

ESTUDIO DE LOS SEDIMENTOS Y LA MATERIA PARTICULADA DE LA LAGUNA DE SANTA OLALLA MEDIANTE PIRÓLISIS ANALÍTICA

F. Hans*, C. Sáiz-Jiménez* y J.W. de Leeuw**

* Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología, C.S.I.C., Apartado 1052, 41080 Sevilla.

** Departamento de Química e Ingeniería Química, Universidad Tecnológica de Delft, De Vries van Heijstplantsoen 2, 2628 RZ Delft, Países Bajos.

Palabras clave: Pyrolysis, sediment, particulated matter, Doñana coastal lagoon.

ABSTRACT

ANALYTIC PYROLYSIS OF SEDIMENTS AND PARTICULATED MATTER OF SANTA OLALLA LAGOON

The organic matter present in the sediment of the Santa Olalla lagoon (Doñana National Park) and the particulate organic matter of the water column were studied by pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry. The data thus obtained show among others the presence of homologous series of n-alkanes, n-alk-1-enes and n- α,ω -alkadienes. This characteristic pattern is the reflection of a highly aliphatic biopolymer, previously found in some algae and plant cuticles. The abundance of pristenes, phytadienes and heptadecane in the particulate organic matter points to a relatively high contribution of phytoplankton.

INTRODUCCIÓN

La materia orgánica particulada y la materia orgánica disuelta son de gran importancia para los procesos metabólicos de los organismos que se desarrollan en ecosistemas acuáticos, ya que es un medio de intercambio de materia y energía entre los componentes del ecosistema.

Para entender los complejos procesos de transformación de la materia orgánica en ecosistemas acuáticos, es necesario conocer la naturaleza química de tales sustancias. Sin embargo, ello suele ser difícil debido a su estructura macromolecular, por lo que es necesario su abordaje mediante técnicas degradativas, a fin de producir compues-

tos más simples, que puedan ser identificados y relacionados con los materiales de origen. Entre las muchas técnicas empleadas para el estudio de las macromoléculas, una de las más poderosas y resolutivas es la pirólisis analítica.

Recientemente Boon et al. (1983) estudiaron la naturaleza química de la materia orgánica particulada, procedente de plantas acuáticas, utilizando pirólisis-espectrometría de masas. Este método proporciona información sobre similitudes y diferencias entre biopolímeros, pero no permite un análisis detallado de sus componentes moleculares. La pirólisis-cromatografía de gases-es-

pectrometra de masas, por el contrario, sí permite la identificación de los productos de pirólisis. En los últimos años, se ha utilizado esta técnica para caracterizar polímeros tales como ligninas, polisacáridos, sustancias húmicas, etc. (Genuit *et al.*, 1987); Van der Kaaden *et al.*, 1983; Sáiz-Jiménez y De Leeuw, 1985). En este último trabajo se comprobó claramente que los compuestos no poliméricos, volátiles a temperaturas elevadas, no sólo no se fragmentan sino que simplemente se evaporan. Por otra parte, las sustancias poliméricas de elevado peso molecular, por efecto de la pirólisis, se fragmentan en compuestos más pequeños, volátiles, que pueden ser analizados por cromatografía de gases-espectrometría de masas. Por tanto, es posible caracterizar la materia orgánica presente en sedimentos y suelos e identificar muy rápidamente, sin ningún tipo de pretratamiento, las muestras mediante evaporación/pirólisis analítica.

En el presente estudio se ha elegido la laguna de Santa Olalla (Parque Nacional de Doñana) debido a su importancia, ya que es el único ecosistema acuático que mantiene una buena cantidad de agua en verano, por lo que se convierte en el último reducto en el que se refugia una gran parte de la fauna del Parque. Asimismo es, de todas las lagunas peridunares la única que presenta a lo largo del año una considerable cantidad de materia particulada en sus aguas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Laguna de Santa Olalla. La laguna es salina (conductividad entre 3 y 10 mS/cm). Sus aguas son cloruradas sódicas con alta alcalinidad. El pH oscila entre 8.5 y 11. Es una laguna hipereutrófica que, en el período de estiaje, reúne condiciones favorables para la proliferación de cianobacterias. Durante la primavera de 1986, en la que una proliferación de *Daphnia magna* consumió una gran parte del fitoplancton, se desarrolló un tapiz bentónico de algas filamentosas pertenecientes a los géneros *Cladophora*, *Oedogonium* y *Spirogyra*.

