofenona			
27	33,8	Àc.vainílic			
28	35,3	Èster etílic de l'àc. 3-(3-hidroxipropil)benzoic			

4.7.4. Interpretació de la identificació dels compostos fenòlics de sòls i oliasses

Per a la identificació de compostos fenòlics solubles d'origen natural de mostres complexes de sòls o oliasses dels quals es desconeix quin tipus de fenols hi són presents, ha resultat ser molt útil la cromatografia gasosa amb una columna polar acoblada a un detector de masses per impacte electrònic. La columna Innowax ha permès la separació dels diferents compostos satisfactòriament, fins i tot, millor que amb les columnes d'HPLC, sense la necessitat de derivatitzar la mostra . Aquesta tècnica, a més, permet comparar

els espectres de masses obtinguts amb diferents espectroteques que disposen de gran nombre de compostos i permeten la identificació dels fenols sense la necessitat de disposar necessàriament del patró corresponent.

L'oliassa **OT** analitzada conté nombrosos compostos fenòlics lliures, si bé en ser atacada mitjançant l'oxidació lleu amb òxid de coure en medi bàsic i amb sal de Mohr (Kögel i Botcher, 1985) apareixen noves estructures fenòliques que indiquen que part de la càrrega fenòlica es troba polimeritzada, fet que també havia estat constatat per d'altres autors (Pérez, 1988 i Sayadi et al., 2000).

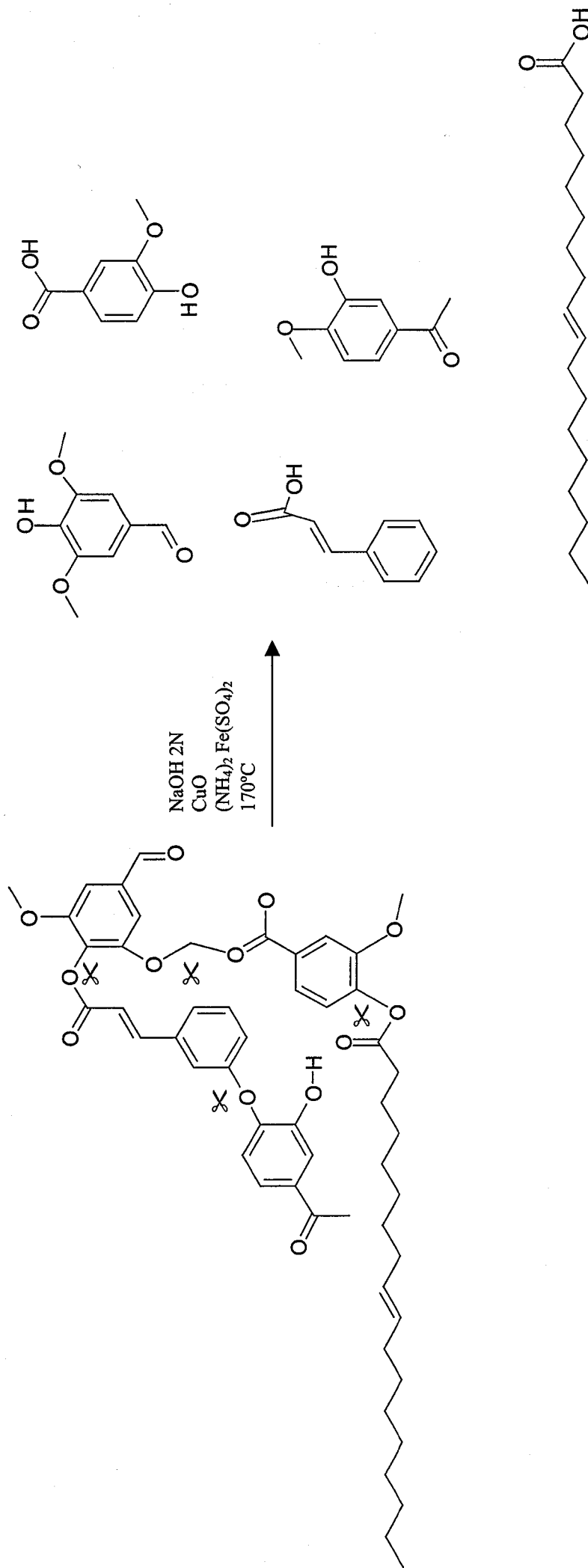
En extractar una mostra de sòl contaminada de forma massiva amb oliassa (**B2**) procedent de l'abocador d'oliasses de Santa Bàrbara, gairebé no conté fenols en estat lliure. Això no indica que a la solució del sòl no hi hagin fenols (mitjançant l'anàlisi amb el mètode de Folin Ciocalteau sí que es detecta la presència de carboni fenòlic), sinó que aquests es troben formant polímers més complexos i solubles que contenen fenols monomèrics junt amb d'altres substàncies aromàtiques i de cadena lineal. S'han trobat com a cadenes laterals lligades als fenols alguns hidrocarburs lineals i àcids grassos. Aquests polímers són, com a mínim en part, fragmentats quan són sotmesos a l'oxidació lleu amb òxid de coure en medi bàsic i amb sal de Mohr (figura 4.7.33). Si la fragmentació es porta a terme únicament amb una hidròlisi bàsica o àcida el rendiment és pitjor. El tipus de fenols detectats, un cop efectuat l'atac, són principalment àcids, aldehids i cetones amb grups monomèrics tipus vainillil, siringil, cinamil i p-hidroxibenzil. En general predominen els fenols carboxilats (fet diferencial respecte la càrrega fenòlica de l'oliassa), la qual cosa pot indicar que els diferents processos que tenen lloc al sòl són capaços de modificar-ne l'estructura i emprar-los com a precursors de les substàncies húmiques.

Malgrat que els atacs realitzats hagin causat la fragmentació de part dels polímers solubles, la qual cosa ha permès la identificació de compostos més simples, convé tenir present que molts dels pics detectats es desconeix llur estructura perquè probablement es tracta de compostos amb una estructura més complexa com per exemple dimers, trímers i polímers encara més

complicats d'identificar. Un exemple n'és la dehidrodivainillina que s'ha detectat en la degradació de les lignines (Flaig et al., 1975).

Quan el sòl esdevé recent contaminat amb oliassa (**Tcont**), conté fenols lliures i també de polimeritzats extractables en aigua. Aquests, amb el temps s'aniran degradant i/o polimeritzant fins a la formació de compostos húmics passant a formar part de la matèria humificada del sòl i per tant perdran la identitat com a tals. Llavors deixaran de ser solubles i perdran la nocivitat per als ecosistemes aquàtics i terrestres i no es mobilitzaran fins que esdevingui la degradació de les substàncies húmiques, que es calcula que tenen una vida mitjana de milers d'anys. Amb això, es tanca el cicle de les oliasses i el reciclatge d'aquestes a través del sòl pot considerar-se complet.

Figura 4.7.33. Aproximació a l'estructura d'un possible fenol polimeritzat present en sòls contaminats per oliassa. El tipus de molècula que és present al sòl pot tenir una estructura similar a la de la figura. La molècula original (no identificable amb el mètode emprat) en ser atacada amb hidròxid sòdic, òxid de coure i sal de Mohr pateix la rotura d'enllaços carboni-oxigen donant com a resultat a diversos fragments com el siríngaldehid, els àcids vainillic i cinàmic, la p-hidroxi 3-metoxiacetofenona i l'àcid oleic. Aquests fragments són fàcilment identificables per GS-MS. ✂ assenyalen els punts de ruptura dels enllaços C-O.



5. CONCLUSIONS

1. Les oliasses són residus aquosos que es caracteritzen per la presència de compostos fenòlics naturals tant simples com polimèrics. Tenen valors baixos de K_{ow} (0,2), per tant són hidròfils, mòbils i amb baixa capacitat per a bioacumular-se. En entrar en contacte amb el sòl, presenten moderada afinitat per a adsorbir-se (K_d entre 2,6 i 23,8), fins i tot en sòls de textura fina i valors baixos de matèria orgànica.
2. Quan s'aporta oliassa al sòl, una part important dels fenols roman a la solució del sòl (17-45%), per tant, és fr̄acta de compostos força biodisponibles. Una altra part s'adsorbeix aniònicament mitjançant la formació de ponts amb cations polivalents i una darrera part interacciona amb la matèria orgànica del sòl mitjançant enllaços covalents. La proporció de cada fracció depèn fonamentalment de les característiques del sòl: pH, textura i matèria orgànica.
3. L'ús de l'aigua permet extractar la fracció de fenols més immediatament biodisponible, mentre que el pirofosfat sòdic amb hidròxid sòdic permet extreure els fenols adsorbits aniònicament (per ponts amb cations) i els dèbilment lligats a la matèria orgànica del sòl, sent bons indicadors de sòls contaminats recentment per oliasses i d'acumulació de compostos fenòlics al sòl, respectivament.
4. **L'abocament massiu i incontrolat** d'oliassa sobre un sòl calcari i de textura fina és ràpidament neutralitzat pels carbonats presents al sòl amb la conseqüent mobilització de carbonats a horitzons inferiors. El pH del sòl augmenta per la formació de carbonats sòdics i potàssics i s'acumula un sediment orgànic a la superfície del sòl ric en sals i fenols. El sòl subjacent s'enriqueix en matèria orgànica, fòsfor, nitrogen i sobretot potassi, que alhora afavoreix el desplaçament del calci del complex de canvi. La qualitat d'aquest sòl es veu greument afectada per la presència de fenols i sals al llarg de tot el perfil, esdevenint fitotòxic.
5. La retirada del sediment orgànic i l'atenuació natural, fan que: al cap de dos anys la salinitat es redueixi un 80% i un 87% els fenols solubles i la fitotoxicitat desaparegui, per rentat i biodegradació. Malgrat això, els valors de fenols solubles i adsorbits són significativament superiors als dels nivells base

per a sòls d'olivera (5,8 mg d'àc. cafeic kg⁻¹ sòl), 6 anys després de la clausura de l'abocador.

6. La simulació en columnes lisimètriques a **dosis agrològiques** ha permès observar que l'aport reiterat (8 cops) d'oliassa a la dosi recomanada (30 m³ ha⁻¹) no provoca canvis significatius en la composició dels lixiviats, fins i tot, en sòls àcids de textura arenosa. L'aportació de dosis d'oliassa equivalents a 180 i 360 m³ ha⁻¹ contaminen les aigües d'infiltració amb sals solubles, matèria orgànica i compostos fenòlics, en cas de sòls granítics. Els sòls calcaris de textura fina admeten aplicacions de 180 m³ ha⁻¹, però no de 360 m³ ha⁻¹.

7. La fitotoxicitat ~~observada~~ en els lixiviats i sòls afectats per l'aportació d'oliassa a dosis agrològiques altes és atribuïble a l'elevada salinitat i a la càrrega orgànica (particularment els fenols).

8. Després de 8 cicles d'aport d'oliassa, ~~únicament~~ entre el 0,1 i el 0,3% dels fenols aportats són lixiviats en el cas del sòl calcari, mentre que en el cas del sòl granític arriben a lixiviar-se'n fins a un 7%. Tot i això, la lixiviació no és pas el factor més rellevant en la dinàmica dels fenols aportats per l'oliassa. L'adsorció pel sòl tant en forma extractable com no, representa entre un 15 i un 42% dels fenols aportats i la degradació pot considerar-se el procés fonamental de la dinàmica dels fenols.

9. L'aportació d'oliassa al sòl a dosis agrològiques en modifica algunes propietats d'aquest, fet que s'ha posat de manifest tant en l'assaig en columnes lisimètriques com en l'experiment de camp. S'observa un lleuger increment del pH, el contingut en matèria orgànica i nitrogen, però l'augment d'activitat biològica provoca la immobilització del nitrat del sòl. Aquest darrer fenomen és reversible i a mig termini, els valors de nitrats del sòl es recuperen. Les oliasses també es comporten com un bon fertilitzant potàssic i fosfatat, si bé, queda retingut superficialment precipitat en forma de fosfat tricàlcic (sòl calcari), o bé s'adsorbeix als òxids de ferro i argiles (sòl granític).

10. Els lixiviats de sòls adobats amb dosis d'oliassa de fins $360 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ presenten baixes concentracions de nitrats i fosfats, de manera que no suposen un risc elevat d'eutrofització d'aigües.

11. L'acumulació de sals solubles és un dels factors limitants a l'hora d'aplicar oliasses en sòls, especialment en zones àrides o amb la capacitat de drenatge reduïda. En sòls amb règims d'humitat xèric les sals aportades per l'aportació d'oliassa fins $360 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ són fàcilment rentades a mig termini.

12. L'aport d'oliassa al sòl també modifica les propietats biològiques, s'incrementa l'activitat biològica gràcies a l'aport de matèria orgànica làbil i nutrients. L'increment relatiu és més marcat en sòls amb baixa activitat.

