



**CARACTERIZACIÓN GEOQUÍMICA DE
SEDIMENTOS MARINOS DEL GOLFO DE
CÁDIZ E IMPLICACIONES AMBIENTALES.
DISTRIBUCIÓN Y COMPOSICIÓN
MOLECULAR DE LÍPIDOS Y FORMAS
REFRACTARIAS DE LA MATERIA
ORGÁNICA**

**TESIS DOCTORAL
LAURA SÁNCHEZ GARCÍA
Madrid, 2007**

**CARACTERIZACIÓN GEOQUÍMICA DE
SEDIMENTOS MARINOS DEL GOLFO DE CÁDIZ
E IMPLICACIONES AMBIENTALES.
DISTRIBUCIÓN Y COMPOSICIÓN MOLECULAR
DE LÍPIDOS Y FORMAS REFRACTARIAS DE LA
MATERIA ORGÁNICA**

Memoria presentada por Dña. Laura Sánchez García para optar al grado de
Doctora en Ciencias

Los Directores

Dr. D. José Ramón de Andrés Alonso
Investigador Científico
(IGME)

Dr. D. Juan Antonio Martín Rubí
Investigador Científico
(IGME)

El Tutor Académico

Dr. D. Raimundo Jiménez Ballesta
Catedrático de la Universidad Autónoma de Madrid

La realización de esta tesis se ha llevado a cabo en el Instituto Geológico y Minero de España, dentro del marco de un proyecto de investigación (REN2002-04602-C02-01) del Plan Nacional de I+D (CICYT), financiado por el Ministerio de Ciencia y Tecnología.

A mis padres y a mi hermana

*"Lo importante es no dejar nunca
de hacerse preguntas"*

(Albert Einstein)

INDICE

I. AGRADECIMIENTOS.....	i
II. RESUMEN.....	iii
<i>ABSTRACT</i>	v
III. ABREVIATURAS.....	vii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. La plataforma continental.....	1
1.2. Los sedimentos marinos.....	2
1.3. La secuencia diagenética y los ambientes redox en el medio sedimentario.....	5
1.4. La materia orgánica en los sedimentos marinos.....	7
1.4.1. Origen y distribución de la materia orgánica sedimentaria.....	7
1.4.2. Composición de la materia orgánica sedimentaria.....	9
1.5. Aplicación de la Geoquímica Orgánica como herramienta de reconstrucción ambiental.....	13
1.5.1. Indicadores generales.....	14
I. Composición elemental.....	14
II. Composición isotópica.....	15
1.5.2. Marcadores moleculares.....	18
I. Geolípidos.....	19
II. Geomacromoléculas.....	22
a. Sustancias húmicas.....	22
b. Productos derivados de la lignina.....	24
c. <i>Black carbon</i>	26
1.6. Aplicación de la Geoquímica Inorgánica como herramienta de reconstrucción ambiental.....	30
2. PLANTEAMIENTOS Y OBJETIVOS DEL TRABAJO.....	33
3. SITUACIÓN Y ÁREA DE ESTUDIO.....	35
3.1. Descripción ambiental del sector costero.....	36
3.1.1. Geología.....	36
3.1.2. La Faja Pirítica y la actividad minera asociada.....	37
3.1.3. Desarrollo socioeconómico.....	38
3.1.4. Edafología.....	40

3.1.5. Vegetación	40
3.2. Estuarios del Suroeste de España.....	42
3.3. Características de la plataforma continental del Golfo de Cádiz	46
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	49
4.1. Recogida y preparación de muestras	49
4.2. Caracterización global de los sedimentos	49
4.2.1. Análisis granulométrico	49
4.2.2. Medida del pH y la densidad	51
4.2.3. Determinación del contenido de elementos mayoritarios.....	51
4.2.4. Determinación del contenido de elementos traza	52
4.2.5. Determinación del contenido de Na y Hg	53
4.2.6. Análisis mineralógico por Difracción de Rayos X.....	53
4.2.7. Determinación del contenido de materia orgánica oxidable.....	54
4.2.8. Determinación del contenido total de C, N y S.....	55
4.2.9. Determinación de la composición isotópica del ^{13}C y ^{15}N	56
4.2.10. Espectrometría de resonancia magnética nuclear de ^{13}C en estado sólido (^{13}C RMN CP MAS).....	57
4.3. Fraccionamiento de la materia orgánica sedimentaria	59
4.3.1. Aislamiento y análisis de marcadores moleculares I: lípidos	59
a. Aislamiento: extracción con disolventes orgánicos	59
b. Análisis por Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas (CG/MS).....	60
4.3.2. Aislamiento y análisis de marcadores moleculares II: derivados de la lignina	61
a. Aislamiento: degradación oxidativa con CuO	61
b. Análisis por Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas (CG/MS).....	62
4.3.3. Caracterización de la fracción húmica (ácidos húmicos)	63
a. Aislamiento: extracción alcalina	63
b. Análisis elemental (CNHOS)	64
c. Análisis por Pirólisis <i>Flash</i> -Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas (Py-CG/MS).....	64
d. Espectrometría de resonancia magnética nuclear de ^{13}C en estado sólido (^{13}C RMN CP MAS).....	65
4.3.4. Caracterización de la fracción orgánica refractaria (<i>black carbon</i>)	66

I. Oxidación térmica.....	66
a. Método de oxidación térmica directa (CTO).....	66
b. Método de oxidación térmica con pretratamiento químico (GBC).....	67
II. Oxidación química y uso de marcadores moleculares (BPCA)...	68
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	71
5.1. Caracterización global de los sedimentos	71
5.1.1. Propiedades físico-químicas	71
5.1.2. Composición elemental	72
5.1.3. Composición isotópica	76
5.2. Geoquímica de los elementos mayoritarios y traza. Composición mineralógica de los sedimentos.....	79
5.2.1. Distribución de los elementos mayoritarios y mineralogía asociada	79
5.2.2. Elementos traza. Distribución y origen de especies contaminantes	91
5.2.3. Análisis estadístico y significado ambiental	95
5.3. Distribución de las principales familias de marcadores moleculares lipídicos	101
5.3.1. <i>n</i> -Alcanos	103
5.3.2. Fitol y compuestos isoprenoides.....	110
5.3.3. <i>n</i> -Aldehídos	113
5.3.4. Cetonas alifáticas.....	117
5.3.5. <i>n</i> -Ácidos alcanóicos	122
5.3.6. <i>n</i> -Ácidos alcanodioicos	128
5.3.7. Ácidos resínicos	131
5.4. Caracterización geoquímica de los ácidos húmicos	133
5.4.1. Análisis elemental de los ácidos húmicos	133
5.4.2. Análisis por pirólisis de los ácidos húmicos	137
5.5. <i>Distribution of the lignin oxidation products</i>	155
5.5.1. <i>Description of lignin parameters</i>	155
5.5.2. <i>Compositional characteristics of the sediments</i>	157
5.5.3. <i>Qualitative characterization of lignin sources</i>	161
5.5.4. <i>Diagenetic state of the bulk sediments and the humic acids</i>	164
5.5.5. <i>Abundance of terrestrial organic matter within the Gulf of Cádiz sedimentary record</i>	170

5.6. Caracterización de la fracción orgánica refractaria: <i>black carbon</i>	175
5.6.1. Estimación del <i>black carbon</i> mediante oxidación térmica.....	176
5.6.2. Estimación del <i>black carbon</i> mediante el uso de BPCA como marcadores moleculares.....	181
5.6.3. Comparación de la medida de <i>black carbon</i> con ambas técnicas	184
5.6.4. Composición isotópica de los residuos térmicos de <i>black carbon</i> (GBC)	188
5.7. Análisis por espectroscopía de resonancia magnética nuclear (CP MAS ¹³ C NMR).....	191
5.7.1. Análisis directo de los sedimentos	192
5.7.2. Análisis de los ácidos húmicos	196
5.7.3. Análisis de los residuos térmicos de <i>black carbon</i> (GBC)	198
6. CONCLUSIONES	201
CONCLUSIONS.....	203
7. BIBLIOGRAFÍA.....	205
ANEXO	244

I. AGRADECIMIENTOS

I. AGRADECIMIENTOS

Ahora que esta aventura va llegando a su fin, quisiera dedicar unas líneas para expresar mi más profundo agradecimiento a todas aquellas personas que de una u otra manera han participado en la realización de esta tesis, porque sin ellas y sin su apoyo, este trabajo no habría salido adelante.

