

CONSOLIDAMENTO DI LEGNI DEGRADATI TRAMITE POLIMERIZZAZIONE *IN SITU* DI ISOEUGENOLO

Luca Zoia¹, Marco Orlandi¹, Eeva-Liisa Tolppa¹, Dorina Ines Donato², Pasquale Agozzino³, Graziano Elegir⁴, Gianna Giachi⁵

¹Università Milano Bicocca - Dipartimento di Scienze dell' Ambiente e del Territorio, Milano

²Università di Palermo - Dipartimento di Chimica Fisica, Palermo

³Università di Palermo - Dipartimento di Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Palermo

⁴Stazione Sperimentale Carta Cartoni e Paste per la Carta Piazza, Milano

⁵Soprintendenza ai Beni Archeologici per la Toscana, Laboratorio di analisi, Firenze

Giovedì 6 Dicembre
2007
4° Intervento

Il legno è un materiale che fin dai tempi più remoti è stato utilizzato dall'uomo per la costruzione d'abitazioni, mezzi di trasporto, supporti alla viabilità, palizzate, suppellettili ed utensili per vari usi. La facile lavorabilità, la reperibilità e la rinnovabilità nel tempo fanno del legno il materiale più usato fino all'avvento dell'era industriale. Tuttavia, il legno è un materiale caratterizzato da una forte variabilità intrinseca, determinata dalle differenze di specie, di velocità d'accrescimento degli alberi e di tipologia di utilizzo. Inoltre, come tutti i materiali organici, ed anche a causa delle accennate caratteristiche, può subire nel corso del tempo processi di degrado ad opera di agenti chimici, fisici e biologici.

I fattori ambientali sono parametri che possono pregiudicare o favorire la conservazione di un manufatto ligneo. E' notorio che i pochi reperti di origine vegetale trovati negli scavi sono di solito molto degradati e talvolta addirittura allo stato carbonioso, mentre si trovano in migliori condizioni i reperti trovati o in luoghi molto asciutti con elevata temperatura e bassa umidità, o imbibiti d'acqua, come i reperti provenienti da ritrovamenti in ambienti lacustri o marini.

Trattamenti preservanti e consolidanti si rendono quindi indispensabili per recuperare e conservare i manufatti, frutto della operosità e della fantasia dell'uomo, che consentono di tracciare lo sviluppo tecnologico ed artistico dei vari popoli nelle varie epoche. Fin da tempi remoti sono stati ricercati metodi e tecniche idonei a proteggere opere lignee.

In pratica fino al XIX secolo i problemi del degrado sono stati affrontati con metodi empirici e con risultati, in molti casi, non soddisfacenti. Rendendosi necessario un intervento di restauro, spesso sono stati sostituiti elementi degradati con altri di legno integro, cancellando però così quelle tracce che l'opera originale conservava e che erano una testimonianza dello sviluppo culturale e tecnologico raggiunto in passato. Oggi l'obiettivo principale di un intervento conservativo è quello di preservare e consolidare gli elementi degradati, avendo cura di mantenere le dimensioni, le caratteristiche estetiche e, quando possibile, la funzionalità dell'opera originaria.

La conoscenza e la diagnostica del manufatto, fasi preliminari all'esecuzione del restauro, sono indispensabili alla progettazione di un intervento protettivo. Sono richieste competenze specifiche e non è sempre possibile utilizzare per il legno soluzioni che su altri materiali hanno permesso di ottenere risultati soddisfacenti.

In particolare, le problematiche che si riscontrano nel trattamento conservativo dei legni impregnati d'acqua (*waterlogged woods*), cioè reperti provenienti da strutture palafitticole o navali, recuperati in paludi o in fondali lacustri o marini, sono molto complesse e dipendono dal *taxon*, dall'entità del degrado e dalla composizione chimica del sito di ritrovamento.

A causa del degrado chimico, fisico e biologico, inevitabili data la lunga permanenza in acqua i reperti lignei sono molto friabili; dei costituenti del legno, la lignina appare notevolmente compromessa e la cellulosa quasi del tutto scomparsa. Paradossalmente l'acqua, che è una delle cause di degrado, ne favorisce la conservazione; infatti, impregnando la microstruttura lignea, fa sì che vengano mantenute le dimensioni ed i dettagli strutturali del manufatto.