13. Els compostos fenòlics de l'oliassa són ràpidament biodegradats (d'un 70 a un 89% en 14 dies) en condicions adequades (50% de la CC i 30°C) obeint a una cinètica de 1er ordre i amb taxes de degradació entre $-0,018$ i $-0,031$ dies⁻¹. Això permet sanejar per via biològica sòls contaminats de forma massiva amb oliassa, obtenint la màxima eficàcia quan es fertilitza amb nitrogen (C/N de 12). La fertilització amb fòsfor no s'estima necessari donat que l'oliassa ja n'aporta en quantitat suficient. Les condicions d'humitat compreses entre el 50 i el 100% de la CC i a la temperatura de 30°C són les més adequades. També s'observa biodegradació a temperatures inferiors (15°C).

14. Per a la identificació dels compostos fenòlics de la fracció soluble del sòl ha estat molt útil la cromatografia de gasos acoblada a un detector de masses. La fracció soluble de sòls recentment contaminats conté, tant fenols solubles com de polimeritzats, similars als de l'oliassa. En canvi, en sòls amb contaminació menys recent, la majoria es troben polimeritzats. Alguns processos que s'esdevenen al sòl, són capaços de modificar-ne l'estructura i ser emprats com a precursors de les substàncies húmiques del sòl. Per a la despolimerització dels fenols i la seva identificació, ha estat molt útil l'atac dels extractes aquosos amb hidròxid sòdic, òxid de coure i sal de Mohr.

15. Per a l'adequada utilització agrològica d'oliassa es recomana no aplicar poc abans de la germinació, en èpoques de màxima necessitat de nitrogen ni a

conreus herbacis, més sensibles a la fitotoxicitat. Cal evitar la utilització en sòls àcids o amb textura sorrenca, essent més recomanable l'aplicació a sòls calcaris de textura fina i amb nivells freàtics prou profunds, fins a dosis de $180 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$, excepte en zones àrides o d'alt risc de salinització.

6. BIBLIOGRAFIA

Agencia del Medio Ambiente. 1992. Alpechines: situación actual de las tecnologías de depuración, Consejería de Cultura y Medio Ambiente, Junta de Andalucía, Dpto. de Investigación, informe nº 6/92. Sevilla, Espanya.

Agencia del Medio Ambiente. 1992. Medio ambiente en Andalucía. Informe 1991. Consejería de Cultura y Medio Ambiente. Junta de Andalucía. Sevilla, Espanya.

Agencia del Medio Ambiente. 1995. Medio ambiente en Andalucía. Informe 1994. Consejería de Cultura y Medio Ambiente. Junta de Andalucía. Sevilla, Espanya.

Agteren, M., Keuning, S. i Jansen, D. 1998. Handbook on biodegradation and biological treatment of hazardous organic compounds. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. Boston. Londres.

Albi, M.A. i Fiestas, J.A. 1960. "Estudio del alpechín para su aprovechamiento industrial. Ensayos efectuados para su posible utilización como fertilizante. Grasas y Aceites. Vol. 11, Nº 3. Pàg: 123-124.

Alexander, M. 1977. Introduction to soil microbiology. John Wiley and Sons, Nova York.

Alexander, M. 1994. Biodegradation and bioremediation. Academic Press, San Diego.

Alexander, M.. 2001. "Bioavailability of organic compounds sequestered in soils." A: Treatment of contaminated soil. Fundamentals, Analysis, Applications. R. Stegmann, G. Brunner, W. Calmano, G. Matz (Ed.) Springer. Pàg: 197-202.

Allison, F.E. 1973. Soil organic matter and its role in crop production. Scientific Publ. Co. Amsterdam, London, New York.

Amat, A.M., Arqués, A. i Miranda, M.A. 1999. "*p*-Coumaric acid photodegradation with solar light, using a 2,4,6-triphenylpyrylium salt as photosensitizer. A comparison with other oxidation methods". Applied Catalysis B: Environmental. Vol. 23. Pàg: 205-214.

Amhajji, A., El-Jalil, M.H., Faid, M., Vassel, J.L. i El-Yachoui, M. 2000. "Polyphenol removal from olive mill waste waters by selected mould strains". Grasas y Aceites. Vol. 51, Nº 6. Pàg: 400-404.

Amiot, M.J., Fleuriet, A. i Macheix, J.J. 1986. "Importance and evolution of phenolic compounds in olive oil during growth and maturation". J. Agric. Food Chem. Vol. 34. Pàg: 823-826.

Anderson, J. P. E. i K. H. Domsch. 1978. "A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils". Soil Biology and Biochemistry. Vol. 14. Pàg: 273-279.

Anderson, J. P. E. 1982. "Soil respiration". A: Page, A. L. (Ed). Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy Inc. Pàg: 827-871.

Androulaki, E., Hiskia, A., Dimotikali, D., Minero, C., Calza, P., Pelizzetti, E. i Papaconstantinou, E. 2000. "Light induced elimination of mono- and polychlorinated phenols from aqueous solutions by PW12O403-. The Case of 2,4,6-Trichlorophenol". Environmental Science and Technology. Vol 34. Pàg: 2024-2028

- Angerosa, F., d'Alessandro, N., Konstantinou, P. i Di Giacinto, L. 1995. "GC-MS Evaluation of phenolic compounds in virgin olive oil". *J. Agric. Food. Chem.* Vol. 43. Pàg: 1802-1807.
- Aragón J.M. 2000. Project Improlive final report, annex 2. "Improvements of treatments and validation of the liquid-solid waste from the two-phase olive oil extraction". Febrer. Pàg: 1-72.
- Arjona, R., García, A. i Ollero, P. 1999. "The drying of alpeorujo, a waste product of olive oil mill industry". *J. of Food Engineering.* Vol. 41. Pàg: 229-234.
- Asante-Duah, Kofi, D. 1993. "Hazardous waste risk assessment" (Ed). Kofi Asante-Duah." A: Risk assesement techniques and methods of approach, Cap. 5, Pàg: 59-152.
- Association of Official Analytical Chemists. 1965. Official methods of analysis. 10^a Ed., AOAC, Washington, D.C.
- ASTM. 1998. Standard guide for remediation of ground water by natural attenuation at petroleum release sites. Designation E 1943-98 American Society for Testing and Materials, West Conshohocken, PA. Gerth, J., Dankwarth, F. i Förstner, U. 2001. "Natural attenuation of inorganic pollutants- a critical view". A: Treatment of Contaminated Soil. Fundamentals, Analysis, Applications. R. Stegmann, G. Brunner, W. Calmano, G. Matz (Ed.). Springer. Pàg: 603-614.
- Atlas, R.M. i Bartha, R. 1992. *Microbial Ecology: fundamentals and applications.* Macmillan. Nova York.
- Baker, K.H. 1994. "Bioremediation of surface and subsurface soils". A: Bioremediation. K.H. Baker i D.S. Herson (Ed.) McGraw-Hill, Nova York. Pàg: 203-259.
- Balice, V. i Cera, O. 1984. "Acid phenolic fraction of the olive vegetation water determined by a gas chromatographic method". *Grasas y Aceites.* Vol. 35. N° 3. Pàg: 178-180.
- Bambalov, G.S., Tanchev, S. i Israelidis, C.J. 1989. "Alcohol fermentation in olive oil extraction effluent". *Biol. Wastes.* Vol. 27. Pàg: 71-75.
- Barniol i Garriga, J. i Comas i Angelet, J. 1994. "La problemàtica de les oliasses a Catalunya, estudi econòmic de les diferents alternatives per a la seva eliminació". Federació de Cooperatives Agràries de Catalunya. III Congrés de la ICEA. Girona.
- Barták, P. i Cáp, L. 1997. "Determination of phenols by solid-phase microextraction.", *Journal of Chromatography A.* Vol. 767. Pàg: 171-175.
- Barz, W i Weltring, K.M. 1985. "Biodegradation of aromatic extractives of wood". A: Biosynthesis and biodegradation of wood components. Higuchi, T. (Ed.). Academic Press. Nova York. Pàg: 607-662.
- Bate-Smith, E.C. 1973a. "Tannins of herbaceous legumes". *Phytochemistry*, 12. Pàg: 1809-1812.
- Bate-Smith, E.C. 1973b. "Haemanalysis of tannins: the concept of relative astringency". *Phytochemistry.* Vol. 12. Pàg: 907-912.
- Beccari, M., Bonemazzi, F., Majone, M. i Riccardi, C. 1996. "Interaction between acidogenesis and methanogenesis in the anaerobic treatment of olive oil mill effluents", *Wat. Res.* Vol. 30, N° 1. Pàg: 183-189.

- Bekkara, F., Jay, M., Viricel, M.R. i Rome, S. 1998. "Distribution of phenolic compounds within seed and seedlings of two *Vicia faba* cvs differing in their seed tannin content, and study of their seed and root phenolic exudations". *Plant and Soil*. Vol. 203. Pàg: 27-36.
- Bending, G.D. i Read, D.J. 1996. "Nitrogen mobilization from protein-polyphenol complex by ericoid and ectomycorrhizal fungi". *Soil Biol. Biochem.*, Vol. 28. N° 12, Pàg: 1603-1612.
- Bending, G.D. i Read, D.J. 1997. "Effects of the soluble polyphenol tannic acid on the activities of ericoid and ectomycorrhizal fungi". *Soil Biol. Biochem.* Vol.28, N° 12. Pàg: 1595-1602.
- Benítez, F.J., Beltrán-Heredia, J., Acero, J.L. i Pinilla, M. 1997. "Simultaneous photodegradation and ozonation plus UV radiation of phenolic acids-major pollutants in agro-industrial wastewater", *J. Chem. Technol. Biotechnol.* Vol. 70. Pàg: 253-260.
- Benítez, F.J., Beltrán-Heredia, J., Torregrosa, J., Acero, J.L. i Cercas, V. 1997a. "Aerobic degradation of olive mill wastewaters", *Applied Microbiol. & Biotechnol.* Vol. 47. Pàg: 185-188.
- Benítez, F.J., Beltrán-Heredia, J., Torregrosa, J., Acero, J.L. i Cercas, V. 1997b. "Chemical pretreatment by ozone of wastewaters from olive oil mills", *Toxicol. Environ. Chem.* Vol. 60. Pàg: 97-109.
- Berggren, D. i Mulder, J. 1995. "The role of organic matter in controlling aluminum solubility in acidic mineral soil horizons", *Geochimica and Cosmochimica Acta.* Vol. 59. Pàg: 4167-4180.
- Bernal, M.P., Sánchez-Monedero, M.A., Paredes, C. i Roig, A. 1998. "Carbon mineralization from organic wastes at different composting stages during their incubation with soil", *Agriculture, Ecosystems and Environment.* Vol. 69. Pàg: 175-189.
- Berry, D.F. i Boyd, S.A. 1984. "Oxidative coupling of phenols and anilines by peroxidase: structure-activity relationships", *Soil Sci. Soc. Am. J.* Vol. 48. Pàg: 565-569.
- Black, C.A. 1965. *Methods of soil Analysis part 2.* American Society of Agronomy, Inc., Publisher. Madison.
- Blum, U., Worsham, A.D., King, L.D. i Gerig, T.M. 1994. "Use of water and EDTA extractions to estimate available (free and reversibly bound) phenolic acids in Cecil soils". *Journal of Chemical Ecology*, Vol. 20, N° 2. Pàg: 341-357.
- Blum, U. 1997. "Benefits of citrate over EDTA for extracting phenolic acids from soils and plant debris". *Journal of Chemical Ecology*, Vol. 23, N° 2. Pàg: 347-361.
- Blum, U., Gerig, T.M., Worsham, A.D., Holappa, L.D. i King, L.D. 1992. "Allelopathic activity in wheat-conventional and wheat-no-till soils: development of soil extract bioassays", *Journal of Chemical Ecology.* Vol. 18, N° 12. Pàg: 2191-2219.
- Blum, U., Wentworth, T.R., Klein, K., Worsham, A.D., King, L.D., Gerig, T.M. i Lyu, S.W. 1991. "Phenolic acid content of soils from wheat-no-till, wheat-conventional till, and fallow-conventional till soybean cropping systems". *Journal of Chemical Ecology.* Vol. 17, N° 6. Pàg: 1045-1066.