Al Dr. José Ramón de Andrés, por haberme dado la oportunidad y los medios para trabajar en este proyecto.

Al Dr. Juan Antonio Martín Rubí, por su confianza y labor de supervisión y orientación en el laboratorio durante estos cuatro años.

Al Dr. Raimundo Jiménez Ballesta, por su labor de tutoría y su disponibilidad durante todo el transcurso de la tesis.

A los Drs. Francisco J. González Vila y José Antonio González Pérez, por la cálida acogida que me ofrecieron siempre en el Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNASE-CSIC), por la ayuda y orientación que me han brindado en el desarrollo de la tesis.

Al Dr. Michael W. I. Schmidt, profesor del Departamento de Geografía de la Universidad de Zürich (Suiza), por su grata acogida durante mi estancia en Zürich y por poner a mi alcance todos los medios necesarios para realizar mi investigación. A Karen Hames, por su ayuda e implicación personal.

Al Dr. Yves Gélinas, profesor del Departamento de Química y Bioquímica de la Universidad de la Concordia (Montreal, Canadá), por el inestimable apoyo y dedicación personal que recibí durante mi estancia en su laboratorio.

Al Dr. Patrick Louchouart, profesor del Departamento de Oceanografía y Ciencias Marinas de la Universidad Texas A&M (EEUU), por la ayuda, la confianza y la amistad que me dedicó durante mi estancia en Galveston. Por transmitirme su entusiasmo y motivación en el desarrollo de la ciencia.

A la Dra. Heike Knicker, profesora del Departamento de Ciencias del Suelo de la Universidad Técnica de Munich (Alemania), por introducirme en el apasionante mundo de la NMR y por su grata acogida en Freising.

Al Dr. Gonzalo Almendros Martín, Profesor de Investigación del Centro de Ciencias Medioambientales (CCMA-CSIC), por su inestimable ayuda, dedicación y consejos desinteresados, a los cuales debo gran parte de este trabajo.

A la Dra. Oliva Polvillo Polo, por la paciencia y generosidad con la que me ayudó a interpretar resultados. Por su apoyo y amistad.

Al personal del Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNASE-CSIC) por su ayuda y colaboración en la realización de los análisis de pirólisis y cromatografía de gases. A Trinita y, muy especialmente, a José María, mi compañero de fatigas en Sevilla.

A D. Angel Ilarri, Jefe del Área de Laboratorios y Técnicas de Apoyo, por poner a mi alcance las infraestructuras y medios técnicos de los laboratorios del IGME. Al personal de los laboratorios, por contribuir en mayor o menor medida en la obtención de resultados, especialmente a Jovi, Ana, Jesús, Amelia, Eduardo, Isabel, Eva, Paz y José Manuel. Al Servicio de Geología Marina, por sus continuos gestos de ánimo y motivación durante estos años, a Paqui, Luis, Teresa, Ricardo, Mari Carmen, Fernando, Javier Wandosell y, muy especialmente a Patricia, Adolfo y Estefanía, por su amistad.

A todos y cada uno de los compañeros del IGME y en especial a los que han tenido siempre una palabra de aliento para mí, a Antonio Barnolas, Idoia, Alberto y Miguel. A mis compañeros de fatiga, por ser los que mejor entienden el esfuerzo, sacrificio y dedicación que supone este trabajo, a Jose, Fernando, Mainer, Raquel, Javi, María, Luengo, Rafa, Pilar, Juliana, Carmen, Laura, Ana María, Marta, Sara, Manu, por su cariño y amistad.

A mis amigos y a mi familia, por estar siempre ahí, por animarme y recordarme que hay más vida más allá del laboratorio. Muy especialmente a mis padres y a mi hermana, por haberme enseñado a luchar por las cosas que quiero y porque sin su confianza no habría llegado hasta aquí.

A Jose, por haber creído en mí y, sobre todo, por estar *siempre* ahí. Porque sin ti no habría podido conseguirlo...

II. RESUMEN

ABSTRACT

II. RESUMEN

Este trabajo aborda el estudio y la caracterización geoquímica de sedimentos marinos de la plataforma continental interna del Golfo de Cádiz, con el fin de determinar el origen, distribución y procesos de alteración de la materia orgánica presente en los mismos, para contribuir a la reconstrucción del ambiente de deposición. Para ello se recogieron quince muestras de sedimentos superficiales localizados en el área de la confluencia del Océano Atlántico y el Mar Mediterráneo, entre las desembocaduras de los ríos Guadiana y Tinto-Odiel. El interés principal de la zona de estudio viene determinado por sus características particulares como región costera sometida a la influencia de sistemas fluviales, que recibe importantes aportes de material tanto marino como terrestre y que, junto con las elevadas tasas de sedimentación típicas de las áreas costeras, favorecen la rápida acumulación y la preservación de la materia orgánica sedimentaria.

En este contexto, se ha llevado a cabo un análisis combinado de indicadores elementales, isotópicos y moleculares, mediante la aplicación de técnicas degradativas, espectroscópicas y cromatográficas, con el objetivo de: determinar la composición geoquímica y estructural de los sedimentos; evaluar el contenido y distribución espacial de los elementos mayoritarios y los metales pesados en relación con potenciales fuentes de contaminación de la zona; contribuir a la caracterización de la fracción orgánica más refractaria (*black carbon*) y evaluar la procedencia de los materiales sedimentarios y la influencia continental en el medio costero.

Los resultados obtenidos revelan una intervención mixta de contribuciones biogénicas variadas, con predominante aporte marino (algas, plancton y bacterias) en general e importantes entradas de material terrígeno (fundamentalmente derivado de tejidos no leñosos de angiospermas) en los sedimentos más próximos al continente. La presencia generalizada de productos nitrogenados y compuestos sensibles a la degradación indican un grado moderado de alteración de la materia orgánica, presumiblemente asociado con un ambiente de deposición subóxico, de acuerdo con los significativos niveles de acumulación de elementos sensibles a las condiciones redox detectados. El uso de indicadores diagenéticos derivados de la lignina revela un estado de degradación más avanzado en los ácidos húmicos, en relación con los procesos de alteración y humificación sufridos por esta fracción orgánica. Además, los análisis espectroscópicos ponen de manifiesto el alto grado de condensación y aromatización de los residuos térmicos de *black carbon* y revelan cierto estado de

alteración, que contrasta con el marcado carácter refractario que tradicionalmente se le ha concedido a este material.

La monitorización de indicadores terrestres orgánicos e inorgánicos ha permitido considerar la existencia de un gradiente decreciente en el reparto de material terrestre a lo largo del eje NO-SE, que revela el papel dominante del río Guadiana en el suministro de sedimentos a la zona de estudio. Las mayores concentraciones relativas de lignina, fósforo y metales pesados asociados a depósitos sulfurosos encontradas en la muestra S-7 (límite NE de la zona de estudio, a unos 9 km de la desembocadura de los ríos Tinto-Odiel) ponen de manifiesto las diferencias en el patrón de distribución de este sedimento, en relación con la influencia que ejerce el sistema fluvial Tinto-Odiel, descrito como uno de los más contaminados del SO de Europa.

II. ABSTRACT

With this work, a geochemical characterization of marine sediments from the Gulf of Cádiz inner continental shelf is approached, in order to determine the origin, distribution and alteration processes occurring within the organic matter fraction, to contribute to the reconstruction of its depositional environment. With this aim, fifteen samples of surficial sediments were removed from the vicinity of the confluence area of both Atlantic Ocean and Mediterranean Sea, between the Guadiana and Tinto-Odiel River mouths. The main interest of the area lies in its particular features as a fluvial-influenced coastal region, receiving important amounts of both marine and terrestrial inputs which, together with typical high deposition rates, favours the rapid accumulation and subsequent preservation of the sedimentary organic matter.

In this context, combined analyses of elemental, isotopic and molecular indicators has been carried out, by applying degradative, spectroscopic and chromatographic techniques, with these objectives: determine the geochemical and structural composition of the sediments; evaluate the content and spatial distribution of major elements and heavy metals in relation with potential pollution sources of the area; contribute to the characterization of the most refractory organic matter fraction (*black carbon*) and evaluate the sedimentary components provenance and the continental influence on the coastal system.