Materia particulada. Se recogieron 5 litros de agua de la laguna, que se centrifugó a 3.000 g, el precipitado se lavó varias veces con agua destilada y se liofilizó o secó en estufa a 30°C. Las muestras se tomaron desde noviembre de 1985 a julio de 1986, con periodicidad mensual. Durante los meses de agosto a octubre no se nos permitió el acceso a la laguna.

Sedimento. En abril de 1986 se tomó una muestra de sedimento del centro de la laguna. La altura de la columna de agua era de 1,20 m. aproximadamente. La muestra tomada con draga, se transportó refrigerada y se congeló inmediatamente, liofilizándose después.

Pirólisis-cromatografía de gases-espectrometría de masas. Se llevó a cabo en una unidad de pirólisis modificada para su uso a elevadas temperaturas, similar a la descrita por Sáiz-Jiménez y De Leeuw, 1986.

Las muestras se suspendieron en metano y una gota (10-20 µg de muestra) se aplicó a un filamento ferromagnético con una temperatura de Curie de 770°C.

La elección de la temperatura se hizo en función de estudios previos, donde se comprobó que ésta era adecuada para originar una fragmentación térmica representativa de los diversos tipos de moléculas existentes en muestras de suelos y sedimentos, especialmente en lo que respecta a polímeros alifáticos. Los productos de pirólisis se separaron en una columna de sílice fundida (28 m x 0,5 mm d.i.) rellena de CPSil 5 (1,25 µ de espesor de película), programada de 0 a 300°C, a una velocidad de 3°C/minuto. Como gas portador se utilizó helio. El cromatógrafo (Varian mod. 3200) se acopló a un espectrómetro de masas cuadrupolo Varian MAT 44. Los espectros (IE) se obtuvieron a 80 eV y con un ciclo de barrido de 2 segundos.

RESULTADOS

Los productos de evaporación y pirólisis de las muestras se identificaron comparando sus espectros de masas con los de librería y con espec-