- Blum, W.E.H. 1998. "Basic concepts: Degradation, Resilience and Rehabilitation." A: Methods for assessment of soil degradation. R. Lal, W.H. Blum, C. Valentine, B.A. Stewart. CRC Press.
- Boari, G., Mancini, I.M. i Trulli, E. 1993. "Anaerobic digestion of olive oil mill effluent pretreated and stored in municipal solid waste sanitary landfills". Vol. 28, N° 2. Pàg: 27-34.
- Bollag, J.M. i Bollag, W.B. 1990. "A model for enzymatic binding of pollutants in the soil". Intern. J. Environ. Anal. Chem. Vol. 39. Pàg: 147-157.
- Bollag, J.M. i Loll, M.J. 1983. "Incorporation of xenobiotics into soil humus", *Experientia*. Vol. 39. Pàg: 1221-1231.
- Bollag, J.M., Myers, C.J. i Minard, R.D. 1992. "Biological and chemical interactions of pesticides with soil organic matter". *Sci. Total Environ.* Vol. 123/124. Pàg: 205-217.
- Borja, R., Alba, J. i Banks, C.J. 1997. "Impact of the main phenolic compounds of olive mill wastewater (OMW) on the kinetic acetoclastic methanogenesis". *Process Biochem.* Vol. 32. Pàg: 121-133.
- Borja, R., Garrido, S.E., Martínez, L., Ramos-Cormenzana, A. i Martín, A. 1993. "Kinetic study of anaerobic digestion of olive mill wastewater previously fermented with *Aspergillus terreus*", *Process Biochem.* Vol. 28. Pàg: 397-404.
- Borja, R., Martín, A. i Fiestas, J.A. 1990. "Estudio cinético de la depuración anaeróbica del alpechín en presencia de diversos soportes para inmovilización de los microorganismos responsables del proceso". *Grasas y Aceites*. Vol. 41. Pàg: 347-356.
- Borja, R., Martín, A., Alonso, V., García, I. i Banks, C.J. 1995. "Influence of different aerobic pretreatments on the kinetics of anaerobic digestion of olive mill wastewater". *Wat. Res.* Vol. 29, N° 2. Pàg: 489-495.
- Borja, R., Martín, A., Banks, C.J., Alonso, V. i Chica, A. 1995. "A kinetic study of anaerobic digestion of olive mill wastewater at mesophilic and thermophilic temperatures". *Environmental Pollution*. Vol. 88. Pàg: 13-18.
- Bouchez, M., Blanchet, D. i Vandecasteele, J.-P. 1995. "Substrate availability in phenanthrene biodegradation: transfer mechanism and influence on metabolism". *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol. 43. Pàg: 952-960.
- Boulding, R. 1995. *Practical handbook of soil, vadose zone and ground water contamination: assessment, prevention and remediation*. CRC Press, Inc., Florida.
- Box, J.D. 1983. "Investigation of the Folin-Ciocalteu phenol reagent for the determination of polyphenolic substances in natural waters". *Water Res.* Vol. 17, N° 5. Pàg: 511-525.
- Brenes-Balbuena, M., García García, P. i Garrido Fernández, A. 1992. "Phenolic compounds related to the black colour formed during the processing of ripe olives". *J. Agric. Food Chem.* Vol. 40. Pàg: 1192-1196.
- Burns, R.E. 1971. "Method for estimation of tannin in grain sorghum". *Agronomy Journal*. Vol. 63. Pàg: 511-512.
- Burtscher, E., Binder, H., Concini, R. i Bobleter, O. 1982. "Separation of phenols, phenolic aldehydes, ketones and acids by high-performance liquid chromatography". *J. of Chromatography*. Vol. 252. Pàg: 167-176.

- Cabrera, F., López, R., Martínez-Bordiú, A., Dupuy de Lome, E. i Murillo, J.M. 1996. "Land treatment of olive oil mill wastewater". *International Biodeterioration & Biodegradation*. Pàg: 215-225.
- Cabrera, F., Soldevilla, M., Osta, F. i Arambarri, P. 1986. Interacción de cobre y alpechines. *Limnética*. Vol.2. Pàg: 311-316.
- Calderbank, A. 1994. "The consequences of bound pesticide residues in soil". A: *Ecotoxicology of soil organisms*. Cap. 3, Ed. M.H. Donker, H. Eijsackers i F. Heimbach. CRC Press. Inc, USA.
- Capasso, R., Cristinzio, G., Evidente, A. i Scognamiglio, F. 1992. "Isolation, spectroscopy and selective phytotoxic effects of polyphenols from vegetable waste waters". *Phytochemistry*. Vol. 31, N° 12. Pàg: 4125-4128.
- Capasso, R., Evidente, A., Schivo, L., Orru, G., Marcialis, M.A. i Cristinzio, G. 1995. "Antibacterial polyphenols from olive oil mill waste waters". *J. of Appl. Bacteriol.* Vol. 79. Pàg: 393-398.
- Caro, M. de i Galamini Ligori, M. 1959. "Attività antibiotica di un estratto desunto dalle acque di vegetazione delle olive". *Rend. Ist. Super. Sanita.* Vol. 22. Pàg: 223-243.
- Carola, C., Arpino, A. i Lanzani, 1975. "Lo smaltimento della acque di vegetazione provenienti dagli impianti di estrazione dell'olio dalle olive a estudio della loro possibile utilizzazione". *Riv. Ital. Sostanze Grasse*. Vol. 52. Pàg: 335-340.
- Carrieri, C. 1978. "Ultrafiltration of vegetation waters from olive oil extraction plants. I. Preliminary experiences". *Oli Grassi Derivati*. Vol. 14. Pàg: 29-32.
- Casa, R., D'Annibale, A., Pieruccetti, F., Stazi, S.R., Giovannozzi Sermanni, G. i Lo Cascio, B. 2003. "Reduction of the phenolic components in olive-mill wastewater by an enzymatic treatment and its impact on durum wheat (*Triticum durum* Desf.) germinability". *Chemosphere*. Vol. 50. Pàg: 959-966.
- Castro, A. de i Brenes, M. 2001. "Fermentation of washing waters of Spanish-style green olive processing". *Process Biochemistry*. Vol. 36. Pàg: 797-802.
- Cheng, H.H. i Mulla, D.J. 1999. "The soil environment". A: *Bioremediation of contaminated soils*. Coed. D.C. Adriano, J.M. Bollag, W.T. Frankenberger, Jr. i R.C. Sims, Agronomy (Vol. 37). Madison, Wisconsin. USA.
- Chiou, C.T. i Shoup, T.D. 1985. "Soil Sorption of Organic Vapors and Effects of Humidity on Sorptive Mechanism and Capacity". *Environ. Sci. Technol.* Vol. 19. Pàg: 1196-1200.
- Choi, J. i Aomine, S. 1974. "Mechanisms of pentachlorophenol adsorption by soils". *Soil Sci. Plant. Nutr.* Vol. 20, N° 4. Pàg: 371-379.
- Christensen, T.H., Bjerg, P.L. i Kjeldsen, P. 2000. "Difficulties in applying natural attenuation in remediation of leachate plumes.". A: *Contaminated Soil 2000: Theme F8*, Vol. 2, Pàg: 1082-1089. Leipzig. Alemany.
- Civantos, L. 1995. "Evolución de la superficie del olivar y de las producciones del aceite de oliva en España". *Olivae*. Vol. 59. Pàg: 18.
- Clark, M.M. 1996. *Transport modeling for environmental engineers and scientist*. John Wiley and Sons, New York.

Conrad D. i Huck P. 1996. "Chlorination by-products from ferulic acid (a lignin model compound) and biologically treated thermomechanical pulp mill effluents". *Water Research*. Vol 30, N°11. Pàg: 2776-2784.

Consejo Oleicola Internacional (COI). 1981. "Características de la composición de los aceites de oliva", *Informaciones Técnicas del COI*. SP/T N° 9, 50 p (Ejemplar mecanografiado).

Constantinides, M. i Fownes, J.H. 1994. "Nitrogen mineralization from leaves and litter of tropical plants: relationship to nitrogen, lignin and soluble polyphenol concentrations". *Soil Biol. Biochem.* Vol. 26, N° 1. Pàg: 49-55.

Cotrim da Cunha, L., Serve, L., Gadel, F. i Blazi, J.L. 2001. "Lignin-derived phenolic compounds in the particulate organic matter of a French Mediterranean river: seasonal and spatial variations". *Organic Geochemistry*. Vol. 32. Pàg: 305-320.

Crawford, R.L. 1981. *Lignin biodegradation and transformation*. John Wiley & Sons. New York.

D'Annibale, A., Crestini, C., Vinciguerra, V. i Sermanni, G.G. 1998. "The biodegradation of recalcitrant effluents from an olive mill by a white-rot fungus". *Journal of Biotechnology*. Vol. 61. Pàg: 209-218.

D'Annibale, A., Stazi, S.R., Vinciguerra, V., Di Mattia, E. i Sermanni, G.G. 1999. "Characterization of immobilized laccase from *Lentinula edodes* and its use in olive-mill wastewater treatment". *Process Biochemistry*. Vol. 34. Pàg: 697-706.

Dalton, B.R., Blum, U. i Weed, S.B. 1983. "Differential sorption of exogenously applied ferulic, *p*-Coumaric, *p*-Hydroxybenzoic, and vanillic acids in soils". *Soil Sci. Soc. Am. J.* Vol. 53. Pàg: 757-762.

Dalton, B.R., Blum, U. i Weed, S.B. 1989. "Allelopathic Substances in Ecosystems: Effectiveness of Sterile Soil Components in Altering Recovery of Ferulic Acid". *Journal of Chemical Ecology*. Vol. 9, N° 8. Pàg: 1185-1199.

Dalton, B.R., Weed, S.B. i Blum, U. 1987. "Plant phenolic acids in soils: a comparison of extraction procedures". *Soil Sci. Am. J.* Vol. 51. Pàg: 1515-1521.

Decret 290/1994, de 29 de setembre, (DOGC número 1973, del 16 de novembre de 1994), sobre normes addicionals d'autorització d'almàsseres.

Della Monica, M., Agostiano, A., Potenz, D., Righetti, E. i Volpicella, M. 1980. "Degradation treatment of waste water from olive processing". *Water, Air and Soil Pollution*. Vol. 13, N° 2. Pàg: 251-256.

Della Monica, M., Potenz, D., Righetti, E. i Volpicella, M. 1978. "Effetto inquinante delle acque reflue della lavorazione delle olive su terreno agrario. 1. Evoluzione del pH, dei composti azotati e dei fosfati". *Inquinam.* Vol. 22. Pàg: 81.

Della Monica, M., Potenz, D., Righetti, E. i Volpicella, M. 1979. "Effetto inquinante delle acque reflue della lavorazione delle olive su terreno agrario. 2. Evoluzione dei lipidi, dei polifenoli e delle sostanze organiche in generale". *Inquinam.* Vol. 23. Pàg: 27.

Departament d'Agricultura, Ramaderia i Pesca. 1993. "L'Agricultura a les comarques de Catalunya". Generalitat de Catalunya.

Departament d'Agricultura, Ramaderia i Pesca. 1999. "Estadístiques agràries i pesqueres de Catalunya". Generalitat de Catalunya.

- Diputació de Barcelona. 1987. Catàleg de sòls de la circumscripció de Barcelona. Terme municipal de Sant Boi de Llobregat.
- Doran, J.W. i Parkin, T.B. 1994. "Defining and assessing soil quality". A: J.W. Doran et al. (Ed.) Defining soil quality for a sustainable environment. SSSA Spec. Publ. 43. Madison WI. Pàg: 3-21.
- Dupuy de Lome, E. i Martínez-Bordiu, A. 1991. "Investigación sobre eliminación de residuos líquidos de la fabricación de aceite ("alpechines") mediante su infiltración en suelos margo-calizos". Mapfre Seguridad. N° 41, Primer Trimestre.
- Durán, N. i Espósito, E. 2000. "Potential applications of oxidative enzymes and phenoloxidase-like compounds in wastewater and soil treatment: a review". Applied Catalysis B. Environmental. Vol. 28. Pàg: 83-99.
- Efroymsen, R.A. i Alexander, M. 1991. "Biodegradation by an Arthobacter species of hydrocarbons partitioned into an organic solvent". Appl. Environ Microbiol. Vol. 57. Pàg: 1441-1447.
- Eisert, R. i Pawliszym, J. 1997. "Automated in-tube solid phase microextraction coupled to high-performance liquid chromatography". A: J. Anal. Chem. Vol 69. Pàg: 3140-3147.
- Emerson, E. 1943. "The condensation of aminoantipyrine. A new colour test for phenolic compounds". J. Org. Chem. Vol. 8. Pàg: 417-428.
- EPA-US. 1986. Method 3500. Organic extraction and sample preparation.
- EPA-US. 1986. Method 9066. Phenolics (colorimetric, automated 4-AAP with distillation).
- EPA-US. 1986. Method 9067 Phenolics (spectrophotometric, MBTH with distillation).
- Ergüder, T.H., Güven, E. i Demirer, G.N. 2000. "Anaerobic treatment of olive mill wastes in batch reactors". Process Biochemistry. Vol. 36. Pàg: 243-248.
- Eschenbach, A., Mescher, H., Wienberg, R. i Mahro, B. 2001. "Humification of PAH and TNT during bioremediation - Evaluation of long term risk and sustainability". A: Treatment of contaminated soil. Fundamentals, Analysis, Applications. R. Stegmann, G. Brunner, W. Calmano, G. Matz (Ed.). Springer. Pàg: 271-291.
- Escolano Bueno, A. 1975. "Ensayos de eliminación de alpechines por vertido en balsas o lagunas para su infiltración y evaporación". Grasas y Aceites. Vol. 26. N° 6.
- Espuny Rodríguez, A., "Subproductos y residuos de almazara. Una estrategia integral para los subproductos y residuos de almazara". VIII Simposio Científico-Técnico, Expoliva 97, Fundación del Olivar, 2-3 octubre 1997. Jaén, Espanya.
- Esteban, L. 1993. "La espectrometría de masas en imágenes". Pàg:119-190. ACK Comunicació.
- FAO-UNESCO. 1998. World reference base for soil resources. Roma.
- FAOSTAT database 2000. A: <http://apps.fao.org/default.htm>.
- Fedeli, E. 1986. "New perspectives for vegetation water and olive residue use". A: International Symposium on Olive by Products Valorization. Ed. FAO, Madrid, Pàg: 229-261.