The results achieved reveal a miscellaneous composition in terms of biogenic sources, with overall dominant marine contributions (algae, plankton and bacteria) and relevant terrigenous inputs (mainly derived from non-woody angiosperms) at the close-to-land locations. The general presence of nitrogen-derived products and degradation-sensitive compounds suggests a moderate alteration stage of the organic matter, presumably associated with a suboxic depositional environment, according with the significant accumulation of redox-sensitive elements. Diagenetic signature of lignin-derived indicators show a higher extent of degradation of the humic acids, likely related with alteration and humification processes. Furthermore, the spectroscopy analyses confirm the high condensation and aromatization degree of the thermal-derived *black carbon* residues and reveal certain signs of alteration, contrasting with the highly refractory nature traditionally reported for this material.

A decreasing NW-to-SE gradient of terrigenous organic matter distribution has been observed by tracing both inorganic and organic terrestrial indicators, revealing the

dominant role of the Guadiana River in terms of sediments delivery within the area. The highest contributions of lignin, phosphorous and heavy metals associated to sulphide deposits measured in sample S-7 (located at the NE limit of the study area, c.a. 9 km away from the Tinto-Odiel Rivers mouth) show up different distribution patterns of this sediment, related with the influence of the Tinto-Odiel fluvial system, described as one of the most polluted in SW-Europe.

III. ABREVIATURAS

Ad:	<i>Acid</i> (ácido)
AF:	Ácidos fúlvicos.
AH (HA):	Ácidos húmicos (<i>humic acids</i>).
Al:	<i>Aldehyde</i> (aldehído).
BC:	<i>Black carbon</i> .
3,5-Bd:	<i>3,5-dihydroxybenzoic acid</i> (ácido 3,5-dihidrobenzoico).
BPCA:	<i>Benzenepolycarboxylic acids</i> (ácidos bencenopolicarboxílicos).
BS:	<i>Bulk sediments</i> (sedimentos brutos).
BSTFA:	N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida.
C-unit:	<i>Lignin derived phenolic cinnamyl units</i> (unidades fenólicas cinamilo derivadas de la lignina).
CAD:	<i>p-Coumaric acid</i> (ácido <i>p</i> -cumárico)
CBC:	fracción carbonizada del <i>black carbon</i> (<i>char</i> y <i>charcoal</i>)
CG/MS:	Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas
CIT (TIC):	Carbono inorgánico total (<i>total inorganic carbon</i>)
COT (TOC):	Carbono orgánico total (<i>total organic carbon</i>)
CP MAS:	<i>Cross Polarization, Magic Angle Spinning</i> (Polarización Cruzada y Rotación del Ángulo Mágico).
DE (SD):	Desviación estándar (<i>standard deviation</i>).
DER (RSD):	Desviación estándar relativa (<i>relative standard deviation</i>).
DRX:	Difracción de Rayos X.
FAD:	<i>Feluric acid</i> (ácido felúrico)
FID:	<i>Flame Ionization Detector</i> (Detector de ionización de Llama).
FRX:	Fluorescencia de Rayos X
GBC:	Fracción más condensada del <i>black carbon</i> (grafito y soot)
HAP:	Hydrocarbons aromatic polycyclic

ICP-OES:	<i>Inductively Coupled Plasma-Optical Emisión Spectroscopy</i> (Espectrometría de Emisión Óptica con Plasma Inductivamente Acoplado).
LOP:	<i>Lignin oxidation products</i> (productos de oxidación de la lignina).
MO (OM):	Materia orgánica (<i>organic matter</i>).
MOH (HOM):	Materia orgánica hidrolizable (<i>hydrolysable organic matter</i>).
MOM:	Materia orgánica marina (<i>marine organic matter</i>).
MOS (SOM):	Materia orgánica sedimentaria (<i>sedimentary organic matter</i>).
MOT (TOM):	Materia orgánica terrestre (<i>terrestrial organic matter</i>).
NBS:	<i>Nacional Bureau of Standards</i> .
NHA:	<i>Non humic acids</i> (material que no es ácidos húmicos).
NIST:	<i>National Institute of Standards and Technology</i> .
NT (TN):	Nitrógeno total (<i>total nitrogen</i>).
P-unit:	<i>Lignin derived para-substituted phenolic units</i> (unidades fenólicas derivadas de la lignina sustituidas en posición <i>para</i>).
PDB:	Estándar de referencia del $\delta^{13}\text{C}$ <i>Pee Dee Belemnite</i> .
Py:	<i>Pyrolysis</i> (pirólisis).
RMN:	Resonancia Magnética Nuclear.
rpm	Revoluciones por minuto.
S-units:	<i>Lignin derived phenolic syringyl units</i> (unidades fenólicas siringilo derivadas de la lignina).
SH (HS):	Sustancias húmicas (<i>humic substances</i>).
SIM:	Single Ion Monitoring (Monitorización de Ión Simple).
ST (TS):	Azufre total (<i>total sulphur</i>).
TFA:	<i>Trifluoroacetic acid</i> (ácido trifluoroacético).
TMSCHN ₂ :	Trimetilsilildiazometano.
UCM:	<i>Unresolved complex mixture</i> (mezcla compleja no resuelta).
V-unit:	<i>Lignin derived phenolic vanillyl units</i> (unidades fenólicas vainillino o guaiacilo derivadas de la lignina).

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. La plataforma continental.....	1
1.2. Los sedimentos marinos	2
1.3. La secuencia diagenética y los ambientes redox en el medio sedimentario.....	5
1.4. La materia orgánica en los sedimentos marinos	7
1.4.1. Origen y distribución de la materia orgánica sedimentaria	7
1.4.2. Composición de la materia orgánica sedimentaria	9
1.5. Aplicación de la Geoquímica Orgánica como herramienta de reconstrucción ambiental	13
1.5.1. Indicadores generales	14
I. Composición elemental	14
II. Composición isotópica	15
1.5.2. Marcadores moleculares.....	18
I. Geolípidos	19
II. Geomacromoléculas	22
a. Sustancias húmicas	22
b. Productos derivados de la lignina	24
c. <i>Black carbon</i>	26
1.6. Aplicación de la Geoquímica Inorgánica como herramienta de reconstrucción ambiental	30

1. INTRODUCCIÓN

Los ambientes costeros constituyen ecosistemas sensibles en términos de gestión sostenible y preservación ambiental. El estudio del transporte y del almacenamiento de materiales en estos medios resulta crítico para la interpretación del ciclo global del C. Las regiones costeras se caracterizan por recibir una significativa influencia continental, que constituye la principal fuente de componentes orgánicos, naturales y contaminantes introducidos en el medio marino. Los márgenes continentales (deltas y plataformas) son uno de los principales lugares de preservación de la materia orgánica (MO) y constituyen escenarios relevantes en el proceso de enterramiento global de C (Hedges y Keil, 1995).

1.1. La plataforma continental

Desde un punto de vista geológico, la plataforma continental es el dominio que se extiende desde el litoral, aguas afuera, hasta el borde externo en el que se produce la inflexión de la pendiente que da paso al talud continental, estando caracterizada por los procesos dinámicos (hidrológicos) propios del medio marino, que le confieren unas cualidades fisiográficas particulares. En la plataforma continental atlántica se pueden distinguir tres grandes regiones (Fig. 1.1), en función de los ambientes deposicionales y las morfologías desarrolladas en ellas (Maldonado y Zamarreño, 1983):

- *Plataforma interna*: se localiza a continuación de la zona infralitoral distal, extendiéndose hasta los 30-60 m de profundidad; es una zona de gran diversidad morfológica y sedimentológica, con gran influencia continental y fuerte dinámica litoral.
- *Plataforma media*: se extiende desde el límite externo de la plataforma interna, a lo largo de la zona subhorizontal con pendiente suave, hasta una profundidad de 90-100 m.
- *Plataforma externa*: se localiza aguas afuera de la plataforma media y su extensión, que no está definida para unos límites concretos, puede considerarse desde la batimétrica de 100-110 m aproximadamente, hasta la rotura de pendiente del talud.