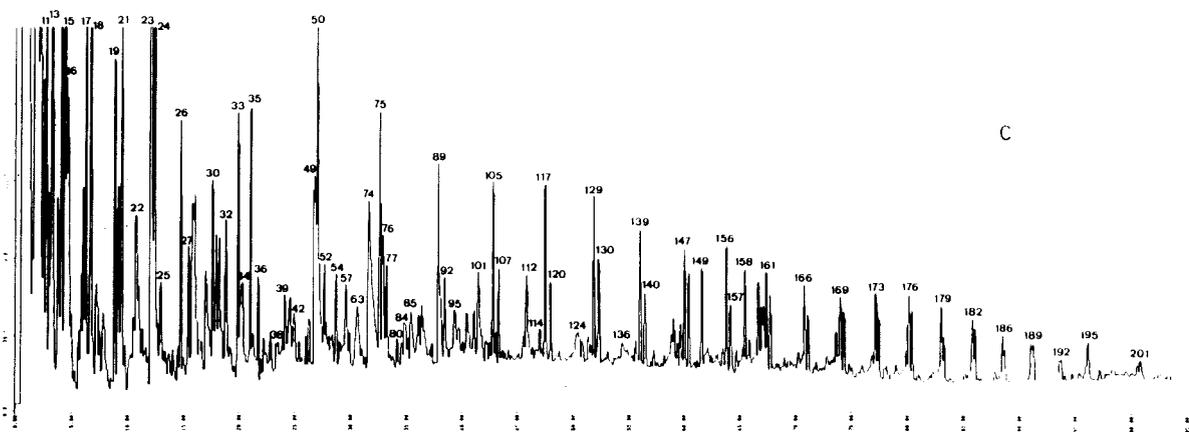
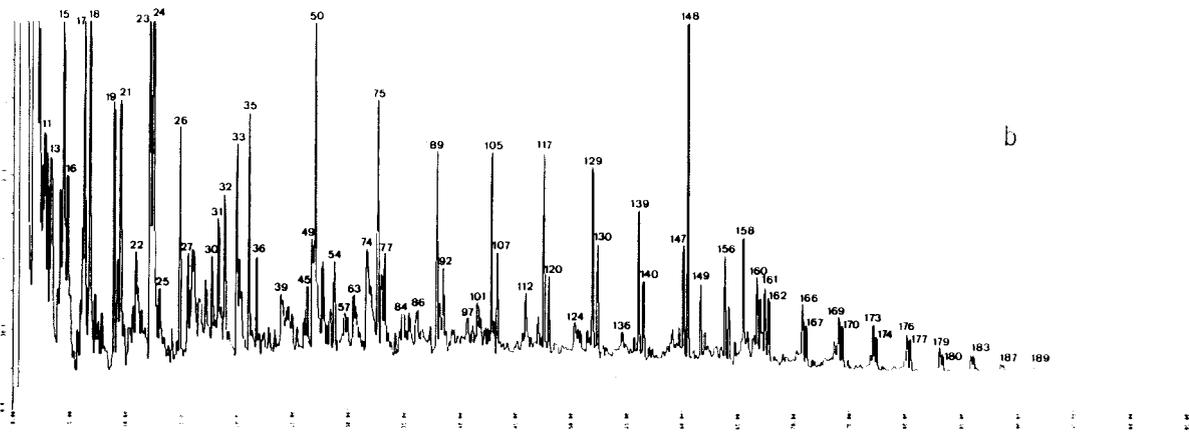
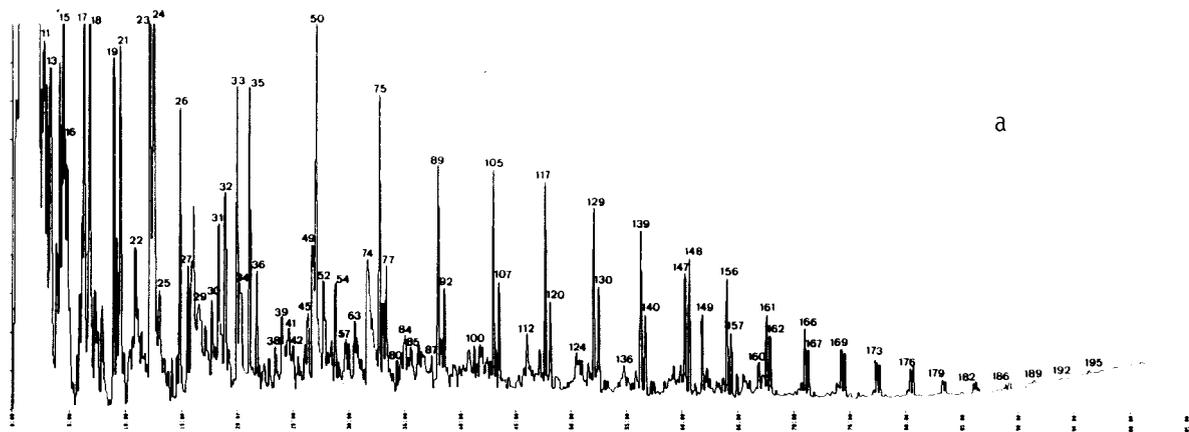


Figura 1.- Pirograma del sedimento (a) y materia particulada recogida en noviembre de 1985 (b) y mayo de 1986 (c) de la laguna de Santa Olalla.
 Pyrogram of sediment (a) and suspended particulated matter collected in november 1985 (b) and may 1986 (c) from Santa Olalla lagoon.

Tabla 1.-Productos de pirólisis de sedimentos y materia particulada de La laguna de Santa Olalla.
Pyrolysis products from sediments and suspended particulated matter of Santa Olalla lagoon.