- Felipó, M.T. i Garau, M.A. 1987. La contaminació del sòl. Quaderns d'ecologia aplicada. Diputació de Barcelona, Servei de Medi Ambient. Barcelona, Espanya.
- Fernández-Bolaños, J., Fernández, M.J., Rivas, M., Gil, A. i Pérez, T. 1983. "Azúcares y polioles en aceitunas verdes. III. Determinación cuantitativa por cromatografía gas líquido". *Grasas y Aceites*. Vol. 34. Pàg: 168-171.
- Ficarra, P., Ficarra, R., De Pasquale, A., Monforte, M.T. i Calabro, M.L. 1991. "HPLC analysis of oleuropein and some flavonoids in leaf and bud of *Olea europaea* L". *Farmaco*. Vol. 46. Pàg: 803-815.
- Fidalgo Bravo, D. 1976. "La contaminación del río Guadalquivir". Ponencia a XII Asamblea de Miembros del Instituto de la Grasa. Sevilla.
- Fiestad, H.O., Ott, C.E. i Gunther, 1969. "Automated colorometric mino determining of phenol by oxiditive coupling with 3-methyl-benzothiczinone hydrazone". *Technicon International Congress*.
- Fiestas Ros de Ursinos, J.A.. 1958. *Bol. Oleicultura Int*. Vol. 8, N° 43. Pàg: 27-98.
- Fiestas Ros de Ursinos, J.A. 1977. "Depuración de aguas residuales en las industrias de aceitunas y aceites de oliva". *Grasas y Aceites*. Vol. 28, N° 2. Pàg: 113-120.
- Fiestas Ros de Ursinos, J.A., Navarro Gamero, R., León Cabello, R., García Buendía, A.J. i Maestrojuán Sáez de Jáuregui, G.M. 1982. "Depuración anaerobia del alpechín como fuente de energía". *Grasas y Aceites*. Vol. 33, N° 5. Pàg: 265-270.
- Fiestas Ros de Ursinos, J.A. i Borja-Padilla, R. 1996. "Biomethanization". *International Biodeterioration & Biodegradation*. Vol. 38, 3-4. Pàg: 145-153.
- Fiestas, J.A. 1953. "Estudios del alpechín para su aprovechamiento industrial. I. Concentración de los azúcares y demás sustancias que llevan en emulsión y disolución por tratamiento con óxido de calcio". *Grasas y Aceites*. Vol 9. Pàg: 63-67.
- Fiestas, J.A. 1959. "Estudios del alpechín para su aprovechamiento industrial. Separación de algunos de sus componentes e identificación de los ácidos orgánicos por cromatografía de partición". *Grasas y Aceites*. Vol. 10. Pàg: 30-34.
- Fiestas, J.A. 1982. "El alpechín como fertilizante". XVIII Reunión Plenaria de la Asamblea de Miembros del Instituto de la Grasa y sus Derivados. Sevilla.
- Fiestas, J.A. 1986. "Vegetation water used as fertilizer". *Int. Symp. Olive B-Products Valorization*. Pàg: 355-357. Sevilla, Espanya. FAO.
- Fiestas, J.A. i Borja, R. 1989. "Aprovechamiento y depuración del alpechín mediante la obtención de biomasa lipoproteica y estabilización bioquímica". *Jornadas sobre Innovación Tecnológica, Medio Ambiente y Desarrollo*. Instituto de la Grasa y sus Derivados. Sevilla, Espanya.
- Fiestas, J.A. i Borja, R. 1990. "Tecnología e instalaciones disponibles para la depuración de alpechines: tratamiento de alpechines mediante procesos microbiológicos". *Reunión Internacional sobre Tratamiento de Alpechines*. Córdoba, Espanya.
- Fiestas, J.A., Martín, A. i Borja, R. 1990. "Influence of immobilization supports on the kinetic constants of anaerobic of oil purification of olive mill waste water". *Biological Wastes*. Vol. 33. Pàg: 131-142.

- Flaig, W., Beutelspacher i Rietz, E. 1975. Chemical composition and Physical properties of humic substances. A: Soil Components. Vol. 1, Organic Components, Ed. J.E. Gieseking. Springer-Verlag, Nova York, Inc.
- Flaig, W. 1964. "Effects of microorganisms in the transformation of lignin to humic substances". *Geochim. Et Cosmochim. Acta*. Vol. 28. Pàg: 1523.
- Fleming, H.P., Walter, W.M. i Etchells, J.L. 1973. "Antimicrobial properties of oleuropein and products of its hydrolysis from green olives". *J. Appl. Microbiol.* Vol. 26. Pàg: 777-782.
- Flouri F., Chatjipavlidis C., Balis C., Servis D y Tjerakis C. 1990. "Effect of olive oil mills liquid wastes on soil fertility" Reunión Internacional sobre tratamiento de Alpechines. Córdova, Espanya.
- Folin, O. i Ciocalteau, V. 1927. "On tyrosine and tryptophane determinations in proteins". *J. Biol. Chem.* Vol. 12. Pàg: 239-243.
- Folin, O. i Denis, W. 1912. "On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as colour reagents". *J. Biol. Chem.* Vol. 73. Pàg: 627-650.
- Förstner, U. i Gerth, J. 2001. "Natural attenuation- Non-destructive processes". A: Treatment of Contaminated Soil. Fundamentals, Analysis, Applications. R. Stegmann, G. Brunner, W. Calmano, G. Matz (Ed.). Springer. Pàg: 568-586.
- Fountoulakis, M.S., Dokianakis, S.N., Kornaros, M.E., Aggelis, G.G. i Lyberatos, G. 2002. "Removal of phenolics in olive mill wastewater using the white-rot fungus *Pleurotus ostreatus*". *Water Research*. Vol. 36. Pàg: 4735-4744.
- Franziona, G., Telch, C. i Vigilia, A. 1986. "Cryogenesis applied for vegetation water: treatment and nutritional value of the final product". A: International Symposium on Olive By Products Valorization. Ed. FAO. Madrid. Pàg: 285-298.
- Fukuzumi, T. 1981. "Microbial decolorization and defoaming of pulping waste liquors". A: Kirk, T.K., Higuchi, T., Chang, H., Linging, Biodegradation: Microbiology, Chemistry and Potential Applications. Vol. II. Pàg: 161-177.
- Fürh, F. 1987. "Non extractable pesticide residues in soil". A: Pesticide and biotechnology. Greenhalgh R., Roberts T.R. (Eds.). Proc. 6th Congr. Pestic. Chem., IUPAC, Blackwell Scientific Publication, London. UK. Pàg: 381-389.
- Gallet, C. i Keller, C. 1999. "Phenolic composition of soil solutions: comparative study of lysimeter and centrifuge waters". *Soil Biol. Biochem.* Vol. 31. Pàg: 1151-1160.
- García, P., Garrido, A., Chackman, A., Lemonier, J.P., Overend, R.P. i Chornet, E. 1990. "Aplicación de la tecnología Jet-Reactor a la oxidación húmeda de las aguas residuales de las industrias derivadas del olivo". *Grasas y Aceites*. Vol. 41. Pàg: 158-162.
- García-Barrionuevo, A., Moreno, E., Quevedo-Sarmiento, J., González-López, J. i Ramos-Cormenzana, A. 1992. "Effect of wastewaters from olive oil mills (alpechín) on *Azotobacter* nitrogen fixation in soil". *Soil Biol. Biochem.* Vol. 24, N° 3. Pàg: 281-283.
- García-Ortiz, A., Giráldez, J.V., González, P. i Ordóñez, R. 1995. "El riego con alpechín, una alternativa al lagunaje". *Comunicación Agroalimentaria I+D 17/95*. Dirección General de Investigación Agraria. Junta de Andalucía. Sevilla.
- García-Pareja, M.P., Monteoliva-Sánchez, M., García de la Paz, A.M., Corominas, E., Pérez, M.L. i Ramos-Cormenzana, A. 1987. "Characterization of bacteria with phenol-

- oxidase activity from soil in the La Laguna Area (Spain)". *Chemosphere*. Vol. 16, Nº 10-12. Pàg: 2627-2630.
- García-Rodríguez, A., 1990. Eliminación y aprovechamiento agrícola del alpechín. Usos agrícolas e industriales de efluentes de industrias oleícolas. Reunión Internacional sobre tratamiento de alpechines, 3ª Sesión, 3ª Ponencia, Córdoba, 31 mayo-1 junio.
- Garrido Fernández, A. i Fernández Díez, M.J. 1972. "Aceitunas negras de mesa. Evolución de las principales características durante el desarrollo y maduración". *Grasas y Aceites*. Vol. 23. Pàg: 309-318.
- Garrido-Fernández, A. i Vaughn, R.H. 1978. "Utilization of oleuropein by microorganisms associated with olive fermentation". *Can. J. Microbiol.* Vol. 24. Pàg: 680-684.
- Gerth J., Dankwarth F. i Förstner. 2001. "Natural attenuation of inorganic pollutants, a critical view". A: *Treatment of Contaminated Soil*. Ed. Stegman R, Brunner G., Calmano W. i Matz G. Springer- Verlag, Berlin. Pàg: 603-614.
- Gibbs, H.D. 1927. "Phenol Test III. The Indophenol test". *J. Biol. Chem.* Pàg: 91-445.
- Gibson, D.T i Subramanian, V. 1984. "Microbial degradation of aromatic hydrocarbons". A: Gibson, D.T. (Ed.). *Microbial degradation of organic compounds*. Marcel Dekker, Inc. New York. Pàg: 181-252
- Glass, A.D.M. 1973. "Influence of phenolics acids on ion uptake". *Plant Physiol.* Vol. 51. Pàg: 1037-1041.
- González, L., Bellido, E. i Benítez, C. 1994. "Reduction of total polyphenols in olive mill wastewater by physico-chemical purification". *J. Environ. Sci. Health.* Vol. 29A. Pàg: 851-865.
- González, M.D., Moreno, E., Quevedo-Sarmiento, J. i Ramos-Cormenzana, A. 1990. "Studies on antibacterial activity of waste waters from olive oil mills (alpechín): inhibitory activity of phenolic and fatty acids". *Chemosphere*. Vol. 20, Nº 3-4. Pàg: 423-432.
- González-Vila F.J., Verdejo, T., Del Río, J.C. i Martín F. 1995. "Accumulation of hydrophobic compounds in the soil lipidic and humic fractions as result of a long term land treatment with olive oil mill effluents (alpechín)". *Chemosphere*. Vol 31, Nº 7. Pàg: 3681-3686.
- Greenland, D.W. 1970. "Sorption of organic chemicals by clays and soils". A: *Sorption and transport processes in soils*. Soc. of Chem. Ind., London.
- Guenzi, W.D. i McCalla, T.M. 1966. "Phytotoxic substances extracted from soil". *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* Vol. 30. Pàg: 214-216.
- Guigou, B., Thonnellier, B., Duzan, B. i Félix-Faure, B. 1989. "Pour valoriser les analyses du sol". *Purpan*. Vol. 134. Pàg: 3-88.
- Hagerman, A.E. i Butler, L.G. 1980. "Determination of protein in tannin-protein precipitates". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 28. Pàg: 944-947.
- Haider K., Martin J.P. i Filip, Z. 1974. "Humus biochemistry". A: *Soil Biochemistry* (E.A. Paul and M.D. McLaren, Eds.). Vol. 4. Marcel Dekker, Nova York. Pàg: 195-244.