I reperti, una volta riportati in superficie, se privati dell'acqua sono a rischio di collasso strutturale e comunque subiscono variazioni dimensionali e distorsioni. Da cui la necessità di una graduale sostituzione dell'acqua con sostanze consolidanti, che hanno lo scopo di mantenere le caratteristiche e le dimensioni originali.

Negli anni passati i legni degradati impregnati d'acqua sono stati consolidati prevalentemente con soluzioni acquose di PEG (polietilenglicoli)¹, trattamento che richiede tempi lunghi per una completa impregnazione. La lenta diffusione del polimero all'interno della porosità del legno è da mettere in relazione alle dimensioni molecolari dell'impregnante.

In questi ultimi anni comincia a farsi strada una tecnica indicata come polimerizzazione *in situ* che consiste nel far veicolare delle molecole di piccole dimensioni (monomeri) nel materiale da consolidare ed indurire quindi la polimerizzazione con radiazioni o utilizzando opportuni catalizzatori e facendo avvenire la reazione per via termica o per via frontale². Nel primo caso si porta l'intero manufatto, impregnato con il monomero, alla temperatura ottimale di azione dell'iniziatore della reazione; nel secondo caso si sfrutta l'esotermicità del processo che si autosostiene attraverso lo spostamento di un fronte caldo all'interno della massa legno/monomero. In tal caso il manufatto impregnato viene riscaldato solo su una superficie, generalmente perpendicolare alla direzione longitudinale delle fibre.

Anche gli acrilati sono stati ampiamente studiati per trattamenti su materiali porosi sia lignei³ che lapidei⁴ ma presentano l'inconveniente di essere solubili solo in alcuni solventi organici, piuttosto volatili, spesso infiammabili e più o meno tossici.

L'esigenza di utilizzare dei prodotti sempre meno nocivi agli operatori del settore, agli utenti ed all'ambiente impone la ricerca di sostanze non tossiche ed ambientalmente compatibili, possibilmente solubili in acqua, che mediante opportuni catalizzatori siano in grado di polimerizzare nelle cavità della struttura porosa del legno impregnato.

Nell'ambito di questa linea di ricerca, sono stati messi a punto dei trattamenti chimici per via umida che utilizzano come monomero l'isoeugenolo, un equivalente parzialmente idrofobico dei monomeri costituenti la lignina e, come catalizzatori, complessi Salen metallo-centrati, biomimetici degli enzimi: (N,N'-bis(4-sulfosaliciliden) etilendiammino di Rame (II))⁵.

La scelta dell'isoeugenolo per il trattamento dei legni bagnati è stata motivata dal fatto che questo composto, oltre ad avere una struttura simile all'alcol coniferilico, uno dei precursori della lignina, è solubile in soluzioni acquose di etanolo, inoltre esplica una utile attività antibatterica ed antimuffa, non pone problemi di tossicità ed ha un odore non sgradevole.

La polimerizzazione dell'isoeugenolo viene eseguita per accoppiamento ossidativo dei fenossi radicali generati durante il trattamento⁶, in una modalità che mima ciò che avviene in natura nella biosintesi della lignina⁷.

Lo scopo finale di questo studio è stato quello di valutare la possibilità di ottenere polimeri di isoeugenolo, di valutarne l'attività antibatterica e di utilizzarli per il consolidamento di alcuni legni bagnati provenienti dagli scavi archeologici di San Rossore (antico approdo di Pisa).

Risultati e discussione

Studi preliminari *in vitro* hanno permesso di determinare le concentrazioni ottimali del monomero, del catalizzatore e la composizione della miscela solvente che favoriscono la polimerizzazione dell'isoeugenolo. Tale rapporto di concentrazione tra i vari componenti è stato mantenuto in presenza di vari campioni di legno imbibito, differenti per *taxon* e stato di degrado, con lo scopo di monitorare il processo di polimerizzazione *in situ* in condizioni di reale applicabilità.