Pico	Compuesto	Pico	Compuesto	Pico	Compuesto	Pico	Compuesto
1	Monóxido de carbono	53	Indano	105	Tridec-1-eno	156	Octadec-1-eno
2	Dióxido de carbono	54	Indeno	106	C ₁₄ , isoprenoide	157	Octadecano
3	Metano	55	C ₄₁ alquilbenceno	107	Tridecano	158	Fitadieno
4	Eteno	56	C, alquilbencen	108	Bifenilo	159	C,, alquilbenceno
5	Etano	57	C ₄ alquilbenceno	109	C, alquilbenceno	160	Fitadieno
6	Propeno	58	Cianuro de benalo	110	Metilindol	161	Nonadec-1-eno
7	Propano	59	C, alquilbenceno	111	C, alquilnaftaleno	162	Nonadecano
8	But-1-eno	60	C ₄ alquilbenceno	112	Metilindol	163	Azufre elemental
9	Butano	61	C ₄₁ alquilbenceno	113	C, alquilnaftaleno	164	C,, alquilbenceno
10	Acetona	62	Metilindeno	114	a,o Tetradecadieno	165	Acido palmítico
11	Pent-1-eno	63	Metilbenzoniitrilo	115	C, alquilnaftaleno	166	Eicos-1-eno
12	Furano	64	Cianopiridina	116	Acenafteno	167	Eicosano
13	Pentano	65	C ₄ alquilbenceno	117	Tetradec-1-eno	168	C ₁₄ alquilbenceno
14	Hex-1-eno	66	C,, alquilbenceno	118	C, alquilnaftaleno	169	Heneicosl-eno
15	Hexano	67	r-Cresol	119	Acenaftileno	170	Heneicosano
16	2-Metilfurano	68	C ₄₁ alquilbenceno	120	Tetradecano	171	C ₁₅ alquilbenceno
17	Benceno	69	C ₄₁ alquilbenceno	121	C, alquilnaftaleno	172	Acido esteárico
18	Tiofeno	70	Metiltiobenceno	122	Fenilpiridina	173	Docos-1-eno
19	Hept-1-eno	71	Metilbenzofurano	123	C,, alquilbenceno	174	Docosano
20	2,5-Dimetilfurano	72	a,o Undecadieno	124	C, alquilbenceno	175	C, alquilbenceno
21	Heptano	73	Metilbenzoniitrilo	125	Difenilmetano	176	Tricos-1-eno
22	Piridina	74	o-cresol	126	Dibezofurano	177	Tricosano
23	Tolueno	75	Undec-1-eno	127	a,o Pentadecadieno	178	C ₁₇ alquilbenceno
24	Metiltiofeno	76	Metilbenzoniitrilo	128	C, alquilbenceno	179	Tetracos-1-eno
25	Pirrol	77	Undecano	129	Pentadec-1-eno	180	Tetracasano
26	Oct-1-eno	78	C ₄₁ alquilbenceno	130	Pentadecano	181	C ₁₈ alquilbenceno
27	Octano	79	Metilindeno	131	C ₉ alquilbenceno	182	Pentacos-1-eno
28	Metilpiridina	80	Azuleno	132	Fenaleno	183	Pentacosano
29	Alcohol bencílico	81	Metilindeno	133	Fluoreno	184	C, dialquilftaiato
30	Metilpirrol	82	C, alquilbenceno	134	C, alquilnaftaleno	185	C ₁₉ alquilbenceno
31	Etilbenceno	83	C ₅ alquilbenceno	135	C ₉₁ alquilbenceno	186	Hexacosl-eno
32	m- y/o p-Xileno	84	Naftaleno	136	C ₉ alquilbenceno	187	Hexacosano
33	Estireno	85	C, alquilfenol	137	Xanteno	188	C ₂₀ alquilbenceno
34	o-Xileno	86	C, alquilfenol	138	a,o Hexadecadieno	189	Heptacos-1-eno
35	Non-1-eno	87	a,o Dodecadieno	139	Hexadec-1-eno	190	Heptacosano
36	Nonano	88	Dimetilbenzofurano	140	Hexadecano	191	C ₂₁ alquilbenceno
37	C, alquilbenceno	89	Dodec-1-eno	141	Metilfluoreno	192	Octocos-1-eno
38	Metilestireno	90	C,, alquilbenceno	142	Bifenol	193	Octocosano
39	C, alquilbenceno	91	C, alquilfenol	143	Metilfluoreno	194	C ₂₂ alquilbenceno
40	C, alquilbenceno	92	Dodecano	144	C ₁₀ alquilbenceno	195	Nonacos-1-eno
41	Benzoniitrilo	93	C,, alquilbenceno	145	Metilfluoreno	196	Nonacosano
42	C, alquilbenceno	94	Quinolina	146	a,o Heptadecadieno	197	C ₂₃ alquilbenceno
43	C ₃ alquilbenceno	95	Dihidrometilnaftaleno	147	Heptadec-1-eno	198	Triacont-1-eno
44	Benzofurano	96	Dihidrometilnaftaleno	148	Heptadecano	199	Triacontano
45	C, alquilbenceno	97	Dihidrometilnaftaleno	149	Prist-1-eno	200	C ₂₄ alquilbenceno
46	Metilestireno	98	Metilazuleno	150	Fenantreno	201	Hentriacont-1-eno
47	C, alquilbenceno	99	C ₆ alquilbenceno	151	Antraceno	202	Hentriacontano
48	a,o Decadieno	100	Metilnaftaleno	152	Prist-2-eno	203	Dotriacont-1-eno
49	Fenol	101	Vinilfenol	153	C ₁₁ alquilbenceno	204	Dotriacontano
50	Dec-1-eno	102	Indol	154	C, alquilfluoreno	205	Tritriacont-1-eno
51	C, alquilbenceno	103	Metilnaftaleno	155	a,o Octadecadieno	206	Tritriacontano
52	Decano	104	a,o Tridecadieno				