- Haider, K. 1999. "Microbe-soil-organic contaminant interactions". A: Bioremediation of contaminated soils. Adriano D.C., Bollag J.M., Frankenberg Jr. i Sims, R.C., Ed. Agronomy 37, Madison, Wisconsin, USA.
- Haider, K., Martin. J.P. i Rietz, E. 1977. "Descomposition in soil of ^{14}C -labeled coumaryl alcohols; free and linked into dehydropolymer and plant lignins and model humic acids". Soil Sci. Soc. Am. J. Vol. 41. Pàg: 556-562.
- Harbone, J.B. 1980. "Plant phenolics". A: Secondary plant products. Ed. Bell E.A. i Charlwood B.V. Encyclop. Plant Physiol. Vol 8. Berlin. Heidelberg.
- Hartley, R.D. i Buchan, H. 1979. "High-performance liquid chromatography of phenolic acids and aldehydes derived from plants or from the descomposition of organic matter in soil". J. of Chromatography. Vol. 180. Pàg: 139-143.
- Hartmann, R., De Gryse, S., Taamallah, H. i Cornelis, W. 1999. "Effect of olive mill effluents on soil properties of a sandy soil in southern Tunisia". Soils with Mediterranean Type of Climate. 6th International Meeting. Barcelona, 4-9 juliol, Espanya, Pàg: 882-883.
- Hedges, J.I., Clark, W.A. i Cowie, G.L. 1988a. "Organic matter sources to the water column and surficial sediments of a marine bay". Limnology and Oceanography. Vol. 33. Pàg: 1116-1136.
- Hedges, J.I., Clark, W.A. i Cowie, G.L. 1988b. "Fluxes and reactivity of organic matter in a coastal marine bay". Limnology and Oceanography. Vol. 33. Pàg: 1137-1152.
- Helfrich, P., Chefetz, B., Hadar, Y., Chen, Y. i Schnabl, H. 1998. "A novel method for determining phytotoxicity in composts.". Compost Science & Utilization. Vol. 6, N° 3.
- Heywood, V.H. 1984. "The flowering plants". Academic Press. London, UK.
- Huang, P.M. 1982. "Adsorption processes in soil.". A: The handbook of environmental chemistry. Vol. 2, Part 2. Reactions and processes. Ed. O. Hutzinger.
- Huang, P.M., Wang, M.K., Wu, M.H. i Hsu, N.W. 1977. "Retention of phenolic acids by noncrystalline hydroxy-aluminum and -iron compounds and clay minerals of soils". Soil Science. Vol. 123, N° 4. Pàg: 213-219.
- Huddleston, R.L., Bleckmann, C.A. i Wolfe, J.R. 1986. "Land treatment biological degradation processes". A: R.C. Loehr i J.F. Malina, Jr. (Eds.). Land Treatment: A Hazardous Waste Management Alternative. Water Resources Symposium N° 13, The University of Texas at Austin, TX. Pàg: 41-61.
- Huling, S.G., Pope, D.F., Matthews, J.E., Sims, J.L., Sims, R.C. i Sorensen, D.L. 1995. "Land treatment and the toxicity response of soil contaminated with wood preserving waste". Remediation Spring. Vol. 5, N° 2. Pàg: 41-55.
- Hupe, K. et al. 2001. "Application of test systems for a balance- based examination of biodegradation of contaminants in soil". A: Treatment of Contaminated Soil. Fundamentals, Analysis, Applications. R. Stegmann, G. Brunner, W. Calmano, G. Matz (Ed.). Springer. Pàg: 637-649.
- Hurtado Padilla I. 1996. "El menor rendimiento en aceite del proceso de dos fases". Agricultura. N° 772. Pàg: 942-952.
- Ielmini, M., Sanna, M. i Pelosi, N. 1976. "Indagine sulle acque di rifiuto degli stabilimenti di produzione olearia in provincia di Roma: Possibilità di depurazione". Ind. Aliment. Vol. 15. Pàg: 123-131.

- Improlive. 2000. Improvements of treatments and valoration of the lipid-solid waste from the two-phase olive oil extraction. Final Report, Workshop. Sevilla.
- Inoue, K.H. i Hagerman, A.E. 1988. "Determination of gallotannins with rhodannine.", *Analytical Biochemistry*. Vol. 169. Pàg: 363-369.
- Jalal, M.A.F. i Read, D.J. 1983. "The organic acid composition of Calluna heathland soil with special reference to phyto- and fungitoxicity II. Monthly quantitative determination of the organic acid content of Calluna and spruce dominated soils". *Plant and Soil*. Vol. 70. Pàg: 273-285.
- Janer del Valle, L. 1980. "Contaminación de las aguas por el alpechín y posibles soluciones al problema". *Grasas y Aceites*. Vol. 31, N° 4. Pàg: 273-279.
- Junta de Residus. 1997. "Guia d'avaluació de la qualitat del sòl. Criteris provisionals de qualitat del sòl a Catalunya". Generalitat de Catalunya, Departament de Medi Ambient.
- Kaminsky, R. i Müller, W.H. "The extraction of soil phytotoxins using a neutral EDTA solution". *Soil Science*. Vol. 124. Pàg: 205-209.
- Kaminsky, R. i Müller, W.H. 1978. "A recommendation against the use of alkaline soil extractions in the study of allelopathy". *Plant and Soil*. Vol. 49. Pàg: 641-645.
- Karlen, D.L., Mausbach, M.J., Doran, J.W., Cline, R.G., Harris, R.F. i Shuman, G.E. 1997. "Soil quality: a concept, definition and framework for evaluation". *Soil Sci. Soc. Am. J.* Vol. 61. Pàg: 4-10.
- Kästner, M. i Richnow, H.H. 2001. "Formation of residues of organic pollutants within the soil matrix-mechanisms and stability". *A: Treatment of Contaminated Soil. Fundamentals, Analysis, Applications*. R. Stegmann, G. Brunner, W. Calmano, G. Matz (Ed.). Springer. Pàg: 219-251.
- Katase, T. 1981. "The different forms in which p-hydroxybenzoic, vanillic, and ferulic acids exist in a peat soil". *Soil Sci.* Vol. 132. Pàg: 436-443.
- Kim, S.J., Oh, K.H., Lee, S.H., Choi, S.S. i Lee, K.C. 1997. "Study on secondary reaction and fate of hazardous chemical by oxidants". *Wat. Sci. Technol.* Vol. 36, N° 12. Pàg: 325-331.
- Kiritsakis, A.K. 1992. *El Aceite de Oliva*. A. Madrid Vicente (Ed). Madrid.
- Kögel, I. i Botcher, R. 1985. "Characterization of lignin in forest humus layers by high-performance liquid chromatography of cupric oxide oxidation products". *Soil Biol. Biochem.* Vol. 17, N° 5. Pàg: 637-640.
- Kononova, M.M. 1982. *Materia orgánica del suelo. Su naturaleza, propiedades y métodos de investigación*. Oikos-tau, S.A.-ed., Barcelona.
- Kuiters, A.T. i Denneman, C.A.J. 1987. "Water-soluble phenolic substances in soils under several coniferous and deciduous tree species". *Soil Biol. Biochem.* Vol. 19, N° 6. Pàg: 765-769.
- Kung, K.H. i McBride, M.B. 1989. "Coordination complexes of p-hydroxybenzoate on Fe oxides". *Clays & Clay Miner.* Vol. 37. Pàg: 333-340.
- Kuwahara, M. 1981. "Metabolism of lignin-related compounds by bacteria" *A: Lignin Biodegradation: Microbiology, Chemistry and Potential Applications*, Vol. II, Kirk, T.K., Higuchi, T., Chang, H. (Eds.). CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. Pàg: 127-146.

- Lal, R. 1998. "Soil quality and sustainability". A: Methods for the assesment of soil degradation. Advances in Soil Science. Lal, R., Blum, W.H., Valentine, C., Steward, B.A.,(Eds.). CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.
- Lehmann, R.G., Cheng, H.H. i Harsh, J.B. 1987. "Oxidation of phenolic acids by soil iron and manganase oxides.". Soil Sci. Soc. Am. J. Vol. 51. Pàg: 352-356.
- Lehtonen, K., Hänninen, K. i Ketola, M. 2001. "Structurally bound lipids in peat humic acids". Organic Geochemistry. Vol. 32. Pàg: 33-43.
- León Cabello, M^a R. 1990. Estudio de la acción antibiótica de los componentes fenólicos del olivo *Olea europaea* L. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Sevilla.
- León-Cabello, R., Fiestas, J.A., Gómez-Cordobés, C., Hernández, T. i Estrella, I. 1986. "Determination of polyphenols and carbohydrates in vegetation waters by advanced assay techniques.". Int. Symp. Olive By Products Valorization. Sevilla, Espanya. FAO. Pàg: 119-127.
- Levi-Minzi R., Saviozzi A., Riffaldi R. i Falzo L. 1992. "Distribución del alpechín en tierras de cultivo: efectos sobre las propiedades del suelo". Olivae. Vol. 40. Pàg: 20-25.
- Lindsay, W.L. i Norvell, W.A. 1978. "Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper". Soil Sci. Soc. Am. J. Vol. 42. Pàg: 421-428.
- Livernoche, D., Jurasek, L., Desrochers, M. i Veliky, I.A. 1983. "Removal of color from kraft mill waste waters with culture of white rot fungi and with immobilized mycelium of *Coriolus versicolor*". Biotechnol. Bioeng. Vol. 25. Pàg: 2055-2065.
- Lodhi, M.A.K. 1976. "Role of allelopathy as expressed by dominating trees in a lowland forest in controlling the productivity and pattern of herbaceous growth". Am. J. Bot. Vol. 63. Pàg: 1-8.
- López López, M.J. 1996. Producción de biopolímeros a partir del alpechín: obtención de xantano. Tesis Doctoral. Dep. de Microbiol. Fac. de Farmacia, Universidad de Granada.
- López Núñez, R. i Cabrera Capitán, F. 1993. "La situación del tratamiento de alpechines en España". Medio Ambiente.
- López Ritas, J. 1976. El diagnóstico de suelos y plantas. 2^a ed. Ed. Mundi Prensa.
- López, M.J., Moreno, J. i Ramos-Cormenzana, A. 2001. "*Xantomonas campestris* strain selection for xanthan production from olive mill wastewaters". Water Research. Vol. 35, N^o 7. Pàg: 1828-1830.
- López, R., Martínez-Bordiu, A., Dupuy de Lome, E., Cabrera, F. i Murillo, J. 1992. "Land treatment of liquid wastes from the olive oil industry (alpechín)". Fresenius Envir Bull. Vol. 1. Pàg: 129-134.
- López, R., Martínez-Bordiu, A., Dupuy de Lome, E., Cabrera, F. i Sánchez, M.C. 1996. "Soil properties afters application of olive oil mill wastewater". Fresenius Environ. Bull. Vol. 5. Pàg: 49-59.
- López-Aparicio, F.J., García-Granados López de Hierro, A. i Rodríguez Alonso, M. 1977. "Estudio del contenido en ácidos carboxílicos del alpechín de la aceituna, y evolución de los mismos". Grasas y Aceites. Vol. 28, N^o 6. Pàg: 393-401.

- Lors, Ch., Barbe, P. i Lecomte, P. 2000. "PAH's natural bioattenuation in soils of a former coke site." A: Contaminated Soil 2000: Theme D2, Vol.2, Pàg: 742-743. Leipzig, Alemanya.
- Lowe, L.E. 1993. "Water-soluble phenolic materials". A: Soil Sampling and Methods of Analysis, M.R. Carter, Ed. Canadian Society of Soil Science. Lewis Publishers.
- MacDonald, J.A. 2000. "Evaluating natural attenuation for groundwater cleanup". Science and Technology. Vol. 34. Pàg: 346A-353A.
- Madrid, L. i Díaz-Barrientos, E. 1994a. "Nature of the action of olive mill waste-water on the mobility of heavy metals added to a soil". Fresenius Environ. Bull. Vol. 3. Pàg: 226-231.
- Madrid, L. i Díaz-Barrientos, E., 1994b. "Retention of heavy metals by soils in the presence of a residue from the olive-oil industry". Eur. J. Soil Sci., Vol. 45. Pàg: 71-77.
- Maestro Durán, R., Borja Padilla, R., Martín Martín, A., Fiestas Ros de Ursinos, J.A. 1991. "Biodegradación de los compuestos fenólicos presentes en el alpechín". Grasas y Aceites. Vol. 42, Fasc. 4. Pàg: 271-276.
- Maestro-Durán, R., León Cabello, R. i Ruíz Gutiérrez, V. 1994. "Compuestos fenólicos del olivo (*Olea europaea*)". Grasas y Aceites. Vol. 45, N° 4. Pàg: 265-268.
- Maestro-Durán, R., León, R. i Ruiz-Gutiérrez, V. 1993. "Los compuestos fenólicos en la autodefensa de los vegetales.". Grasas y Aceites. Vol. 44, N° 6. Pàg: 365-368.
- Malovaná, S., García Montelongo, F.J., Pérez, J.P. i Rodríguez-Delgado, M.A. 2001. "Optimisation of sample preparation for the determination of *trans*-resveratrol and other polyphenolic compounds in wines by high performance liquid chromatography.". Analytica Chimica Acta. Vol. 428. Pàg: 245-253.
- Mameri, N., Haled, F., Drouiche, M., Grib, H., Lounici, H., Pauss, A., Piron, D. i Belhocine, D. 2000. "Treatment of olive mill washing water by ultrafiltration". Canadian Journal of Chemical Engineering. Vol. 78, N° 3. Pàg: 590-595.
- Manios, V. i Balis, C. 1983. "Respirometry to determine optimum conditions for the biodegradation of extracted olive press-cake". Soil Biol. Biochem. Vol. 15, N° 1. Pàg: 75-83.
- Martí i Vergé, E. 1998. Aport de residus industrials al sòl: caracterització i efectes sobre l'activitat respiratòria. Tesi Doctoral. Unitat d'Edafologia. Dep. de Productes Naturals, Biol. Vegetal i Edafologia. Universitat de Barcelona.
- Martin, J.P., Haider, K. i Linhares, L.F. 1979. "Decomposition and stabilization of ring¹⁴-C-labeled Catechol in soil". Soil Sci. Soc. Am. J. Vol. 43. Pàg: 100-104.
- Martínez, J., Pérez, J., Moreno, E. i Ramos-Cormenzana, A. 1986. "Incidencia del efecto antimicrobiano del alpechín en su posible aprovechamiento". Vol. 37, Fasc. 4. Pàg: 215-223.
- Martínez Moreno, J.M. 1972. Fundamentos Físico-Químicos de la Técnica Oleícola. Patronato Juan de la Cierva. Madrid.
- Martínez Nieto, L., Ramos Cormenzana, A., García Pareja, M^a P. i Garrido Hoyos, S.E. 1992. "Biodegradación de compuestos fenólicos del alpechín con *Aspergillus terreus*". Grasas y Aceites. Vol. 43, N° 2. Pàg: 75-80.