I campioni di legno erano stati tenuti in acqua, periodicamente sostituita, e conservati al buio alla temperatura di 4 °C. Prima del trattamento i provini di ciascun campione sono stati sottoposti a continui lavaggi fino a quando il valore misurato di conducibilità specifica era risultato inferiore a 10 $\mu\text{S cm}^{-1}$ (corrispondente ad una concentrazione di NaCl di $8 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$) ed il pH circa 7. Inoltre, è stata determinata per ciascun campione la MWC%, percentuale massima d'umidità (differenza tra la massa del campione umido e quella dello stesso, asciugato a 105 °C fino a peso costante, rapportata al peso dell'asciutto). Infine con un densimetro a spostamento di gas AccuPyc 1330 della Micromeritics⁸ è stato possibile ricavare la densità basale (D_b = peso legno/volume umido), la densità di parete (D_p = peso asciutto/volume asciutto) e la porosità ($Z = 1 - D_b/D_p$).

Dalla MWC% si può calcolare la quantità d'acqua presente nel campione mentre dalla determinazione della porosità prima e dopo il processo di polimerizzazione è possibile avere informazioni sull'efficacia del trattamento stesso.

Provini di vari tipi di legno delle dimensioni (cm 4x3x3), sono stati pesati e sono stati misurati con un calibro elettronico digitale (cm 10⁻²) lungo le direzioni longitudinale radiale e tangenziale.

Nella Tabella I sono riportate le sigle dei campioni utilizzati, le loro densità basali e di parete e le loro condizioni di degrado deducibili da Z % ed MWC %.

Provino	TAXON	Db (g/cm ³)	Dp (g/cm ³)	Z %	MWC %
A	Corbezzolo	0.13	1.34	90.2	704
B	Olmo	0.17	1.5	89	549
C3DII	Pino domestico	0.23	1.41	85.7	435
C3CII	Pino domestico	0.13	1.38	90.2	689
Q	Quercia	0.19	1:44	86.8	471

Tabella I.

Sono state effettuate diverse prove di polimerizzazione, con miscele in acqua etanolo al 50 %, contenenti quantità sempre uguali di isoeugenolo e concentrazioni variabili di catalizzatore CuSS, [Cu(Sulfosalen)], allo scopo di trovare le condizioni ottimali per ottenere la migliore resa di polimero ad elevato peso molecolare. I parametri determinati sono stati successivamente applicati nel trattamento dei provini di legno.

Dal peso del campione di legno imbibito d'acqua e dalla relativa MWC %, precedentemente ricavata, è stato determinato il contenuto idrico di ogni campione. Nel recipiente di reazione, è stato quindi introdotto il campione di legno imbibito e una quantità d'acqua bidistillata tale che, considerando anche l'acqua d'impregnazione del campione di legno, il contenuto totale sia di ml 300; inoltre sono stati aggiunti g 1,5 di catalizzatore, CuSS, pari al 25 % della quantità di isoeugenolo che viene usato. La miscela di reazione così ottenuta è stata ossigenata per insufflazione di O₂ per 2 minuti e quindi trattata con ml 2 di H₂O₂ al 3 %. Successivamente una soluzione di isoeugenolo in etanolo, preparata aggiungendo ml 6 di isoeugenolo (PM 164, d = 1,084, mmol 40) a ml 300 di Etanolo, è stata fatta gocciolare lentamente (velocità ~ 0,3ml/min) nel reattore contenente il campione di legno, l'acqua ed il catalizzatore. La reazione è stata condotta a temperatura ambiente, a contatto con l'atmosfera e con blanda agitazione magnetica. Ogni 12 ore si è insufflato ossigeno e ogni 24 ore si sono aggiunti ml 2 di H₂O₂ al 3 %. Alla fine della reazione (72 ore), i legni sono stati estratti e lavati in acqua bidistillata 3 volte. La soluzione di reazione, torbida per la formazione del polimero, è stata filtrata ed il precipitato lavato più volte con acqua. Sul precipitato sono state effettuate delle indagini per la determinazione del peso molecolare del polimero formatosi.

La reazione è stata monitorata mediante cromatografia su strato sottile (TLC) con fase eluente Acetato di Etile/Etere di petrolio nel rapporto 1/2 e con isoeugenolo come riferimento.