tros de masas y tiempos de retención de compuestos modelos. Asimismo, los resultados obtenidos en la pirólisis de polímero definidos, como celulosa, amilosa, quitina, proteínas, ligninas, etc. permitieron una identificación detallada de productos de pirólisis.

Los pirogramas del sedimento y de dos muestras de materia particulada *se* presentan en la Figura 1. La identificación de los picos se encuentra en la Tabla 1. Debido a que no *se* efectuó ningún pretratamiento, los picos presentes en los pirogramas reflejan los compuestos generados por pirólisis de componentes primarios (productos de pirólisis reales) y también compuestos que están presentes en las muestras y simplemente se evaporan (componentes libres).

El pirograma del sedimento (Figura 1a) está dominado por una serie de hidrocarburos alifáticos (C_6 a C_{33}) con tripletes característicos de α,ω -alcadienos, 1-alquenos y n-alcenos. Junto a estos hidrocarburos de cadena lineal se identificaron unos pocos isoprenoides, entre los que destacan prist-1-eno y prist-2-eno. Por otra parte, también abundan, aunque en menor proporción, la serie de alquilbencenos saturados e insaturados (C_1 a C_{11}), especialmente los de cadena corta.

Entre los hidrocarburos policíclicos aromáticos se identificaron azuleno, naftaleno, fluoreno y xanteno, así como algunos de sus derivados metilados.

Una búsqueda específica de productos de pirólisis típicos de ligninas (metoxi- y dimetoxifenoles) no dio resultado positivo, aunque sí están presentes derivados fenólicos como fenol, cresoles, xilenoles, vinilfenol y bifenol, siendo los primeros bastante abundantes. También se identificaron furano, piridina, pirrol, tiofeno, nitros, indol y algunos de sus derivados metilados. Los compuestos nitrogenados tienen su origen probablemente en péptidos o aminoácidos. Es particularmente interesante la identificación de azufre elemental.

Los pirogramas de las muestras de materia particulada obtenidas a lo largo del tiempo de estudio así como las del sedimento son muy similares entre sí (Figuras 1a y 1c). Únicamente en la muestra obtenida en noviembre de 1985, coincidente con una proliferación de *Spirulina* (Figura

1b) existen diferencias significativas reflejadas en la abundancia en heptadecano y fitadienos. Los fitadienos, que aparecen generalmente como picos importantes en la materia particulada, no lo son tanto en el sedimento. Es interesante destacar que en la materia particulada *se* identificó un mayor número de hidrocarburos policíclicos aromáticos que en el sedimento, tales como acenafteno, acenaftileno, fenaleno, fenantreno, antraceno y también miembros de la serie de alquilbencenos (hasta C_{24}). En las muestras de materia particulada no apareció azufre elemental.

DISCUSIÓN

La laguna de Santa Olalla presenta una gran productividad primaria, con condiciones favorables para la proliferación de cianobacterias, especialmente en períodos de estiaje, donde abundan *Spirulina* y *Anabaenopsis*. También se han encontrado algas entre las que destacan *Ankistrodesmus*, *Cladophora*, *Oedogoniurn* y *Spirogyra*, particularmente en primavera. La lista no es exhaustiva, sino que corresponde a géneros predominantes. Margalef (1976) registró una gran variedad de especies algales en la laguna, abundando en diciembre de 1968 *Anabaenopsis tanganykae*, *Microcystis aeruginosa*, *Aphanothece clarthrata*, *Pediastrum boyanum*, etc.

En noviembre de 1985, *Spirulina jenneri* constituía el 99% de la biomasa presente en las aguas de la laguna. La alcalinidad de las aguas y la limitación que la alta densidad de fitoplancton pone a la transmisión de la luz, origina que la vegetación bentónica no *se* desarrolle bien, salvo en reductos litorales en los que crecen helófitos. La vegetación litoral está compuesta por *Scirpus maritimus* y, según las épocas, aparecen *Ranunculus*, *Rupia* y *Lemna*, que parecen tener poca importancia en el aporte de biomasa en comparación con el fitoplancton.