- Martirani, L., Giardina, P., Marzullo, L. i Sannia, G. 1996. "Reduction of phenol content and toxicity in olive oil mill waste waters with the ligninolytic fungus *Pleurotus ostreatus*". Wat. Res. Vol. 5. Pàg: 1914-1918.
- Mataix, F.J. i Martínez, E. 1988. "El aceite de oliva. Bases para el futuro". Ed. Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía. Sevilla, 127 p.
- McCall, P.J., Laskowski, D.A., Swann, R.L., i Dishburguer, H.J. 1981. "Measurement of sorption coefficients of organic chemicals and their use in environmental fate analysis". A: Test Protocols for Environmental Fate and Movement of Toxicants. Proceedings of AOAC Symposium. AOAC. Washington DC.
- McCalla, T.M. i Haskins, F.A. 1964. "Phytotoxic substances from soil microorganisms and crop residues". Bacteriol. Rev. Vol. 28. Pàg: 181-207.
- McDonald, S., Prenzler, P.D., Antolovich, M. i Robards, K. 2001. "Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts". Food Chemistry. Vol. 73. Pàg: 73-84.
- McIntyre, C., McRae, Ch., Jardine, D. i Batts, B.D. 2002. "Identification of compound classes in soil and peat fulvic acids as observed by electrospray ionization tandem mass spectrometry". Rapid Communications in Mass Spectrometry. Vol. 16. Pàg: 1604-1609.
- McPherson, J.K., Chou, C.H. i Muller, C.H. 1971. "Allelopathic constituents of the chaparral shrub *Adenostoma fasciculatum*". Phytochemistry. Vol. 10. Pàg: 2925-2933.
- Meier-Lörh, M. i Battermann, G. 2000. "Pumping, bioremediation and natural attenuation, a tiered strategy for cost-effective remediation of a large scale BTEX-contamination". A: Contaminated Soil 2000, Theme F5, Vol. 2, Pàg: 1013-1020. Leipzig, Alemania.
- Mellouli H.J., Hartmann R., Gabriels D., Cornelis W.M. 1998. "The use of olive mill effluents (margines) as a soil conditioner mulch to reduce evaporation losses". Soil and Tillage Research. Vol. 49. Pàg: 85-91.
- Mercadé, E., Manresa, A. i Mata, J. 1994. Degradació biològica de les oliasses. Departament de Medi Ambient, Generalitat de Catalunya.
- Mercadé, M.E., Manresa, M.A., Robert, M., Espuny, M.J., de Andrés, C. i Guinea, J. 1993. "Olive oil mill effluent (OOME). New substrate for biosurfactant production". Bioresource Technology. Vol. 43. Pàg: 1-6.
- Metcalf & Eddy, Inc., 1991, Ingeniería de aguas residuales. Tratamiento, vertido y reutilización. Mc Graw-Hill. International Editions, Inc.
- Millán, B., Gálvez, A. i Alvarez de Cienfuegos, G. 1995. "Microbiota aerobia de las balsas de eliminación del alpechín". Int. Symp. Olive Oil Processes and By-Products Recycling. Granada. Espanya.
- Miltner, A. i Zech, W. 1998. "Beech leaf litter lignin degradation and transformation as influenced by mineral phases". Organic Geochemistry. Vol. 28. Pàg: 457-463.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. 1994. Métodos Oficiales de Análisis, Tomo II, Secretaria Gral. De Alimentación, Dirección Gral. De Política Ambiental, Madrid. Edita: Secr. Gral. Técnica del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. 2002. A: <http://www.mpya.es/aao/olivar.htm>.

- Miranda, M.A., Amat, A.M. i Arqués, A. 2001a. "Abatement of the major contaminants present in olive oil industry wastewaters by different oxidation methods: ozone and/or UV radiation vs. solar light". *Water Sci. Technol.* Vol. 44 N° 5. Pàg: 325-330.
- Miranda, M.A., Galindo, F., Amat, A.M. i Arqués, A. 2000b. "Pyrylium salt-photosensitized degradation of phenolic contaminants derived from cinnamic acid with solar light. Correlation of the observed reactivities with fluorescence quenching". *Applied Catalysis B: Environmental.* Vol. 28. Pàg: 127-133.
- Miranda, M.A., Galindo, F., Amat, A.M. i Arqués, A. 2001. "Pyrylium salt-photosensitized degradation of phenolic contaminants present in olive oil wastewater with solar light. Part II. Benzoic acid derivatives". *Applied Catalysis B: Environmental.* Vol. 30. Pàg: 437-444.
- Miranda, M.A., Marín, M.L., Amat, A.M., Arqués, A. i Seguí, S. 2001. "Pyrylium salt-photosensitized degradation of phenolic contaminants present in olive oil wastewater with solar light. Part III. Tyrosol and *p*-hydroxyphenylacetic acid". *Applied Catalysis B: Environmental.* Vol. 925. Pàg: 1-8.
- Mole, S. i Waterman, P.G. 1987. "Tannic acid and proteolytic enzymes: Enzyme inhibition or substrate deprivation". Vol. 26. Pàg: 99-102.
- Monteoliva-Sánchez, M., Incerti, C., Ramos-Cormenzana, A., Paredes, C., Roig, A. i Cegarra, J. 1996. "The study of the aerobic bacterial microbiota and the Biototoxicity in various samples of olive mill wastewaters (alpechín) during their composting process". *International Biodeterioration & Biodegradation.* Vol. 38, N° 3-4. Pàg: 211-214.
- Moreno, J, González-López, J., Martínez-Toledo, M.V., de la Rubia, T., Ramos-Cormenzana, A. i Vela, G.R. 1988. "Growth and nitrogenase activity of *Azotobacter vinelandii* in the presence of several phenolic acids". *Archives of Microbiology.* Vol. 150. Pàg: 113-116.
- Morgan, P. i Watkinson, R.J. 1992. "Factors limiting the supply and efficiency of nutrient and oxygen supplements for the in situ biotreatment of contaminated soil and groundwater". *Water Res.* Vol. 26. Pàg: 73-78.
- Morisot, A. 1979. "Utilisation des margines pour épandage". *L'Olivier.* Vol. 19. Pàg: 8-13.
- Morisot, A. 1981. "Étude de l'épandage des margines des moulins d'olives". Institut National de la Recherche Agronomique. Station de Science du Sol. Antibes Cedex. França.
- Morisot, A., Tourier, J.P. 1986. "Répercussions agronomiques de l'épandage d'effluents de déchets de moulins à huile d'olive". *Agronomie.* Vol 6. Pàg: 235.
- Morita, M. 1980. "Total phenolic content in the pyrophosphate extracts of two peat soil profiles". *Can. J. Soil Sci.* Vol. 60. Pàg: 291-297.
- Morrison, R.I. 1958. "The alkaline nitrobenzene oxidation of soil organic matter". *J. Soil Sci.* Vol. 9. Pàg: 130-140.
- Morrison, R.I. 1963. "Products of the alkaline nitrobenzene oxidation of soil organic matter". *J. Soil Sci.* Vol.14. Pàg: 201-216.
- Mouncif, M., Tamoh, S., Faid, M. i Achkari-begdouri, A. 1993. "A study of chemical and microbiological characteristics of olive mill waste water in Morocco". *Grasas y Aceites.* Vol. 44. Pàg: 335-338.

- Mueller-Harvey, I. 2001. "Analysis of hydrolysable tannins". *Animal Feed Science and Technology*. Vol. 91. Pàg: 2-20.
- Müller, R. i Mahro, B. 2001. "Bioaugmentation: Advantages and problems using micro organisms with special abilities in soil decontamination". A: *Treatment of Contaminated Soil. Fundamentals, Analysis, Applications*. R. Stegmann, G. Brunner, W. Calmano, G. Matz (Ed.). Springer. Pàg: 325-341.
- Naidja, A., Huang, P.M. i Bollag, J.M. 1998. "Comparison of reaction products from the transformation of catechol catalyzed by birnessite or tyrosinase". *Soil Sci. Soc. Am. J.* Vol. 62. Pàg: 188-195.
- Navarro, G. i Navarro G. 2000. *Química agrícola. El suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal*. Ed. Mundi Prens.
- Navrotsky, A., Putnam, R.L., Winbo, C. i Rosén, E. 1997. "Thermochemistry of double carbonates in the K_2CO_3 - $CaCO_3$ system". *American Mineralogist*. Vol. 82. Pàg: 546-548.
- Norberg, P., Sloth, L. i Nielsen, K.E. 1993. "Rapid changes of sandy soils caused by vegetation changes". *Canadian Journal of Soil Science*. Vol. 73. Pàg: 459-468.
- Northcott, G.L. i Jones, K.C. 2000. "Experimental approaches and analytical techniques for determining organic compound bound residues in soil and sediment". *Environ Pollut.* Vol. 108. Pàg: 19-43.
- Northup, R.R. et al. 1995. "Polyphenol control of nitrogen release from pine litter". *Nature*. Vol. 377. Pàg: 227-229.
- O'Connor, O.A. i Young, L.Y. 1993. "Effect of nitrogen limitation on the biodegradation and toxicity of nitro- and amino-phenol isomers to methanogenesis". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* Vol. 25. Pàg: 285-291.
- OECD. 2002. *Guidelines for the testing of chemicals. Revised proposal for a new guideline 312. Leaching in Soil Columns. Revised draft document*.
- Oess, A., McPhail, D.B., Cheshire, M.V. i Védy, J.C. 1997. "Copper complexation with plant-derived phenols originating from an alpine ecosystem". A: *Extended abstracts of the 4th International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements*. 23-26 de juny. University of California, Berkeley. Pàg: 233-234.
- Ohlenbusch, G., Kumke, M.U. i Frimmel, F.H. 2000. "Sorption of phenols to dissolved organic matter investigated by solid phase microextraction". *The Science of the Total Environment*. Vol. 253. Pàg: 63-74.
- Ohno, T., Doolan, C., Zibilske, L.M., Liebman, M., Gallandt, E.R. i Berube, C. 2000. "Phytotoxic effects of red clover amended soils on wild mustard seedling growth". *Agriculture, Ecosystems and Environment*. Vol. 78. Pàg: 187-192.
- Onho, T. I First, P.R. 1998. "Assessment of the Folin and Ciocalteu Method for determining soil phenolic carbon". *J. Environ. Qual.* Vol. 27.
- Panizzi, L., Scarpati, M.L. i Trogolo, C. 1965. "Oleuropeina III". *Gazz. Chim. Ital.* Vol. 95. Pàg: 1279-1292.
- Paredes M.J., Moreno E., Ramos-Cormenzana A. i Martínez J. 1987. "Characteristics of soil after pollution with waste waters from olive oil extraction plants". *Chemosphere*. Vol 16, N° 7. Pàg: 1557-1564.