I legni trattati sono stati pesati e misurati nelle tre direzioni allo scopo di determinare le variazioni di massa e di volume indotte dalla polimerizzazione. Sono stati allora prelevati dei provini (cm 1x1x2) sui quali è stata effettuata con l'Accupyc 1330 la misura del volume; inoltre, dopo l'allontanamento dell'acqua per liofilizzazione, è stata determinata la massa del campione asciutto e la Dp con il densimetro; dalla Db e dalla Dp è stato possibile risalire al valore di porosità (Z%) alla fine del trattamento. Le variazioni dimensionali riscontrate nei campioni trattati e liofilizzati non sono elevate e generalmente nelle tre direzioni oscillano tra il 5 ed il 7%.

In Tabella II sono riportati i valori di MWC % ottenuti per i vari provini prima e dopo il trattamento e le relative variazioni.

Provino	TAXON	MWC %	MWC %	Variazione %
		Prima trattamento	Dopo trattamento	MWC
A	Corbezzolo	704	402	75,1
B	Olmo	549	368	33
C3DII	Pino domestico	435	290	50
C3CII	Pino domestico	689	305	125,9
Q	Quercia	471	165	185,4

Tabella II.

In Tabella III sono riportati i valori di densità basale ottenuti per i provini dopo il trattamento e di densità di parete dopo liofilizzazione, la porosità e la variazione percentuale di porosità prima e dopo il trattamento.

Provini	Db (g/cm ³)	Dp (g/cm ³)	Z%	Z%	Variazione %
			Prima trattamento	Dopo trattamento	Porosità
A	0,2	1,33	90,2	85	6,2
B	0,21	1,33	89	84,2	5,3
C3DII	0,28	1,38	85,7	79,7	13,7
C3CII	0,25	1,37	90,2	81,8	4,8
Q	0,44	1,36	86,8	67,6	28,4

Tabella III.

E' da notare che il valore di densità basale riscontrato, dopo il trattamento, risulta essere superiore a quello iniziale, mentre il valore della densità di parete risulta essere di poco inferiore a quello determinato prima del trattamento. Questi risultati sono entrambi concordi nell'evidenziare l'effetto dovuto alla polimerizzazione *in situ* dell'isoeugenolo, cioè un aumento della densità basale ed una piccolissima diminuzione della densità di parete dovuta alla stereochimica dei legami che il polioeugenolo forma con la lignina del legno degradato, come in parte è possibile evidenziare con le osservazioni al SEM (microscopia elettronica a scansione). Per valutare da un punto di vista qualitativo la struttura del polimero, sono state svolte analisi in NMR (risonanza magnetica nucleare) ⁹. Il polimero per prima cosa è stato acetilato e poi disciolto con ml 1 di Dimetilsolfossido DMSO-d₆. La soluzione è stata poi prelevata e posta in un tubo NMR. Gli spettri ¹³C-NMR sono stati acquisiti con uno spettroscopio VARIAN MERCURY-400. Dallo spettro NMR è possibile osservare qualitativamente il tipo di legami intermonomerici presenti e calcolare quantitativamente il numero di gruppi fenolici liberi e i gruppi alcolici tenendo in considerazione che il segnale metossilico a 56 ppm è usato come riferimento¹⁰. Gli spettri mostrano la possibile presenza di legami intermonomerici di tipo β-O-4 e β-5 ossia il tipo di legami intermonomerici più rappresentativi della lignina. Sono assenti i legami β-β in quanto l'isoeugenolo non possiede la funzionalità alcolica in posizione β della catena propenoidica. I risultati sono in forte accordo con la letteratura riferita alla dimerizzazione di monolignoli ¹¹. In Tabella IV sono riportati i risultati dell'analisi quantitativa in ¹³C-NMR su campioni di polimero acetilati. Si riportano i valori del numero di alcol primari per gruppo metossile (OH 1°) il numero di alcol secondari (OH 2°),

il numero di fenoli (OH fenolici). Come confronto è riportata la lignina estratta da legno di abete. Si nota come il rapporto tra unità Siringil e Guaiacil sia pari a zero, questo perché il monomero di partenza è monometossilato, invece in natura la doppia metossilazione è comune.

	Sir/Guac	OH 1°	OH 2°	OH fenolici
Abete	0:47	0,51	0,27	0,2
[Cu(SulfoSalen)]	0	0	0,14	0,33

Tabella IV.

Non sono presenti alcool primari, ma sono apparsi alcool secondari nella struttura del polimero, che non sono presenti nell'isoeugenolo di partenza. Questi indicano una polimerizzazione con formazione di chinometidi che subiscono attacco nucleofilo dell'acqua.