La acumulación de biomasa fitoplanctónica origina que gran parte de la transferencia de energía se haga en forma detnica, a través de la intervención de bacterias. Así, los sedimentos están constituidos por acumulación de materia orgáni-

ca procedente de la descomposición del fitoplancton, de espesor variable, mayor a medida que se aleja de la orilla, llegando a más de un metro en el centro de la laguna. Si se considera que el detritus derivado del plancton sufre una progresiva descomposición a medida que se va hundiendo y que las bacterias utilizan preferencialmente los carbohidratos~proteínas, ácidos grasos y compuestos de bajo peso molecular, persistiendo el carbono más refractario, y que, por otra parte, la pirólisis a 770°C permite una más extensa ruptura de ese carbón refractario, resistente a la biodegradación por lo que, consecuentemente, otros componentes (productos de pirólisis de polisacáridos, proteínas, etc.) disminuyen comparativamente en el pirolizado, es fácil comprender que el sedimento presente pocos productos de pirólisis directamente atribuibles a carbohidratos y proteínas.

En la materia particulada se encuentran productos de pirólisis considerados como biomarcadores. En efecto, la identificación de fitadienos tiene su origen en la presencia de clorofila, concretamente el grupo fitol. Pirólisis de tapetes microbianos formados por *Lyngbya aestuarii*, *Microcoleus chthonoplastes*, bacterias fotosintéticas y vainas residuales produjeron fitenos y pristenos (Philp et al. 1978a), mientras que los ésteres de fitol, clorofila y bacterioclorofilas aparecen como fitadienos en pirolizados, como demostraron Van der Meent et al. (1980).

La presencia de pristenos en pirolizados fue, originalmente, relacionada con el grupo fitol de clorofila, ya que la pirólisis de clorofila y feofitina producían una variedad de compuestos isoprenoides que dominaban el pirograma, entre ellos fitenos y fitadienos, así como prist-1-eno (Larter et al. 1979). Sin embargo, Goossens et al. (1984) demostraron que la principal fuente de prist-1-eno en sedimentos son los tocoferoles, relativamente abundantes en organismos fotosintéticos, y que la pirólisis de α -tocoferol produce duroquinona y prist-1-eno, este último mayoritariamente.

La muestra de la materia particulada recogida durante la proliferación de *Spirulina* (Figura 1b) presentó un abundante pico correspondiente a heptadecano. Gelpi et al. (1970) estudiaron la composición de hidrocarburos de doce especies de algas, encontrando que heptadecano es el

componente mayoritario en diez de ellas, incluyendo *Spirulina platensis*. Boon et al. (1981) identificaron heptadecano y heptadeceno como los componentes mayoritarios entre los hidrocarburos de un tapete microbiano tomado entre 0 y 3 mm. del sedimento de un lago del Sinaí (Solar Lake). Asimismo, Philp et al. (1978b) observaron que el hidrocarburo predominante en un tapete microbiano de Laguna Guerrero en la Baja California, fue también heptadecano. En consecuencia, el abundante pico de heptadecano, junto a los de fitadienos, encontrados en la materia particulada recogida en noviembre de 1985 indican, claramente, una influencia del fitoplancton en su composición. En el sedimento, por el contrario, la abundancia de estos compuestos se ha reducido (comparar Figuras 1a y ab), debido a los procesos de degradación que se dan cuando el detritus, derivado del plancton, se hunde a través del epilimnion.

La principal característica de los pirogramas de materia particulada, así como del sedimento, es la dominancia de tripletes de hidrocarburos alifáticos, como las series de n -alcanos, 1-alquenos y α,ω -alcadienos, cuyo origen pudiera estar en el fitoplancton. Se ha encontrado que el pirolizado de *Bofyococcus braunii* produce un cromatograma semejante, con las tres series de hidrocarburos, aunque aparecen además otras series más complejas (Largeau et al., en preparación). *B. braunii* fue aislada por Margalef (1976) en las proximidades del Parque Nacional de Doñana (Marismas de Hinojos, laguna en Punta Umbría) y en una de las lagunas del sistema peridunar al que pertenece Santa Olalla (Zahillo). Es posible que este alga también se encuentre en las restantes lagunas peridunares del Parque, pero su presencia en Santa Olalla no es abundante o, al menos, no aparece frecuentemente en los muestreos realizados.