- Paredes, C., Cegarra, J., Roig, A., Sánchez-Monedero, M.A. i Bernal, M.P. 1999. "Characterization of olive mill wastewater (alpechín) and its sludge for agricultural purposes". *Bioresource Technology*. Vol. 67. Pàg: 111-115.
- Paredes, M.J., Monteoliva-Sánchez, M., Moreno, E., Pérez, J., Ramos-Cormenzana, A. i Martínez, J. 1986. "Effect of waste waters from olive oil extraction plants on the bacterial population of soil". *Chemosphere*. Vol. 15, N° 5. Pàg: 659-664.
- Pérez J.D. i Gallardo-Lara. 1987. "Effects of the application of wastewater from olive processin on soil nitrogen transformation". *Commun. in Soil Science Plant Analysis*. Vol 18, N°9. Pàg: 1031-1039.
- Pérez Torres, J. 1988. Transformación microbiana de componentes aromáticos del alpechín. Tesi Doctoral. Dep. de Microbiología. Fac. de Farmacia. Universidad de Granada.
- Pérez, J., Hernández, M.T., Ramos-Cormenzana i Martínez, J. 1987. "Caracterización de fenoles del pigmento del alpechín y transformación por *Phanerochaete chrysosporium*". *Grasas y Aceites*. Vol. 38, N° 6. Pàg: 367-371.
- Pérez, J.D., Esteban, E. i Gallardo-Lara, F. 1986a. "Direct and delayed influence of vegetation water on magnesium uptake by crops". *International Symposium on Olive by Products Valorization*. Sevilla, Espanya.
- Pérez, J.D., Esteban, E. i Gómez, M. 1986b. "Effects of wastewater from olive processing on seed germination and early plant growth of different vegetable species". *J. Environ. Sci. Healt*. Vol. 21, N° 4. Pàg: 349-357.
- Perucci, P., Casucci, C. i Dumontet, S. 2000. "An improved method to evaluate the *o*-diphenol oxidase activity of soil". *Soil Biology & Biochemistry*. Vol. 32. Pàg: 1927-1933.
- Petruccioli, M., Servili, M., Montedoro, G.F. i Federici, F. 1988a. "Fermentazione delle acque reflue di frantoi oleari. Nota I. Definizione dell'enzima prodotto (pectinasi)". *Industrie Alimentari- XXVII*. Pàg: 114-118.
- Petruccioli, M., Servili, M., Montedoro, G.F. i Federici, F. 1988b. "Development of a recycle procedure for the utilization of vegetation waters in the olive-oil extraction process". *Biotechnology Letters*. Vol. 10, N° 1. Pàg: 55-60.
- Pierzynski, G.M., Sims, J.T. i Vance, G.F. 1994. *Soils and environmental quality*. Lewis Publishers. Florida, USA.
- Pina Artal. 1997. "El orujo de almazara. Una estrategia integral para los subproductos y residuos de almazaras". Mesa redonda. VII Simposio Científico-Técnico. Expoliva 97. Fundación del olivar. Jaén, 2 i 3 Octubre.
- Pompei, C. i Codovilli, F. 1974. "Resultati preliminari sul trattamento di depurazione della acque di vegetazione delle olive per osmosi inversa". *Sci. Tecnol. Alimenti*. Vol. 4. Pàg: 363-364.
- Porta, J., López-Acevedo, M. i Rodríguez, R. 1986. "Técnicas y experimentos en edafología". *Col.legi oficial d'enginyers agrònoms de Catalunya*.
- Potenz, D. et al. 1980. "Effetto inquinante delle acque reflue della lavorazione delle olive su terreno agrario". *Inquinamento*. Vol. 22. Pàg: 65-68.
- Potenz, D., Righetti, E., Bellettieri, A., Girardi, F., Antonacci, P., Calianno, L. A. i Pergolese, G. 1985. "Evoluzione della fitotossicità in un terreno trattato con acque

- reflue di fratoi oleari. 3 Applicazione del test (Germinazione del *Lepidium sativum*) e estudio comparativo di alcuni parametri chimici e chimico-fisici". Inquinamento. Pàg: 29-49.
- Pracht, J., Boenigk, J., Isenbeck-Schröter, M., Keppler, F. I Scholër, H.F. 2001. "Abiotic Fe (III) induced mineralization of phenolic substances". Chemosphere. Vol. 44. Pàg: 613-619.
- Price, M.L. i Butler, L.G. 1977. "Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain". J. Agric. Food Chem. Vol. 25. Pàg: 1268-1273.
- Quéméner, J. 1985. "L'interprétation des analyses". Cultivar (dossier analyses). Vol. 184. Pàg: 107-117.
- Ragazzi, E. i Veronese, G. 1967a. "Ricerche sui costituenti idrosolubili delle olive. Nota I. Zuccheri e fenoli". Ann. Chim. Vol. 57. Pàg: 1386-1397.
- Ragazzi, E. i Veronese, G. 1967b. "Ricerche sulle fenolossidase e sul contenuto in o-difenoli delle olive". Ann. Chim. Vol. 57. Pàg: 1476-1492.
- Ragazzi, E., Veronese, G. i Pietrogrande, A. 1967. "Ricerche sui costituenti idrosolubili delle olive. Nota II. Pigmenti e polisaccaridi". Ann. Chim. Vol. 57. Pàg: 1398-1413.
- Ragazzi, E., Veronese, G. i Guiotto, A. 1973. "Presence of dimethyloleuropeine in olive oil of various cultivars". Ann. Chim. Vol. 63. Pàg: 13-20.
- Ramos-Comenzana, A. i Monteoliva-Sánchez, M. 2000. "Potencial Biofarmacéutico de los residuos de la industria oleícola". Ars Pharmaceutica. Vol. 41, N° 1. Pàg: 129-136.
- Ramos-Cormenzana, A. 1986. "Características físico-químicas, microbiológicas y bioquímicas de los alpechines". Int. Symp. Olive By Products Valorization. Sevilla, Espanya.
- Ramos-Cormenzana, A., Monteoliva-Sánchez, M. i López, M.J. 1995. "Bioremediation of alpechín". Biodet. Biodegrad. Pàg: 249-268.
- Rana, G., Rinaldi, M. i Introna, M. 2003. "Volatilisation of substances after spreading olive oil waste water on the soil in a Mediterranean environment". Agriculture, Ecosystems and Environment. Vol. 2044. Pàg: 1-10.
- Rao, M.A., Violante, A. i Gianfreda, L. 1998. "Interactions between tannic acid and acid phosphatase". Soil Biol. Biochem. Vol. 30, N° 1. Pàg: 111-112.
- Raventós, M. i Mas, C. 1999. Tractament d'aigua residual a la indústria alimentària. Edicions UPC.
- Reed, J.D., Hortvath, P.J., Allen, M.S. i van Soest, P.J. 1985. "Gravimetric determination of soluble phenolics including tannins from leaves by precipitation with trivalent ytterbium". Journal of the Science of Food and Agriculture. Vol. 36. Pàg: 255-261.
- Reeves, A.D. i Preston, M.R. 1991. "A study of the composition and distribution of lignin in resuspended and permanently suspended particles in the river Tamar estuary". Estuarine, Coastal and shelf Science. Vol. 32. Pàg: 1-22.
- Reimers, G. 1983. "Posibilidades de tratamiento del alpechín por ultrafiltración y ósmosis inversa". Química e Industria Alimentaria. Pàg: 273-274.

- Rice, E. i Pancholy, S.K. 1974. "The inhibition of nitrification by climax ecosystems III. Inhibitors other than tannins". *Am. J. Bot.* Vol. 61, N°10. Pàg: 1095-1103.
- Ridgway, H.F., Kelly, A., Justice, C. i Olson, B.H. 1983. "Microbial fouling of reverse-osmosis membranes used in advanced wastewater treatment technology: Chemical, bacteriological and ultrastructural analyses". *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 45. Pàg: 1066-1084.
- Riffaldi, R., Levi-Minzi, R., Saviozzi, A., Vanni, G. i Scagnozzi, A. 1993. "Effect of the disposal of sludge from olive processing on some soil characteristics: laboratory experiments". *Water, Air and Soil Pollution.* Vol.69. Pàg: 257-264.
- Riis, V., Simon, D. i Babel, W. 2000. "Degradation potential of the autochthonous microorganisms in the groundwater of a waste dump for organo-chlorines". *A: Contaminated Soil 2000: Theme D, Vol.2*, Pàg: 789-790. Leipzig, Alemanya.
- Roberts, T.R. i Kearney, P.C. 1995. *Environmental behaviour of agrochemicals*, John Wiley & Sons Ltd., Baffins Lane, Chichester, Anglaterra.
- Rodier, J. 1975. *L'analyse de l'eau. Eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer.* Dunot Technique. París.
- Rodrigo R., J. 1990. "Situación en España". *Jornadas técnicas: Tratamiento sobre alpechines.* Córdoba, 31 maig- 1 juny.
- Rodríguez Prieto, C. 1995. *Avances en la eliminación de vertidos de alpechines*, I Conferencia Internacional de Gestión de Residuos.
- Rogers, H.B., Beyrouthy, C.A., Nichols, T.D., Wolf, D.C. i Reynolds, C.M. 1996. "Selection of cold-tolerant plants for growth in soils contaminated with organics". *Journal of Soil Contamination.* Vol. 5, N° 2. Pàg: 171-186.
- Ruiz Molina, M. 1997. *Influencia del alpechín sobre la microbiota del suelo.* Tesi Doctoral. Area de Microbiología. Dep. de Ciencias de la Salud. Fac. de Ciencias experimentales. Universidad de Jaén.
- Ruiz-Saucedo, U., Koning, M. i Stegmann, R. 2000. "Monitored intrinsic bioremediation (MIB) development of a methodology for the quantitative evaluation of the intrinsic biodegradation of petroleum hydrocarbons by means of carbon and electron balances". *A: Contaminated Soil 2000: Theme F, Vol. 2.* Pàg: 1284-1285. Leipzig, Alemanya.
- Russell, E.W. 1973. *Soil conditions and plant growth.* William Clowers & Sons, Ltd. London, Gran Bretanya.
- Rüttimann-Johnson, C. i Lamar, R. T. 1997. "Binding of pentachlorophenol to humic substances in soil by the action of white rot fungi". *Soil Biol. Biochem.* Vol. 29, N° 7. Pàg: 1143-1148.
- Ryan, D., Lawrence, H., Prenzler, P.D., Antolovich, M. i Robards, K. 2001. "Recovery of phenolic compounds from *Olea europaea*". *Analytica Chimica Acta.* Vol. 445. Pàg: 67-77.
- Ryan, D., Robards, K. i Lavee, S. 1999. "Determination of phenolic compounds in olives by reversed-phase chromatography and mass spectrometry". *Journal of Chromatography A.* Vol. 832. Pàg: 87-96.

- Sáez Mestre, L.E. 1989. "Contenido fenólico del alpechín y actividad antibacteriana". Tesis de Licenciatura, Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia, Granada, Espanya.
- Sáiz-Jimenez, C., Gómez-Alarcón, G. i de Leeuw, S.W. 1986. "Chemical properties of the polymer isolated in fresh vegetation water and sludge evaporation ponds". Int. Symp. Olive By Products Valorization. Sevilla, Espanya. FAO. Pàg: 41-60.
- Saña, J., Moré, J.C. i Cohí, A. 1995. La gestión de la fertilidad de los suelos. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.
- Sayadi, S., Allouche, N., Jaoua, M. i Aloui, F. 2000. "Detrimental effects of high molecular-mass polyphenols on olive mill wastewater biotreatment". Process Biochemistry. Vol. 35. Pàg: 725-735.
- Scalzo, R. i Oriente, M.L. 1993. "A new secoiridoid from olive wastewater". J. Nat. Prod. Vol. 56. Pàg: 621-623.
- Schultz, J.C., Baldwin, I.T. i Nothnagle, P.J. 1981. "Haemoglobin as a binding substrate in the quantitative analysis of plant tannins". J. of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 29. Pàg: 823-826.
- Scow, K.M. 1982. Rate of biodegradation. Handbook of chemical properties estimation methods: Environmental behavior of organic compounds. A: W.F. Lyman et al. (Ed.). McGraw Hill, Nova York. Pàg: 9-85.
- Semple, K.T., Reid, B.J. i Fermor, T.R. 2001. "Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants". Environmental Pollution. Vol. 112. Pàg: 269-283.
- Seoánez-Calvo, M. 1995. Ecología Industrial: ingeniería medioambiental aplicada a la industria y a la empresa. Coedición Mundi Prensa y Análisis y Trabajos Prospectivos, S.L.
- Sequeiros Madueño, L. i Sousa Márquez M. 1995. "Tecnología de obtención de aceite de oliva por dos fases, seguimiento y situación actual". Informe 2/95. Consejería de Medio Ambiente. Junta de Andalucía, Espanya.
- Sequeiros, L. i Sousa, M. 1994. "Sistemas de obtención de aceite de oliva sin producción de alpechín. Situación actual". Agencia de Medio Ambiente, Junta de Andalucía, Consejería de Cultura y Medio Ambiente, Dpto. Investigación. Informe nº 1/94.
- Shindo, H. i Huang, P.M. 1982. "Role of Mn(IV) oxide in abiotic formation of humic substances in the environment". Nature. Vol. 298.
- Shirley, E.R. 1999. "SMPE fibers and selection for specific applications". A: Solid phase microextraction. Scheppers S.A. (Ed). Marcel Dekker. Nova York. Pàg: 59-110.
- Sierra, J., Martí, E., Montserrat, G., Cruañas, R. i Garau, M.A. 2001. "Characterisation and evolution of a soil affected by olive mill wastewater disposal". The Science of the Total Environment. Vol. 279. Pàg: 207-214.
- Sims, G.K. 1990. "Biological degradation of soil". A: Soil degradation. R. Lali B.A. Steward (Ed.). Nova York, USA. Pàg: 289-330.
- Sims, J.L., Sims, R.C. i Matthews, J.E. 1989. Bioremediation of contaminated surface soils. Robert S. Kerr, Environmental Research Laboratory, U.S. EPA, ORD, Ada, Oklahoma.