La influencia continental es intensa en la plataforma continental interna, que presenta una morfología de las superficies de acumulación relacionada con

formaciones detríticas groseras (arenas y gravas). Aguas afuera, sin embargo, esta influencia va disminuyendo, hasta hacerse prácticamente inexistente en la plataforma continental externa, donde las condiciones de sedimentación son netamente marinas.

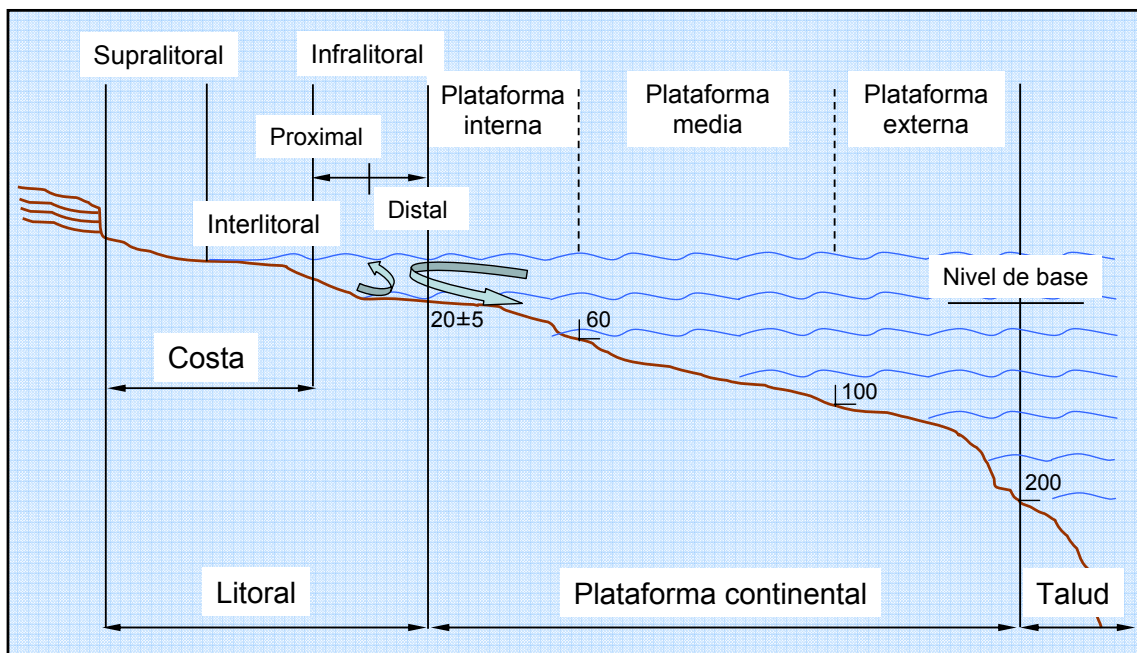


Figura 1.1.- Perfil esquemático representativo de las principales provincias deposicionales de la plataforma continental atlántica (modificado de Maldonado y Zamarreño, 1983), limitadas en función de su profundidad, en metros.

1.2. Los sedimentos marinos

Los sedimentos depositados en los fondos marinos constituyen el mayor sumidero de materiales vertidos en las reservas de agua marina y representan una parada en términos geológicos en el ciclo global de movilización y transporte de material. Su composición química resulta fundamental para comprender el funcionamiento de los ciclos globales de muchos elementos. Gran parte de los fondos oceánicos de todo el mundo se encuentran cubiertos por mantos de sedimentos, cuyos grosores varían de un lugar a otro. Se han determinado, por ejemplo, valores medios mayores de 1 km en el Océano Atlántico ó menores de 1 km en el Océano Pacífico; estimándose un grosor medio de c.a. 500 m en el conjunto de los océanos (Chester, 2000). Estos sedimentos reciben el aporte de componentes particulados y elementos disueltos que sobreviven a los procesos destructivos del océano. Los cambios diagenéticos que causan los principales efectos inmediatos en la composición

del agua de mar, tienen lugar en los primeros metros de la columna sedimentaria y corresponden a etapas tempranas de la diagénesis.

Los sedimentos se depositan bajo una gran variedad de ambientes deposicionales y, particularmente, los sedimentos costeros o de plataforma se depositan bajo regímenes fuertemente influenciados por las masas terrestres adyacentes. Como resultado, las condiciones físicas, químicas y biológicas existentes en estas áreas son mucho más variables que en las regiones más profundas del océano. A diferencia de los sedimentos profundos, los de plataforma presentan un amplio rango de tamaños de partícula, que reflejan ambientes de baja o alta energía (tamaños finos y gruesos, respectivamente), incluyendo grava, arena, limo y arcilla. En general, contienen mayor proporción de fracciones finas de tamaño arcilla que de sólidos terrestres de mayor tamaño. Además, las tasas de acumulación de sedimentos decrecen a medida que nos alejamos de las áreas costeras, hacia las regiones profundas del océano. En las condiciones actuales, se calcula que los sedimentos de origen terrestre se acumulan en las regiones costeras con tasas de unos pocos milímetros por año, mientras que en las regiones profundas lo hacen a velocidades mucho menores, de unos pocos milímetros cada 1000 años (Chester, 2000).

La composición geoquímica de los sedimentos marinos se encuentra controlada de forma significativa por la proporción relativa de los componentes minerales, que determinan el contenido de elementos mayoritarios. Las principales fracciones minerales de los sedimentos están constituidos por arcillas, carbonatos y restos de ópalo, dependiendo del contenido relativo de Al, Ca y Si, respectivamente. En términos de elementos traza, los sedimentos costeros presentan una concentración menor de Mn, Cu, Ni, Co o Pb, que los sedimentos profundos, mientras el contenido de Cr, V o Ga es muy similar en ambos casos. De acuerdo con el enriquecimiento relativo de estos elementos, se puede considerar un cierto fraccionamiento oceánico entre los sedimentos costeros y profundos (Chester, 2000).

Los componentes sedimentarios se pueden clasificar de distintas maneras, de acuerdo con el criterio seleccionado. Según Goldberg (1954), se pueden considerar las siguientes categorías en función de su origen en la geosfera:

- *Litogénicos*: componentes derivados de la erosión continental, de volcanes o de la alteración submarina, que son movilizados y transportados desde los continentes hasta los océanos, mediante

descarga fluvial, deposición atmosférica y/o transporte glacial. Cuantitativamente, los minerales de origen terrestre más importantes son los minerales de la arcilla y el cuarzo, junto con pequeñas cantidades de feldspatos. Las fracciones de mayor tamaño se depositan en los sedimentos costeros; las más finas pueden alcanzar áreas de océano abierto.

- *Biogénicos*: son los componentes orgánicos e inorgánicos derivados de la biosfera. Los principales componentes inorgánicos son los carbonatos y el ópalo derivado de conchas y esqueletos animales. Los fosfatos (e.g. apatito) y sulfatos (e.g. barita) son mucho menos abundantes.
- *Hidrogénicos*: componentes producidos de forma inorgánica a partir de constituyentes disueltos en el agua marina. Se puede distinguir entre material hidrogénico primario (formado directamente a partir del material disuelto en el agua marina) y secundario (resultado de la alteración submarina de minerales preexistentes) (Chester y Hughes, 1967). Además, se pueden considerar cuatro subcategorías de componentes hidrogénicos de acuerdo con Elderfield (1976): i) precipitados volcánicos (resultado de la introducción de elementos en el agua de mar por procesos volcánicos), ii) precipitados supergénicos (generados en el agua de mar o agua intersticial), iii) litogénicos hamirolisatos (formados por la interacción entre componentes litogénicos y el agua marina) y iv) hamirolisatos volcánicos (debidos a la reacción entre basaltos y el agua marina).
- *Cosmogénicos*: componentes formados en el espacio exterior y que han alcanzado la superficie terrestre a través de la atmósfera. Estos componentes constituyen una parte pequeña de los sedimentos oceánicos.

En este contexto, conviene destacar que, a pesar de los grandes depósitos sedimentarios que almacenan los mares y océanos, los sedimentos marinos no constituyen una reserva inerte. Al contrario, después de su deposición, los sedimentos se ven sometidos a toda una serie de reacciones diagenéticas que alteran su composición inicial. Para poder evaluar los procesos implicados en la formación de los componentes sedimentarios, deben considerarse los procesos diagenéticos que han tenido lugar.