El origen de los tripletes, pues, hay que buscarlo en otros organismos que pudieran ser las algas filamentosas o las cianobacterias. En este sentido es de destacar que el pirolizado de la materia particulada, obtenido cuando la biomasa presente en las aguas de la laguna correspondía en un 99% a *Spirulina jenneri*, presentaba los tripletes. Por ello se puede especular que el material poli-

mérico, que por pirólisis origina los tripletes en el sedimento y la materia particulada provenga de polímeros de naturaleza alifática presentes en estructuras moleculares de cianobacterias.

Otras posibles fuentes podrían ser las cutículas (Nip et al., 1985) presentes en la vegetación que rodea la laguna o transportadas en los excrementos de aves y ganado que frecuentan la zona. El biopolímero cuticular estudiado por Nip et al. (1985) presente en los frutos, ciertamente no es degradable por los procesos digestivos de las aves o rumiantes, por lo que existiría un flujo de biopolímero, resistente a la biodegradación, al interior de la laguna y una acumulación. Sin embargo, la elevada productividad primaria de la laguna permite concluir que la contribución más significativa sería la derivada de estructuras presentes en organismos fitoplanctónicos y algas filamentosas. Ésta es una hipótesis que necesita un mayor soporte experimental.

El biopolímero, resistente a la biodegradación y diagénesis, constituye la materia orgánica más refractaria y ha sido encontrado también en la parte más resistente del humus del suelo (Sáiz-Jiménez y De Leeuw, 1987).

Existe evidencia de que los compuestos fenólicos y lignina en tejidos vegetales son los principales precursores de las sustancias húmicas en suelos (Stevenson, 1982). En ecosistemas acuáticos se encuentran plantas emergentes cuyas partes aéreas, que son las más lignificadas, se descomponen rápidamente. En la laguna de Santa Olalla existen pocas plantas sumergidas, habiéndose observado *Rupia* y *Ranunculus*, mientras que como emergentes se encuentra *Scirpus maritimus*, que al comienzo de la época de estío, por retirada de las aguas, quedan en zonas más o menos secas. La descomposición de esta última especie parece probable que se dé en el suelo arenoso y que su mineralización tenga escasa repercusión sobre la laguna.

En la laguna de Santa Olalla, la lignina no parece ser único ni importante precursor de las sustancias húmicas presentes en sedimentos, ya que no se han encontrado fenoles derivados de la lignina como productos de pirólisis del sedimento o de la materia particulada. En caso de que derivados de la lignina o sustancias húmicas de

origen terrestre llegase a la laguna, su contribución sería mínima en relación con la producción autóctona de materia orgánica. Resulta interesante en este punto registrar la síntesis de ácidos húmicos a partir de algas como *Laminaria digitata* y *Fucus vesiculosus* (Rashid y Prakash, 1972), que demuestra que la lignina no es necesaria para la formación de ácidos húmicos en ambientes acuáticos. Es más, estas algas produjeron principalmente ácidos alifáticos dicarboxílicos, ácidos grasos ramificados y lineales y unos pocos compuestos aromáticos por oxidación con permanganato (Méndez y Ogner, 1979). Esto último concuerda con la presencia de fenol, cresoles, xilenoles, etc. en materia particulada y sedimentos, posiblemente procedentes de algas.

La identificación de azufre elemental entre los productos de evaporación/pirólisis del sedimento indica la existencia de una importante población microbiana anaeróbica capaz de oxidar el sulfuro a azufre (*Chromatiaceae*, *Chlorobiaceae*, *Rhodospirillaceae*, por ejemplo) en el sedimento.

La pirólisis analítica de la muestra particulada demuestra que el origen de ésta es fitoplanctónico, y su gran similitud con el sedimento apunta a una estrecha relación entre ambos. La ausencia de derivados de lignina en el fragmentograma de masas muestra que el aporte de vegetación terrestre a la laguna de Santa Olalla no es significativo.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido subvencionado por la C.A.I.C.Y.T. y C.S.I.C.F.H. agradece al Ministerio de Educación y Ciencia la concesión de una beca. Los autores agradecen a la Dra. Julia Toja la toma de muestras en la laguna.