Analisi preliminari del polimero non acetilato al ^{31}P -NMR, usando 2-cloro-4,4,5,5-tetrametil-1,2,3-diossafosfolano come derivatizzante, mostrano la presenza di piccole quantità di gruppi fenolici relativi a unità condensate di tipo 5-5' e 4-O-5'.

Parte del prodotto non acetilato è stato invece analizzato con un sistema LC-MS¹². Le analisi in LC-MS sono state eseguite con un HPLC Shimadzu accoppiato con un Spettrometro di massa Shimadzu 2010 tramite un interfaccia APCI. Il campione è stato disciolto in MeOH in concentrazione di 10 ppm ed è stato analizzato per iniezione di μl 5 diretta nella sorgente ionica dello spettrometro di massa. L'analisi è stata eseguita in modalità di scansione positiva utilizzando come fase eluente MeOH 50 %, H₂O 50 % a 1 ml/min di flusso. Come gas di trasporto si è utilizzato Azoto con un flusso di 1,5 ml/min. La temperatura dell' interfaccia è stata impostata a 200 °C, con un potenziale di kV 4,5. Gli spettri sono stati registrati in un range di massa compreso tra 100 e 2000 amu.

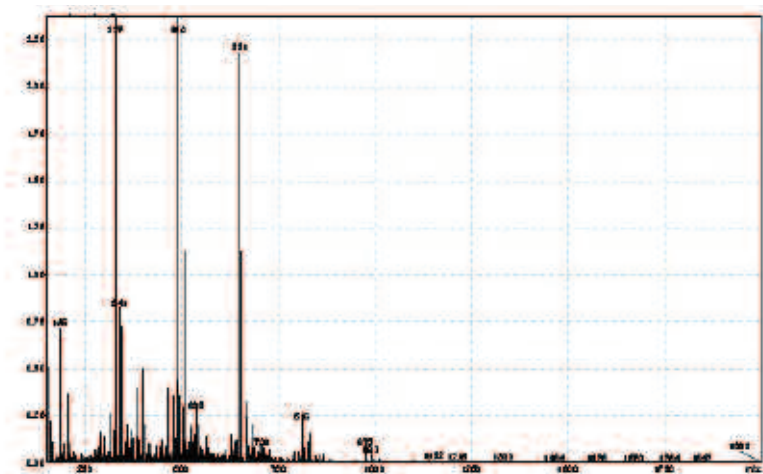


Figura 1. Spettro di massa della soluzione di reazione

In Figura 1 è riportata la zona dello spettro tra 150 e 2000 amu. Sono ben visibili i picchi relativi ai dimeri di isoeugenolo. Infatti sono presenti le masse 327 e 343, riferibili ai dimeri β -5 e β -O-4.

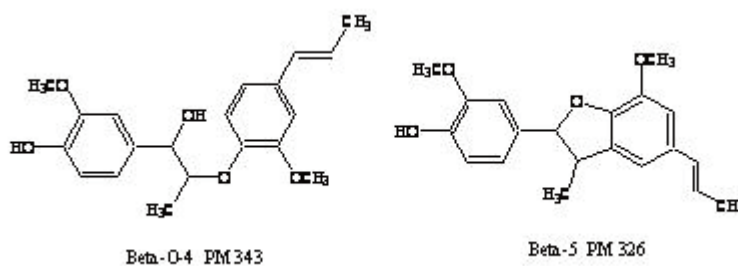


Figura 2. Formule chimiche dei dimeri PM 343 e PM 326

Come si può notare, il dimero β -5 (326 amu) ha una massa pari alla somma di due unità di isoeugenolo (164 amu) meno 2, dovuta all'accoppiamento ossidativo deidrogenativo. Il dimero β -O-4 (344 amu) ha una massa derivante dall'unione di due unità di isoeugenolo deidrogenate più 18, ossia una molecola di acqua che viene introdotta in posizione β sul chinometide intermedio.

I trimeri contengono due legami intermonomerici che possono essere di tipo β -5 o β -O-4. Calcolando le combinazioni possibili otteniamo tre composti in cui i legami intermonomerici presenti sono due β -5 (ione 488), un β -5 e un β -O-4 (ione 506) e due β -O-4 (ione 524). Tutti questi picchi sono individuabili nello spettro di massa.