1.3. La secuencia diagenética y los ambientes redox en el medio sedimentario

Muchos de los cambios químicos que tienen lugar durante las primeras etapas de la diagénesis dependen del ambiente redox del sistema agua-marina/agua-intersticial/sedimento. Los ambientes redox controlan el grado de preservación o de descomposición del C orgánico en el complejo sedimentario. La mayoría de los ambientes marinos son óxicos y, como resultado, más del 90% del C orgánico que alcanza los fondos oceánicos por medio del flujo vertical de partículas se encuentra oxidado cerca de la interfase agua/sedimento.

Los procesos diagenéticos ocurridos en los sedimentos describen una secuencia de procesos catabólicos, cuya naturaleza depende del agente oxidante que degrada la MO. En el proceso metabólico, la MO dona electrones a diversos componentes oxidantes en el complejo intersticio/agua/sedimento, entre los cuales el O₂ suele ser el receptor de electrones preferido. Sin embargo, a medida que los oxidantes van siendo consumidos durante la secuencia diagenética, las especies receptoras de electrones van cambiando, a medida que va decreciendo la energía obtenida por mol de C orgánico oxidado. De esta forma, cuando el O₂ se agota, los microorganismos cambian sucesivamente de especie receptora, dando lugar a distintos tipos de procesos metabólicos (Chester, 2000):

- *Metabolismo aerobio*: se produce cuando los organismos utilizan el O₂ disuelto del agua intersticial o de revestimiento, para oxidar la MO a CO₂, entre otros productos de reacción. El O₂ se considera el oxidante primario en el proceso de degradación de la MO (diagénesis óxica).
- *Metabolismo anaerobio*: tiene lugar cuando los contenidos de O₂ disuelto caen hasta niveles muy bajos o se agotan totalmente, de forma que pasan a utilizarse toda una serie de oxidantes secundarios (diagénesis subóxica) en este orden: NO₃⁻, MnO₂, Fe₂O₃ (o FeOOH) y SO₄²⁻.

De acuerdo con esto, los ambientes sedimentarios desarrollados en estas condiciones metabólicas se pueden clasificar de la siguiente manera:

- *Ambientes óxicos*: en los que existen contenidos apreciables de O₂ disuelto en las aguas intersticiales de los sedimentos, de forma que la preservación de la MO es escasa y la mayoría de los restos de fauna y plancton se han degradado.
- *Ambientes anóxicos*: los contenidos de O₂ disuelto en las aguas intersticiales son prácticamente despreciables y hay que recurrir a oxidantes secundarios, propios del metabolismo anaeróbico. Estos ambientes se subclasifican en:
 - *Subóxicos* (post-óxicos, no sulfhídricos): cuando el aporte de C orgánico es suficiente para consumir el O₂ presente y pasar a mecanismos anaeróbicos de degradación, sin alcanzar la fase sulfato-reductora.
 - *Sulfhídricos*: cuando la secuencia diagenética alcanza el estado en el cual tiene lugar la reducción bacteriana de los SO₄²⁻ disueltos para producir H₂S y HS⁻. Las limitaciones del aporte y preservación de la MO, necesarios para que se den estas condiciones, restringen prácticamente la existencia de estos ambientes a los sedimentos costeros.
 - *No sulfhídricos, metánicos*: cuando los contenidos de MO metabolizable son tales que su continua descomposición da lugar a la formación de CH₄ disuelto.

La secuencia diagenética descrita da como consecuencia una zonación vertical de los sedimentos, a medida que se van consumiendo los distintos receptores de electrones, en función de la cantidad de MO disponible (secuencia diagenética *vertical*). Puesto que la gran mayoría de los ambientes del fondo marino son de tipo óxico, normalmente existe una capa óxica más o menos gruesa en las superficies del sedimento. Sin embargo, los ambientes sedimentarios pueden llegar a volverse reductores e incluso anóxicos, al avanzar la secuencia diagenética, como consecuencia del consumo del O₂ disuelto de las aguas intersticiales. La profundidad a la cual tiene lugar el cambio óxico-anóxico depende del flujo de suministro del C y de la tasa de acumulación de sedimentos. Así, el grosor de la capa sedimentaria óxica disminuye desde las regiones pelágicas a las costeras, a medida que las tasas de sedimentación se incrementan. El límite de las condiciones redox va acompañado a

menudo por un cambio de color del material sedimentario, generalmente de marrón-rojizo, en los ambientes oxidantes, a verde-grisáceo, en los ambientes reductores.

Del mismo modo que las condiciones redox varían en profundidad, dando lugar a la secuencia diagenética *vertical* de los sedimentos, la variación del grosor de la capa óxica a lo largo del eje de la distancia a la costa da lugar a la denominada secuencia diagenética *horizontal*, que permite establecer la siguiente clasificación de los sedimentos:

- *Sedimentos anóxicos*: con niveles de C orgánico que varían entre 5 y 10%, se encuentran mayoritariamente en áreas costeras o zanjas aisladas de aguas profundas.
- *Sedimentos costeros*: con contenidos de C orgánico menores del 5%, se acumulan con tasas relativamente rápidas, dando lugar a condiciones anóxicas a pocos centímetros de profundidad.
- *Sedimentos hemi-pelágicos*: presentan un contenido de C orgánico típico de 2% y tasas de sedimentación intermedias. El grosor de la capa óxica varía de varios centímetros hasta un metro.
- *Sedimentos pelágicos*: presentan tasas de sedimentación muy bajas y contenidos de C orgánico que varían entre 0,1% y 0,2%. En estos sedimentos la capa óxica se puede extender desde un metro hasta varias decenas de metros.

1.4. La materia orgánica en los sedimentos marinos

La importancia de la MO en los sedimentos marinos deriva, no sólo de la significativa reserva que suponen en el ciclo global del C, sino también del importante papel que juega la MO en la química de los océanos, a través de los procesos de diagénesis.

1.4.1. Origen y distribución de la materia orgánica sedimentaria

La MO sedimentaria (MOS) puede proceder de distintas fuentes, tales como terrestres, marinas o antrópicas. De acuerdo con Hedges y Keil (1995), la tasa de enterramiento total de C orgánico es c.a. $0,16 \times 10^{15}$ g C/año y aproximadamente el 90% de este C se deposita en los deltas, plataformas continentales y taludes

superiores (Tabla 1.1). En este sentido, los ríos constituyen la fuente externa principal (alóctona) de MO en los océanos, contribuyendo al transporte de aproximadamente un 1% de la productividad terrestre (c.a. 60×10^{15} g C/año), que da lugar a un flujo fluvial total de c.a. $0,4 \times 10^{15}$ g C/año, compuesto por MO tanto disuelta como particulada. Aunque la contribución aérea es relativamente pequeña (menor de $0,1 \times 10^{15}$ g C/año), el componente atmosférico proporciona un importante mecanismo de transporte de la MO terrestre a las regiones profundas de los océanos (Chester, 2000). La producción primaria, por su parte, mayoritariamente debida al fitoplancton, constituye la principal fuente interna (autóctona) de C orgánico en los océanos (c.a. 50×10^{15} g C/año). Aunque las cifras varían, se puede asumir que aproximadamente un 1% de la producción primaria alcanza los fondos marinos, de forma que se puede comparar el flujo de restos planctónicos que alcanzan los sedimentos profundos con la tasa de exportación de C orgánico terrestre al mar (Chester, 2000).