BIBLIOGRAFÍA

- BOON, J. J., HINES, H., BURLINGAME, A. L., KLOK, J., RIJPSRA, W. I. C., DE LEEUW, J. W., EDMUNDS, K. E., EGLINTON, G. (1981): Organic geochemical studies of Colar Lake laminated cyanobacterial mats. *Adv. Org. Geochem.*, M. Bjoroy et al. eds., pp. 207-227, John Wiley, Chichester.
- BOON, J. J., WINDIG, W., WETZEL, R. G., GODSCHALK, G. L. (1983): The analytical pyrolysis of particulate residues of decomposing, *Myriophyllum heterophyllum*. *Aquat. Bot.* 15, 307-320.
- GELPI, E., SCHNEIDER, H., MANN, J., ORO, J. (1970): Hydrocarbons of geochemical significance in microscopic algae. *Phytochemistry*, 9, 603-612.
- GENUIT, W., BOON, J. J., FAIX, O. (1987). Characterization of beech milled wood lignin by pyrolysis-gas chromatography-photoionization mass spectrometry. *Anal. Chem.* 59, 508-513.
- GOOSSENS, H., DE LEEUW, J. W., SCHENCK, P. A., BRASSSELL, S. C. (1984): Tocopherols as likely precursors of pristane in ancient sediments and crude oils. *Nature* 312, 440-442.
- VAN DER KAADEN, A., HAVERKAMP, J., BOON, J. J., DE LEEUW, J. W. (1983): Analytical pyrolysis of carbohydrates. I. Chemical interpretation of matrix influences on pyrolysis-mass spectra of amylose using pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry. *J. Anal. Appl. Pyrol.* 5, 199-220.
- LARTER, S. R., SOLLI, H., DOUGLAS, A. G., DE LANGE, F., DE LEEUW, J. W. (1979): Occurrence and significance of prist-1-ene in kerogen pyrolysates. *Nature*, 279, 405-408.
- MARGALEF, R. (1976): Algas de agua dulce de Doñana. *Oecol. aquat.* 2, 79-91.
- VAN DE MEENT, D., DE LEEUW, J. W., SCHENCK, P. A. (1980): Origin of unsaturated isoprenoid hydrocarbons in pyrolysates of suspended matter and surface sediments. *Adv. Org. Geochem.*, A. G. Douglas and J. R. Maxwell eds., pp. 469-474, Pergamon Press, Oxford.
- MENDEZ, J., OGNER, G. (1979): Permanganate oxidation products of algal humic-like substances. *Chem. Geol.* 27, 265-270.
- NIP, M., TEGELAAR, E. W., BRINKHUIS, H., DE LEEUW, J. W., SCHENCK, P. A., HOLLOWAY, P. J. (1986): Analysis of modern and fossil plant cuticles by Curie point Py-GC and Curie point Py-GC-MS: Recognition of a new, highly aliphatic and resistant biopolymer. *Org. Geochem.* 10, 769-778.
- PHILP, R. P., BROWN, S., CALVIN, M., BRASSSELL, S., EGLINTON, G. (1978): Hydrocarbon and fatty acid distributions in recently deposited algal mats at Laguna Guerrero, Baja California. En "Environmental Biogeochemistry and Geomicrobiology. Vol. 1. The Aquatic Environment": W. E. Krumbein ed. pp. 255-270, *Ann Arbor Science*, Ann Arbor.
- PHILP, R. P., CALVIN, M., BROWN, S., YANG, E. (1978): Organic geochemical studies on kerogen precursors in recently deposited algal mats and oozes. *Chem. Geol.* 22, 207-231.
- RASHID, M. A., PRAKASH, A. (1972): Chemical characteristics of humic compounds isolated from some decomposed marine algae. *J. Fish Res. Bd Canada*, 29, 55-60.
- SÁIZ-JIMÉNEZ, C., DE LEEUW, J. W. (1985): Chemical characterization of soil organic matter fractions by analytical pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry. *J. Anal. Appl. Pyrol.* 9, 99-119.
- SÁIZ-JIMÉNEZ, C., DE LEEUW, J. W. (1986): Lignin pyrolysis products: their structures and their significance as biomarkers. *Org. Geochem.* 10, 869-876.
- SÁIZ-JIMÉNEZ, C., DE LEEUW, J. W. (1987): The chemical structure of a soil humic acid as revealed by analytical pyrolysis. *J. Anal. Appl. Pyrol.* (en prensa).
- STEVENSON, F. J. (1982): Humus Chemistry, Wiley-Interscience. New York.