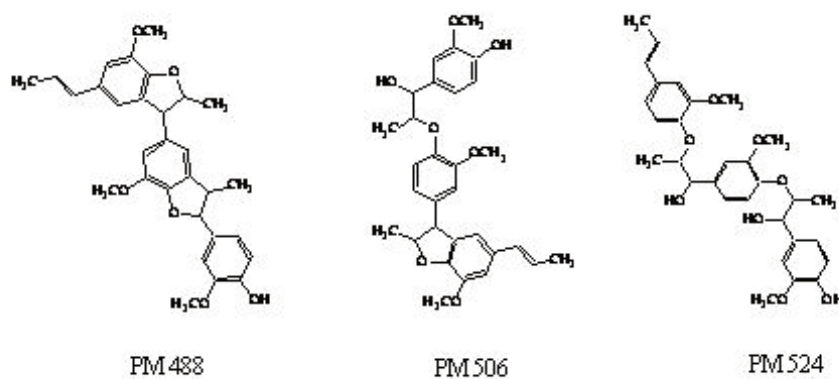


Figura 3. Formule chimiche dei trimeri PM 488, PM 506 e PM 524

Un analogo discorso può essere fatto per i tetrametri, in cui la differenza di massa di 18 amu è sempre dovuta all'inserzione di una molecola di acqua.

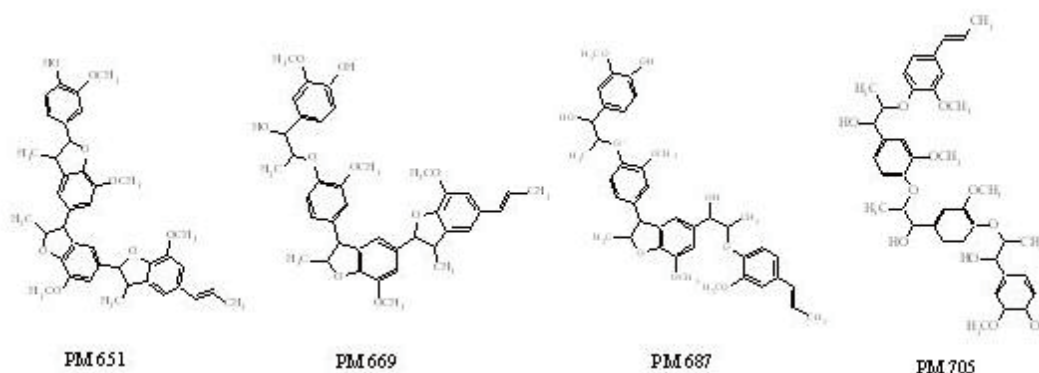


Figura 4. Formule chimiche dei tetrameri PM 651, PM 669, PM 687 e PM 705

I tetrameri possono anche formarsi per accoppiamento di dimeri secondo lo schema 5-5'. Sono visibili sullo spettro, sia pur con picchi molto piccoli, anche i cluster relativi ai pentameri (812, 830, 848 e 866 amu) ed esameri (975, 993, 1011, 1029, 1047, 1065 amu).

Per determinare le dimensioni dei polimeri da noi ottenuti abbiamo utilizzato la cromatografia di gel permeazione (GPC)¹³. La calibrazione è stata ottenuta con polistireni PL Polymer Standards della Polymer Laboratories. Per l'analisi i campioni sono stati sciolti in Tetraidrofurano (Fluka >99.8% for HPLC non stabilizzato) a una concentrazione di 1 mg/ml. Si è utilizzata una colonna PL MIXED gel E 3 mm. Il sistema HPLC utilizzato è stato un Waters 3000 con flusso di fase eluente (THF) di un 1 ml/min, e con un rivelatore UV-Vis Waters LC Spectrophotometer 481, impostato su una lunghezza d'onda di 280 nm, collegato con un integratore HP 3396 A; si sono iniettati volumi di 50 μ l di soluzione. Le analisi in GPC hanno dato risultati relativi al grado di polimerizzazione dell'isoeugenolo. I risultati sono riportati in tabella V come peso molecolare medio numerale (M_n), come peso molecolare medio ponderale (M_w) e come rapporto di polidispersione (M_w/M_n).