- Sims, R.C. 1986. "Loading rates and frequencies for land treatment systems". Land Treatment: A Hazardous Waste Management Alternative. Water Resources Symposium N° 13. A: R.C. Loehr and J.F. Malina, Jr. (Eds.) Center for Research in Water Resources, The University of Texas at Austin. Austin, TX. Pàg. 151-170.
- Sims, R.C. 1993 "Site characterization requirements". A: Bioremediation of hazardous waste sites: Practical approaches to implementation. U.S. Environmental Protection Agency. USEPA/600/K-93/002. USEPA, Washington, DC. Pàg: 3.1-3.8.
- Singleton, V.L. i Rossi, J.A. 1965. "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents". American Journal of Enology and Viticulture. Vol. 16. Pàg: 144-158.
- Siqueira, J.O., Nair, M.G., Hammerschmidt, R. i Safir, G.R. 1991. "Significance of phenolic compounds in plant-soil-microbial systems". Crit. Rev. Plant Sci. Vol. 10. Pàg: 63-121.
- Sjogblad, R.D. i Bollag, J.M. 1981. "Oxidative coupling of aromatic compounds by enzymes from soil microorganisms". A: Soil Biochemistry. Vol. 5. Paul, E.A., Ladd, J.N. (Eds.) Marcel Dekker. Nova York. Pàg: 113-152.
- Snyder, L.R. 1974. "Classification of the Solvent Properties of Common Liquids". J. Chromatogr. Vol. 92. Pàg: 223.
- Soil Survey Laboratory Staff. 1992. Soil Survey Laboratory Methods Manual, Soil Survey Investigations. Report N° 42, Versió 2.0.
- Sparling, G.P. 1985. "The soil biomass". A: Soil organic matter and biological activity. D. Vaughan and R.E. Malcom (Ed.) Martinus Nijhoff Junk, Dordrecht, the Netherlands. Pàg: 223-262.
- Sposito, G. (Ed.). 1984. The Surface Chemistry of Soils. Oxford University Press. Oxford. Pàg: 9-10.
- Spring, J.L., Chapuis, P., Evéquez, C., Girardet, G., Ryser, J.P., Schmid, C., Terrethaz, R., Thentz, M. i Vanetti, R. 1993. "La fertilization des arbres fruitiers, kiwis et des arbustes à baies. 1er part (directives)". Rev. Suisse Vitic. Arboric. Hortic. Vol. 25, N° 3. Pàg: 189-199.
- Steen, A.B., Borén, H. i Grimvall, A. 1994. "Phytotoxic organic compounds in spruce forest soil: chemical analyses combined with seedling bioassays". A: Ecotoxicology of soil organisms, Cap. 10, Ed. Marianne H. Donker, Herman Eijsackers i Fred Heimbach, CRC Press. Inc, USA.
- Stegmann, R., Brunner, G., Calmano, W. i Matz, G. 2001. Treatment of contaminated soil. Springer-Verlag, Berlín.
- Stevenson, F.J. 1982. "Biochemistry of the formation of humic substances". A: Humus Chemistry: Genesis, composition, reactions. Department of Agronomy, University of Illinois. Jonh Wiley & Sons. Pàg: 195-220.
- Stotzky, G. i Norman, A.G. 1961. "Factors limiting microbial activities in soil. I. The level of substrate, nitrogen and phosphorus". Archiv fuer Mikrobiologie. Vol. 40, Pàg: 341-369.
- Stumm, W. 1992. Chemistry of the solid-water interface. John Wiley & Sons, Nova York.

- Swain, T. i Hillis, W.E. 1959. "Phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents". J. of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 10. Pàg: 63-68.
- Swatsitang, P., Tucker, G., Robards, K. i Jardine, I. 2000. "Isolation and identification of phenolic compounds in *Citrus sinensis*". Analytica Chimica Acta. Vol. 417. Pàg: 231-240.
- Tardioli, S., Bànnè T.G., E. i Santori, F. 1997. "Species-specific selection on soil fungal population after olive mill waste-water treatment". Chemosphere. Vol. 34, N° 11. Pàg: 2329-2336.
- Tassou, C.C. i Nychas, G.J.E. 1994. "Inhibition of *Staphylococcus aureus* by Olive Phenolics in broth and in a model food system". J. of Food Protection. Vol. 57. Pàg: 120-124.
- Tassou, C.C. i Nychas, G.J.E. 1995. "Inhibition of *Salmonella enteritidis* by oleuropein in broth and in a model food system". Letter in Appl. Microbiol. Vol. 20. Pàg: 120-124.
- Thomas., J.M., Yordy, J.R., Amador, J.A. i Alexander, M. 1986. "Rates of dissolution and biodegradation of water-insoluble organic compounds". Appl. Environ Microbiol. Vol. 60. Pàg: 258-263.
- Torres, M., Zamora, M.A. i Esteban, E. 1980. "Aspectos a considerar en el empleo del alpechín como fertilizante II. Ensayos en macetas". Anales Edafología y Agrobiología. Vol. 39. Pàg: 1379-1384.
- Torsvik, V., Goksoyr, J. i Daae, F.L. 1990. "High diversity in DNA of soil bacteria.", Appl. Environ. Microbiol. Vol.56. Pàg: 78787.
- Tranter, H.S., Tassou, S.C. i Nychas, G.T. 1993. "The effect of the olive phenolic compound, oleuropein, on growth and enterotoxin B production by *Staphylococcus aureus*". J. Appl. Bacteriol. Vol. 74. Pàg: 253-259.
- Tsonis, S.P. i Grigoropoulos, S.G. 1993. "Anaerobic treatability of olive oil mill wastewater". Wat. Sci. Tech. Vol. 28, N° 2. Pàg: 35-44.
- Tuomela, M., Lyytikäinen, M., Oivanen, P. i Hatakka, A. 1999. "Mineralization and conversion of pentachlorophenol (PCP) in soil inoculated with the white-rot fungus *Trametes versicolor*". Soil Biology and Biochemistry. Vol. 31. Pàg: 65-74.
- Turco, R.F. 1999. "Soil microorganisms and their requirements". A: Bioremediation of contaminated soils, Coed. D.C. Adriano, J.M. Bollag, W.T. Frankenberger, Jr. i R.C. Sims, Agronomy (N° 37), Madison, Wisconsin, USA.
- Turner, J.A. i Rice, E.R., 1975. "Microbial decomposition of ferulic acid in soil". J. Chem. Ecol. Vol. 1. Pàg. 41-58.
- Ubay, G. i Öztürk, I. 1997. "Anaerobic treatment of olive mill effluents". Wat. Sci. Tech. Vol. 36, N° 2-3. Pàg: 287-294.
- Urbano Terrón, T. 1992. Tratado de fitotecnia general. 2ª edició. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, Espanya. Pàg: 543-578.
- USDA. Soil Survey Staff. 1998. Keys to soil taxonomy. 8a edició. Washington. USA.
- Valenzuela, G. 1985. "Concentración térmica del alpechín". Resumen Simposio Internacional sobre valoración de los subproductos del olivar: Alpechín y Orujo. Sevilla.

- Van Agteren, M., Keuning, S. i Janssen, D.B. 1994. Handbook on biodegradation and biological treatment of hazardous organic compounds, Marcel Dekker, Inc. Nova York.
- Van Veen, J.A., van Overbeek, L.S. i van Elsas, J.D. 1997. "Fate and activity of microorganisms introduced into soil". Microbiology and Molecular Biology Reviews. Vol. 61. Pàg: 121-135.
- Vance, G.F., Boyd, S.A. i Mokma, D.L. 1985. "Extraction of phenolic compounds from a spodosol profile: an evaluation of tree extractants". Soil Science. Vol.140, N° 6. Pàg: 412-420.
- Vance, G.F., Mokma, D.L. i Boyd, S.A. 1986. "Phenolic compounds in soils of hydrosequences and developmental sequences of spodosols". Soil Sci. Soc. Am. J. Vol. 50. Pàg: 992-996.
- Varga, J.M. i Neujahr, H.Y. 1970. "Isolation from soil of phenol-utilizing organisms and metabolic studies on the pathways of phenol degradation". Plant and Soil. Vol. 33. Pàg: 565-571.
- Vázquez Roncero, A., Graciani Constante, E. i Maestro Durán, R. 1974. "Componentes fenólicos de la aceituna. I. Polifenoles de la pulpa". Grasas y Aceites. Vol. 25, N° 5. Pàg: 269-279.
- Vázquez Roncero, A., Maestro Durán, R. i Constante, G.E. 1971a. "Cambios en los polifenoles de la aceituna durante la maduración". Grasas y Aceites. Vol. 22, N° 5. Pàg: 366-376.
- Vázquez Roncero, A., Maestro Durán, R. i Constante, G.E. 1971b. "Determinación de polifenoles totales en las aceitunas". Grasas y Aceites. Vol. 22, N° 5. Pàg: 371-376.
- Verstraete, W. i Top, E.M. 1999. "Soil clean-up: lessons to remember". International Biodeterioration & Biodegradation. Vol. 43. Pàg: 147-153.
- Vial, J., Hennion, M.C., Fernández-Alba, A. i Agéra, A. 2001. "Use of porous graphitic carbon coupled with mass detection for the analysis of polar phenolic compounds by liquid chromatography". Journal of Chromatography A. Vol. 937. Pàg: 21-29.
- Víchez Quero, A. 1982. Ecología de los ríos contaminados: la macroflora bentónica. Memoria de Doctorado, Fac. de Farmacia. Univ. de Granada, Granada. Espanya.
- Vitolo, S., Petarca, L. i Bresci, B. 1999. "Treatment of olive oil industry wastes". Bioresource Technology. Vol. 67. Pàg: 129-137.
- Vlahov, G. 1992. "Flavonoids in three olive (*Olea europaea*) fruit varieties during maturation". J. Sci. Food Agric. Vol. 58. Pàg: 157-159.
- Walter, M.F., Tamno, S.S. i Haith, D.A. 1979. "Nonpoint source pollution control by soil and water conservation practices". Transactions ASAE. Vol. 22. Pàg: 5.
- Wang, T. S. C., Cheng, S.Y. i Tung, H. 1967. "Extraction and analysis of soil organic acids". Soil Science. Vol. 103, N° 5. Pàg: 360-365.
- Wang, T.S.C, Yang, T.K. i Chuang, T.T. 1967. "Soil phenolic acid as plant inhibitors". Soil Science. Vol. 103, N° 4. Pàg: 239-245.
- Wang, T.S.C., Wu Li, S. i Ferng, Y.L. 1978. "Catalytic polymerization of phenolic compounds by clay minerals". Soil Science. Vol. 126, N° 1. Pàg: 15-20.

- Waterman, P.G. i Mole, S. 1994. *Analysis of phenolic plant metabolites*. Blackwell Scientific Publications. Oxford.
- Weier, K. L., Doran, J.F., Power, J.F. i Waiters, D.T. 1993. "Denitrification and the dinitrogen/nitrous oxide ratio as affected by soil water, available carbon and nitrate". *Soil Sci. Soc. Am. J.* Vol. 57. Pàg: 66-72.
- Whitehead, D.C., Dibb, H. i Hartley, R.D. 1981. "Extractant pH and the release of phenolic compounds from soils, plant roots and leaf litter". *Soil Biol. Biochem.* Vol. 13. Pàg: 343-348.
- Whitehead, D.C., Dibb, H. i Hartley, R.D. 1982. "Phenolic compounds in soil as influenced by the growth of different plant species". *Journal of Applied Ecology*. Vol 19. Pàg: 529-538.
- Yáñez, J. 1989. "Análisis de suelos y su interpretación". *Horticultura*. Vol. 49. Pàg: 75-89.
- Young, C.C. 1984. "Non-polar macroreticular resin to recover phenolic acids from a subtropical latosol". *Soil Biol. Biochem.* Vol. 16, N° 4. Pàg: 377-380.
- Zervakis, G., Yiatras, P. i Balis, C. 1996. "Edible mushrooms from olive oil mill wastes". *International Biodeterioration*. Pàg: 237-243.
- Fröbe, Z., Fingler, S., Drevenkar, V. i Juracic, M. 1994. "Sorption behaviour of some chlorophenols in natural sorbents. 1. Validity of the partition model for sorption of phenolates". *The Science of the Total Environment*. Vol. 155. Pàg: 199-213.
- Zucconi, F. i Bukovac, N.J. 1969. "Analisi sull'attività delle acque di vegetazione delle olive". *Riv. Ortoflorofrutticoltura Ital.* Vol. 53. Pàg: 443.
- Zucconi, F., Pera, A., Forte, M. i de Bertoli, M. 1981. "Evaluating toxicity of immature compost". *Biocycle*. Vol. 22. Pàg: 54-57.