Tabla 1.1.- Tasas (10^{12} g C/año) y porcentaje de enterramiento (% , entre paréntesis) de C orgánico en sedimentos marinos depositados bajo distintos regímenes ambientales (datos tomados de Hedges y Keil, 1995)

Régimen ambiental	Tasa de enterramiento C orgánico (10^{12} g C/año)				
	Deltaico	De plataforma	De talud	Pelágico	Total
Deltas	70 (44%)	–	–	–	70
Plataforma y talud superior	–	68 (42%)	–	–	68
Sedimentos biogénicos; zonas de alta productividad	–	–	7 (4%)	3 (2%)	10
Carbonatos de aguas someras	–	6 (4%)	–	–	6
Sedimentos pelágicos; zonas de baja productividad	–	–	–	5 (3%)	5
Cuencas anóxicas	–	1 (0,5%)	–	–	1
Enterramiento total de C orgánico					160

El estado de preservación de la MO en los sedimentos resulta un factor crítico en la determinación del progreso de la secuencia diagenética. En este sentido, se identifican dos principales reservas de MOS, con características de preservación muy distintas:

- *Sedimentos costeros*: derivados del reparto inicial de los aportes fluviales en las regiones costeras, caracterizadas por sus altos niveles de producción primaria. Presentan tasas de acumulación relativamente rápidas y contenidos de C orgánico que oscilan entre 1% y 5%, con posibilidad de concentraciones mayores en condiciones anóxicas y de elevada productividad primaria.
- *Sedimentos profundos*: presentan menores tasas de sedimentación y contenidos de C orgánico que varía desde c.a. 5%, en sedimentos hemi-pelágicos depositados cerca de los márgenes continentales, hasta valores muy inferiores al 1%, en los sedimentos arcillosos de carácter más óxico (Heath *et al.*, 1977).

De acuerdo con Heath *et al.* (1977), existe una correlación general entre el contenido de C orgánico y la tasa de acumulación de sedimentos, que es un parámetro ambiental con importantes consecuencias en la reactividad y preservación de la MO. Teniendo en cuenta la variedad de factores que controlan el proceso (incluyendo el *efecto dilución* que se produce por la abundancia de la fracción mineral), se puede asumir que existe una mayor preservación de la MOS a mayores tasas de enterramiento de los sedimentos (Chester, 2000). Esto se debe a que, cuando se produce una deposición y enterramiento rápidos, se reduce la disponibilidad de MO, que va quedando por debajo de la zona diagenéticamente activa y se dificulta la actividad bacteriana que se desarrolla mayoritariamente en la superficie de los sedimentos.

1.4.2. Composición de la materia orgánica sedimentaria

La MOS está compuesta por gran variedad de compuestos orgánicos, entre los que se incluyen: hidrocarburos (alcanos, cicloalcanos, isoprenoides, etc.), ácidos grasos, alcoholes, cetonas, ceras, esteroides, triterpenoides, tetrapenoides, pigmentos, aminoácidos y péptidos, purinas y pirimidinas, carbohidratos o azúcares, hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), polímeros naturales (quitina, celulosa,

cutina y lignina), hidrocarburos cíclicos y ramificados, kerógeno y humatos (Simoniet, 1978). Por otro lado, la MO se encuentra en los sedimentos en distintas formas (Ertel y Hedges, 1985):

- a. Partículas orgánicas discretas (e.g. restos de plantas vasculares y tejidos plantónicos).
- b. Películas superficiales sobre substratos inorgánicos (e.g. complejos húmico-arcillosos).
- c. Componentes integrantes de matrices inorgánicas (e.g. kerógeno).

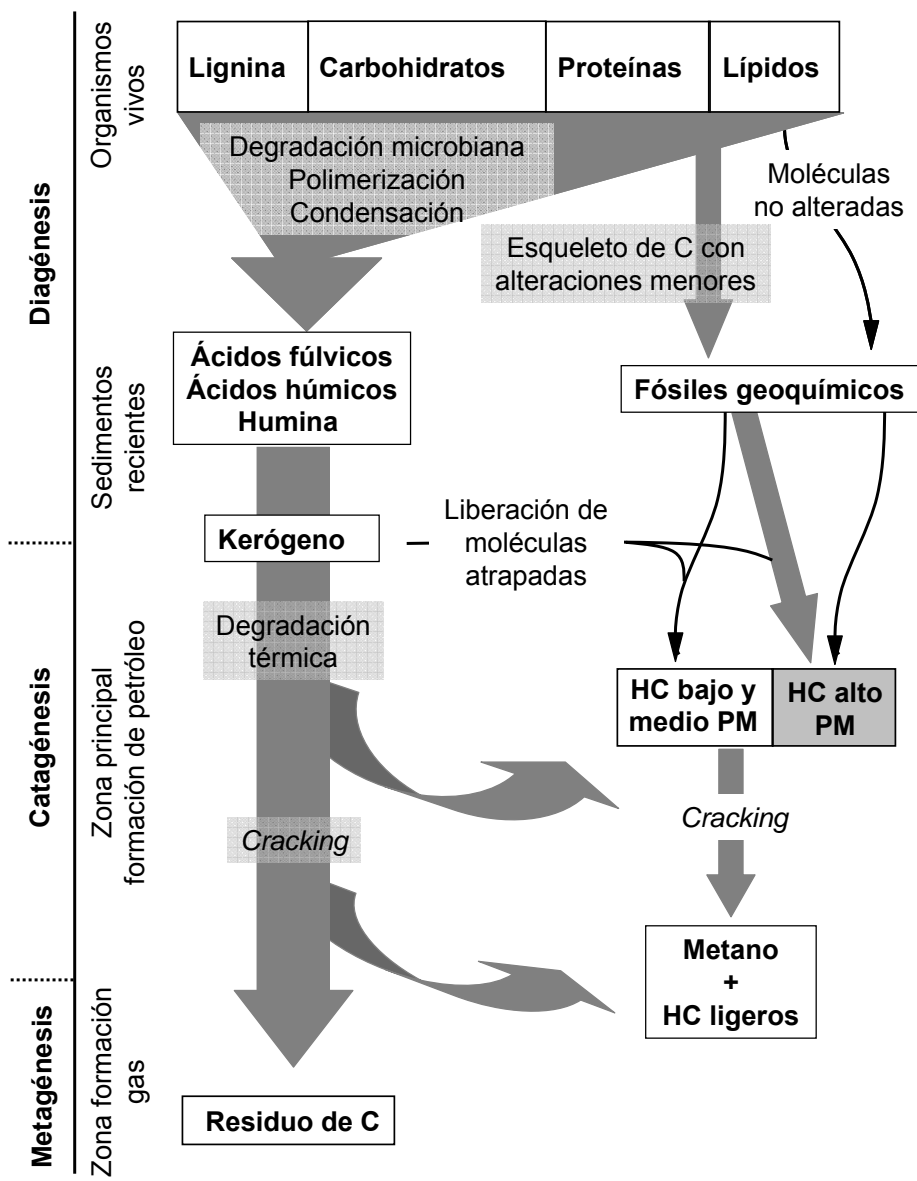


Figura 1.2.- Etapas de los procesos de diagénesis, catagénesis y metagénesis de la materia orgánica en los sedimentos (modificado de Tissot y Welte, 1984). HC: hidrocarburos; PM: peso molecular.

Aproximadamente el 90% de la MOS no puede ser separada de su matriz mineral, mientras que gran parte de los compuestos orgánicos se encuentran en las aguas intersticiales de los sedimentos marinos. Además, parte de MO originada en la biosfera llega a cruzar la interfase agua marina/sedimento y alcanza la geosfera, donde sufre toda una serie de complejas reacciones, a medida que va siendo enterrada con los sedimentos (Fig. 1.2). La secuencia de alteración completa incluye los siguientes procesos: diagénesis (hasta c.a. 1000 m), catagénesis (varios km de profundidad, con incremento de presión y temperatura) y metagénesis o metamorfosis (Tissot y Welte, 1984).

La MOS está constituida por una mezcla de componentes procedentes de fuentes muy diversas y con diferente grado de alteración. Según su sensibilidad a la degradación, se puede considerar que existen dos categorías de componentes sedimentarios: *hidrolizables* (convertibles por hidrólisis en sustancias solubles en agua) y *no hidrolizables* (componentes de tipo húmico, que constituyen el grueso de la MO). La formación de estas dos categorías de materiales orgánicos se puede describir en términos de una serie de reacciones de transformación que tienen lugar en la MOS.