Provinci	Mn	Mw	Mw/Mn
MWL	3503	9847	2:08
[Cu(SulfoSalen)]	1233	2837	2:02

Tabella V. Risultati delle analisi in GPC espresse come Mn e Mw relative alle prove di polimerizzazione con [Cu(sulfosalen)]; MWL lignina di riferimento

Conclusioni

Il sistema polimerizzativo *in situ* ha diversi vantaggi rispetto ai metodi tradizionali, infatti può promuovere una buona azione consolidante richiedendo tempi molto più brevi rispetto a molti dei consolidanti più usati. L'uso dell'isoeugenolo risulta essere interessante per la sua somiglianza con i monolignoli naturali, anche se la sua polimerizzazione è sottoposta agli stessi problemi, ossia la scarsa solubilità degli oligomeri, che ne pregiudica il grado di polimerizzazione. Inoltre durante il trattamento non si sviluppano sostanze pericolose e/o sgradevoli.

E' interessante notare come durante i trattamenti di particolari legni, come le querce, vengono solubilizzati nella miscela di reazione alcuni componenti presenti nel legno. Tra questi componenti grande importanza possono rivestire i composti polifenolici, come i flavonoidi e i tannini. Ad esempio sappiamo che il legno di quercia libera composti contenenti acido gallico e, in maniera più marcata, un composto detto quercetina che presenta particolari proprietà¹⁴. Questo composto infatti possiede un certo numero di gruppi fenolici che possono reagire nel sistema polimerizzativo ed entrare a far parte del polimero dell'isoeugenolo. In questo caso la quercetina può svolgere un ruolo di ramificante del polimero aumentando il grado di polimerizzazione. I buoni risultati ottenuti nelle prove effettuate su legno di quercia, in relazione ai risultati ottenuti su legno di abete, potrebbero infatti essere legati alla presenza di questi composti.

Bibliografia

- BOERJAN, RALPH, BAUCHER 2003: W. Boerjan, J. Ralph, M. Baucher, *Lignin biosynthesis*, in *Ann. Rev. Plant Biol.* 54, 2003, pp. 519-546
- CANEVALI et al. 2002: C. Canevali, M. Orlandi, L. Pardi, B. Rindone, R. Scotti, J. Sipila, F. Morazoni, *Oxidative degradation of monomeric and dimeric phenylpropanoids: reactivity and mechanism investigation*, in *J. Chem. Soc. Dalton Transactions* 15, 2002, 3007-3014
- CANEVALI et al. 2005: C. Canevali, M. Orlandi, L. Zoia, R. Scotti, E-L Tolppa, J. Sipila, F. Agnoli, F. Morazoni, *Radicalization of lignocellulosic fibers, related structural and morphological changes*, in *Biomacromolecules* 6, 2005, 592-1601
- COLOMBINI et al. 2007: M. P. Colombini, M. Orlandi, F. Modugno, E-L. Tolppa, M. Sardelli, L. Zoia, C. Crestini, *Archaeological Wood Characterisation By Py/Gc/Ms, Gc/Ms, Nmr And Gpc Techniques*, in *Microch. J.* 85, 2007, 164-173
- DEWICK 2001: P. M. Dewick, *Chimica, Biosintesi e bioattività delle sostanze naturali*, PICCIN, 2001
- DONATO & AGOZZINO 2001: I.D. Donato, P. Agozzino, *Composti polimerici per il consolidamento di legni degradati*, in *Science and Technology for Cultural Heritage*, 13, 2001, pp. 71-81
- DONATO & MULÈ CASCIO 2004: I. D. Donato, M. Mulè Cascio, *Determinazione delle densità di legni integri e degradati su campioni di piccole dimensioni e forma irregolare*, in *Arkos, Scienza e Restauro* 1, 2004, pp. 39-43
- EVTUGUIN & AMADO 2003: D. Evtuguin, F. Amado, *Application of electrospray ionization mass spectrometry to elucidation of the primary structure of lignin*, in *Macromol. Biosci.* 3, 2003, pp. 339-343
- HAIKARAINEN et al. 2001: A Haikarainen, J. Sipila, P. Pietikäinen, A. Pajunen, I. Mutikainen, *Synthesis and characterization of bulky salen-type complexes of Co, Cu, Fe, Mn and Ni with amphiphilic solubility properties*, in *Journal of the Chemistry Society, Dalton Transactions*, 2001, pp. 991-995
- HIMMEL, TATSUMOTO 1989: M. E. Himmel, K. Tatsumoto, *Molecular weight distribution of aspen lignins estimated by universal calibration*, in *Journal of American Chemical Society*, 1989
- HOFFMANN 1986: P. Hoffmann, *On the stabilization of waterlogged wood with PEG. II. Designing two-step treatment for multi-quality timbers*, in *Studies in Conservation* 31, 1986, pp.103-113
- HOFFMANN 1990: P. Hoffmann, *On the stabilization of waterlogged softwood with Polyethylene glycol (PEG). Four species from China and Korea*, in *Holzforschung* 44, 1990, pp.87-93
- HOFFMANN 2001: P. Hoffmann, *To be and to continue being a cog: the conservation of the Bremen Cog of 1380*, in *The International Journal of Nautical Archaeology* 30, 2001, pp.129-140
- POJMAN 1991: J. A. Pojman, *Traveling fronts of methacrylic acid polymerisation*, in *Journal of American Chemical Society* 113, 1991, p. 6284
- REALE et al. 2004: S. Reale, A. Di Tullio, N. Spetri, F. De Angelis, *Mass Spectroscopy in the biosynthetic and structural investigation of lignins*, in *Mass Spectroscopy Reviews* 23, 2004, pp. 87-126