La MO que alcanza la superficie de los sedimentos marinos está constituida en gran parte por macromoléculas biogénicas, como proteínas, carbohidratos, lípidos (que incluyen hidrocarburos), ligninas y otras sustancias no caracterizadas. De acuerdo con Tissot y Welte (1984), la diferencia más llamativa entre la composición de la MO en organismos vivos y en sedimentos superficiales es la gran proporción de macromoléculas biogénicas que se han perdido en los depósitos sedimentarios. Esto se debe en gran parte a la actividad bacteriana, mediante la cual tiene lugar la degradación de polímeros biogénicos (*biopolímeros*), como las proteínas y los carbohidratos. Durante este proceso se forman complejos solubles en agua, que contienen aminoácidos y azúcares y que se encuentran en la superficie de los sedimentos, junto con los hidrocarburos y los ácidos grasos. Estos componentes comprenden la fracción libre o hidrolizable de los sedimentos, que se ve mayoritariamente alterada a poca profundidad, especialmente en los ambientes óxicos. De esta forma, los residuos no hidrolizables pasan a formar parte de estructuras policondensadas (*geopolímeros*), tales como los ácidos húmicos (AH) y los ácidos fúlvicos (AF), que sufren posteriormente insolubilización para formar la humina. Aunque en los sedimentos jóvenes una parte significativa de la humina es también hidrolizable, ésta decrece con el enterramiento y finalmente da lugar a la formación del kerógeno. Este último término se refiere a la fracción macromolecular de la MOS que

es insoluble en disolventes orgánicos (Durand, 1980). El kerógeno es el residuo orgánico final del proceso diagenético, que constituye la fracción más recalcitrante y que puede originarse a partir de fuentes marinas (plancton), terrestres (ceras de plantas superiores) o combinación de ambas, por medio de la polimerización y condensación al azar de los monómeros y oligómeros de biopolímeros degradados (Nissenbaum y Kaplan, 1972).

La vía general de reacción de la MO, que durante el proceso completo de la diagénesis en los sedimentos implica la transformación de biopolímeros en geopolímeros, se puede describir así: material celular degradado → complejos solubles en agua de aminoácidos, lípidos y carbohidratos → AF → AH → kerógeno (Nissenbaum y Kaplan, 1972). Sin embargo, bajo condiciones extremadamente reductoras, la secuencia puede saltarse las fases de AF y AH.

La gran mayoría de la MOS oceánica se localiza en los sedimentos deltaicos y en los de plataforma y taludes superiores, que contienen el 44% y 42% respectivamente de la MO total de los depósitos marinos (Tabla 1.1). En términos de la secuencia diagenética lateral, las regiones más próximas a la costa representan el extremo anóxico del entorno sedimentario. Aunque mucho menos frecuentes, las condiciones anóxicas también pueden desarrollarse en fosas oceánicas y fiordos con circulación restringida de agua. Así, aunque las aguas anóxicas son poco comunes, constituyen ambientes diagenéticos especiales donde los sedimentos asociados se depositan bajo condiciones pobres en oxígeno, en lugar de alcanzar estas condiciones a profundidades someras en la columna sedimentaria y el límite óxico-anóxico puede encontrarse en la columna de agua sobre la superficie de sedimentos (Chester, 2000). En los sedimentos depositados en estos ambientes anóxicos la diagénesis puede alcanzar la etapa de producción de metano.

A pesar de que la diagénesis puede alcanzar etapas de sulfato-reducción en los sedimentos costeros por el predominio de las condiciones anóxicas o subóxicas, estos depósitos llegan a almacenar grandes cantidades de MO. Además, paradójicamente se observa que, mientras existen sustancias orgánicas más o menos recalcitrantes como el kerógeno, las sustancias húmicas (SH) o la MO fluvial previamente degradada que pueden llegar a oxidarse a CO₂ en periodos de tiempo relativamente cortos, restos orgánicos aparentemente reactivos, como los derivados de organismos marinos (autóctonos), llegan a preservarse de forma particular en algunos sedimentos próximos a la costa.

Una posible explicación a estas paradojas del ciclo global del C se relaciona con el desarrollo de mecanismos de preservación de la MOS en las regiones más próximas a la costa, que la protegen de los procesos de alteración óxicos-subóxicos dominantes en los sedimentos más profundos. Aunque no se han llegado a establecer los mecanismos concretos de esta preservación, algunos autores (Hedges y Keil, 1995) se refieren a la formación de *cubiertas protectoras*, mediante procesos de adsorción de la MO sobre superficies minerales y la producción de asociaciones texturales con las fracciones más finas de los sedimentos. De acuerdo con estos autores, los procesos de adsorción permitirían la estabilización de la MO y atenuarían los efectos de la descomposición microbiana, favoreciendo así su preservación. Independientemente de los mecanismos específicos de protección (mediante cubiertas protectoras o no), existen evidencias de este fenómeno en los sedimentos costeros, en los que los importantes aportes de MO recibidos y las rápidas tasas de sedimentación propias de estas áreas dan lugar a bajos niveles de penetración de oxígeno, que permiten una relativa preservación de la MO enterrada. A medida que disminuyen las tasas de acumulación de sedimentos al alejarnos de la costa, aumenta la profundidad de penetración del oxígeno y da lugar a tiempos mayores de exposición, que favorecen los procesos degradativos por encima de los mecanismos de protección de la MO, dominantes en los sedimentos costeros (Hedges y Keil, 1995; Chester, 2000).

1.5. Aplicación de la Geoquímica Orgánica como herramienta de reconstrucción ambiental

El estudio de la MOS ha dado lugar a la aparición y desarrollo en las últimas décadas de una disciplina científica independiente, denominada *Geoquímica Orgánica*. Esta disciplina se ocupa del estudio de los compuestos bioquímicos en la geosfera, con el fin de determinar el origen y los procesos de alteración que experimenta la MO, así como identificar los potenciales precursores de compuestos específicos aislados en los depósitos fósiles, para reconstruir ambientes sedimentarios antiguos y recientes. Los estudios de la *Geoquímica Orgánica* se reconocen hoy en día como una valiosa herramienta de aproximación (*proxy*), que permite llevar a cabo reconstrucciones climáticas y que ofrece información específica y complementaria a otras aproximaciones clásicas utilizadas en la reconstrucción de cambios ambientales del pasado, como el estudio geológico directo de la secuencia sedimentaria, el análisis de las propiedades físico-químicas de los sedimentos, el estudio de microfósiles o el análisis isotópico (Ficken *et al.*, 1998; Schwark *et al.*, 2002).

La MOS, aunque constituye una fracción minoritaria de los sedimentos marinos, supone una importante contribución al registro sedimentario, por el suministro de compuestos indicadores que puede utilizarse en la reconstrucción de registros ambientales (marinos y continentales) y climáticos (Meyers, 1997). Los tipos y cantidades de MO presentes en los sedimentos, reflejan las condiciones ambientales que impactaron los ecosistemas en tiempos pasados. A partir de propiedades globales de la MO como la composición elemental, la relación de los isótopos estables del C o el N, los productos de pirólisis o petrografía orgánica, se pueden inferir las fuentes generales de la MO, mientras que para obtener información más detallada sobre su origen se puede recurrir al análisis de la composición de marcadores moleculares específicos. En este sentido, la utilización de fósiles geoquímicos resulta de gran conveniencia, aunque hay que tener en cuenta que su preservación no es uniforme, ya que la diagénesis modifica la concentración y la composición de la MOS respecto a los materiales biológicos originales. Sin embargo, el uso comparativo de distintos indicadores geoquímicos en estudios de reconstrucción ambiental ayuda a compensar los efectos diagenéticos de alteración de los registros ambientales (Meyers, 1997).

1.5.1. Indicadores generales

I. Composición elemental

La composición elemental, junto con el estudio de las relaciones que existen entre los diferentes elementos y otros parámetros físico-químicos obtenidos mediante el análisis global de los sedimentos, pueden utilizarse como indicadores fiables de las fuentes de MOS y de su evolución en el tiempo, proporcionando información sobre las diferentes condiciones ambientales reinantes durante el periodo de deposición.

Generalmente el análisis elemental de un sedimento se refiere a la determinación de los principales componentes biogénicos y sus relaciones. Así, se suele analizar el contenido total de carbono orgánico, carbono inorgánico, nitrógeno y azufre (COT, CIT, NT y ST) y las relaciones atómicas entre ellos. Estos valores permiten diferenciar los distintos aportes de MO y deducir aspectos relacionados con el ambiente de deposición y los procesos diagenéticos experimentados por el sedimento.