- RINDONE et al. 2005: B. Rindone, P. Rummakko, M. Bruschi, L. Zoia, M. Orlandi, *Asymmetric Biomimetic Oxidations of Phenols using Oxazolidines as Chiral Auxiliaries: The Enantioselective Synthesis of (+)- and (-)-Dehydrodiconiferyl Alcohol*, in *J. Phys. Org. Chem* 19, 2005, pp. 592-596
- STOCHI et al. 1989: E.J. Stochi, A. Haney, W. Mahn, T.C. Ward, *Molecular weight determination of Hydroxypropylated lignins*, in *Journal of American Chemical Society*, 1989
- SIPILA, HAIKARAINEN 2001: J., Sipilä and H. Haikarainen, *Salen complexes with bulky substituents as useful tools for biomimetic phenol oxidation research*, in *Bioorg & Medicinal Chemistry*, 2001, pp. 1633-1638
- TERASHIMA et al. 1995: N. Terashima, R.H. Atalla, S. A. Ralph, L.L. Landucci, C. La Pierre, B. Monties, *New preparation of lignin polymer models under condition that approximate cell wall lignification. Synthesis of novel lignin polymer models and their structural characterization by ¹³C-NMR*, in *Holzforschung* 49, 1995, pp. 521-527
- VICINI et al. 2001: S. Vicini, S. Margotti, G. Moggi, E. Pedemonte, *In situ copolymerisation of ethylmethacrylate and methylacrylate for restoration of stone artefacts*, in *Journal of Cultural Heritage* 2, 2001, pp. 143-147
- ZOIA et al. 2008: L. Zoia, C. Canevali, M. Orlandi, E.L. Tolppa, J. Sipila, F. Morazzoni, *Radical formation on TMP fibers and related lignin chemical changes*, in *BioRes.* 3(1), 2008, pp. 21-33

Note

- 1 HOFFMANN 1986; HOFFMANN 1990; HOFFMANN 2001
- 2 POJMAN 1991
- 3 DONATO & AGOZZINO 2001
- 4 VICINI et al. 2001
- 5 CANEVALI et al. 2002; HAIKARAINEN et al. 2001; SIPILA & HAIKARAINEN 2001
- 6 RINDONE et al. 2005
- 7 TERASHIMA et al. 1995
- 8 DONATO & MULÈ CASCIO 2004
- 9 CANEVALE et al. 2005; COLOMBINI et al. 2007
- 10 ZOIA et al. 2008
- 11 BOERJAN, RALPH, BAUCHER 2003
- 12 REALE et al. 2004; EVTUGUIN & AMADO 2003
- 13 HIMMEL, TATSUMOTO 1989; STOCHI et al. 1989
- 14 DEWICK 2001