La concentración de COT indica la abundancia de la MOS e informa de la fracción orgánica que no se ha mineralizado durante los procesos diagenéticos. Los valores de COT están influenciados principalmente por la producción, el tipo de biomasa inicial y por su posterior grado de degradación, fluctuando notablemente de unos sedimentos a otros. Además, existen procesos que influyen en la abundancia relativa de COT en el sedimento, como la contribución de materiales clásticos, que reducen su contenido relativo, o la disolución de minerales carbonatados, que lo aumentan (Dean, 1999). Por otra parte, la concentración de COT depende del tamaño de partículas del sedimento, aumentando su contenido relativo en sedimentos con texturas más finas (Thompson y Eglinton, 1978). Como resultado el valor de COT será mayor en aquellos sedimentos que tengan un tamaño fino y se depositen lentamente y será menor en las zonas en las que se produzca una rápida acumulación de sedimentos.

La relación atómica C/N constituye un parámetro ampliamente utilizado en la determinación del origen de la MOS, concretamente para distinguir entre fuentes de algas y plantas terrestres (Prahl *et al.*, 1980, 1994; Premuzic *et al.*, 1982; Ishiwatari y Uzaki, 1987; Silliman *et al.*, 1996). Los valores de C/N típicos de organismos marinos oscilan entre 4 y 10, mientras que los de las plantas vasculares son iguales o superiores a 20. Esto se atribuye a un efecto combinado de la ausencia de celulosa en las algas, frente a su elevado contenido en las plantas vasculares, y de la mayor abundancia del material peptídico en la MO de origen marino (Meyers, 1994), junto con una biodegradación lenta de las proteínas en los medios reductores. Aunque la relación C/N se suele preservar bien en sedimentos subacuáticos, dadas las condiciones reductoras propias de estos ambientes, pueden llegar a darse descensos de sus valores como consecuencia de procesos de absorción de amonio derivados de la descomposición de la MO, acompañada de una remineralización y liberación de C (Meyers, 1997).

II. Composición isotópica

Los isótopos estables del C orgánico y del N sedimentarios han sido ampliamente utilizados como variables de aproximación de parámetros biogeoquímicos y procesos ocurridos en la columna de agua y a lo largo del proceso de sedimentación. Debido al fraccionamiento isotópico que tiene lugar en los procesos biogeoquímicos, tales como la asimilación de nutrientes y CO₂ o la reducción del nitrato, las relaciones isotópicas estables del N y el C orgánico (medidos según la

expresión I) se utilizan como indicadores de las variaciones del pasado en la utilización de nutrientes, desnitrificación, concentración de CO₂ atmosférico o para distinguir entre las fuentes MO terrestre y marina (Müller *et al.*, 1983; Voß y Struck, 1997).

$$\begin{aligned} \delta^{15}\text{N} (\text{‰}) &= \left[\left\{ \frac{(^{15}\text{N}/^{14}\text{N})_{\text{muestra}}}{(^{15}\text{N}/^{14}\text{N})_{\text{estándar}}} - 1 \right\} \times 1000 \right] \\ \delta^{13}\text{C} (\text{‰}) &= \left[\left\{ \frac{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{muestra}}}{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{estándar}}} - 1 \right\} \times 1000 \right] \end{aligned} \quad (I)$$

Los estándares de referencia utilizados para el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ son: N₂ atmosférico y PDB (*Belleminitella Americana Pee Dee*), respectivamente.

La relación isotópica del C ($\delta^{13}\text{C}$) constituye una herramienta fundamental de discusión de los posibles orígenes de la MOS. Además de utilizarse como parámetro de distinción entre orígenes marino y continental, permite identificar la MO de diferentes tipos de plantas terrestres (Meyers, 1997). La composición isotópica del C de la MO refleja principalmente las dinámicas de asimilación de este elemento durante la fotosíntesis y la composición isotópica de la fuente de C utilizada (Hayes, 1993). La mayoría de las plantas incorporan C a la MO usando el ciclo C3 de Calvin, que discrimina bioquímicamente en contra del ¹³C, para producir valores de $\delta^{13}\text{C}$ en torno a -27‰. Por otro lado, las plantas que utilizan el ciclo C4 de Hatch-Slack, generan valores próximos a -14‰ (O’Leary, 1988), mientras que las que utilizan el ciclo CAM (*Crassulacean Acid Metabolism*), principalmente las denominadas *suculentas*, discriminan variablemente en contra del ¹³C, en función de las dinámicas de crecimiento (Meyers, 1997). La MO de origen marino, por su parte, presenta valores de $\delta^{13}\text{C}$ que se encuentran típicamente entre -20‰ y -22‰, pudiendo variar según derive de fitoplancton (-18‰ y -30‰), algas pardas (-14‰ y -23‰), algas verdes (-18‰) o algas rojas (-33‰) (Goñi y Hedges, 1995).

A diferencia de lo que ocurre con la relación C/N, los valores de $\delta^{13}\text{C}$ no están significativamente influenciados por el tamaño de grano de los sedimentos, convirtiendo $\delta^{13}\text{C}$ en una herramienta fiable para reconstruir los orígenes de la MO en lugares con registros de condiciones deposicionales variables. Sin embargo, la señal de origen isotópico puede llegar a ser complicada de interpretar en aquellas áreas de costa que reciben contribuciones tanto de algas, como de ambos tipos de plantas vasculares, C3 y C4 (Fry *et al.*, 1977). En estos lugares, al igual que en zonas

lacustres, la utilización conjunta de la huella isotópica del C junto con la relación atómica C/N, puede llegar a facilitar considerablemente la tarea de identificación de las distintas fuentes de la MO (Meyers, 1997).

Por otra parte, la huella isotópica del N ($\delta^{15}\text{N}$) aporta también información relevante a la hora de discutir los orígenes y fuentes de la MOS. El valor $\delta^{15}\text{N}$ refleja los múltiples procesos biogeoquímicos ocurridos en los sedimentos, como la incorporación de nitrato disuelto por parte de los productores primarios, los procesos de desnitrificación microbiana y fijación de N_2 o la degradación de la MO durante el proceso de sedimentación (Meyers y Bernasconi, 2005). Así, el valor $\delta^{15}\text{N}$ medio del N_2 atmosférico se encuentra alrededor de 0‰ (Peters *et al.*, 1978), mientras que el del nitrato disuelto en océanos abiertos presenta un $\delta^{15}\text{N}$ medio de 4,8‰ (Sigman *et al.*, 2000), pudiendo llegar a 7-10‰, en los ambientes pobres en O_2 donde la desnitrificación genera un cierto enriquecimiento del isótopo ^{15}N (Peters *et al.* 1978). Puesto que las diferencias en la composición isotópica de las reservas de N se preservan en los contenidos de la MO generada, se puede considerar que la MO marina se encuentra enriquecida en términos de $\delta^{15}\text{N}$ (7-9‰; Ganeshram *et al.*, 2000), con respecto a la MO terrestre (0,4‰, para plantas terrestres C3; Peterson y Howarth, 1987), mientras que los microorganismos fijadores de N_2 producen una MO con valores $\delta^{15}\text{N}$ próximos a 0‰.

En este tipo de aplicaciones generalmente se asume que los cambios diagenéticos son constantes o que no causan variaciones isotópicas comparables en magnitud a la variación de la primera señal sedimentaria. Sin embargo, diversas investigaciones indican que la diagénesis temprana tiene un cierto impacto sobre las relaciones de los isótopos estables de la MO (Freudenthal *et al.*, 2001), en términos de enriquecimiento durante la degradación de la MO en materiales en suspensión (Altabet, 1988; Holmes *et al.*, 1999) o de empobrecimiento, por actividad microbiológica heterotrófica, dependiendo del sustrato (Macko y Estep, 1984).

Aunque en líneas generales se espera un enriquecimiento en los isótopos pesados del N y el C durante la degradación de la MO (Freudenthal *et al.*, 2001), se han descrito descensos de $\delta^{13}\text{C}$ debido a la degradación preferencial de ciertos compuestos enriquecidos en ^{13}C (Prah *et al.*, 1997; Böttcher *et al.*, 1998). Así, los mecanismos propuestos para explicar los cambios producidos en la composición isotópica a causa de la diagénesis temprana son (Freudenthal *et al.*, 2001):

- Degradación preferencial de compuestos orgánicos con diferente composición isotópica que el material orgánico preservado. La eliminación de compuestos orgánicos fácilmente degradables, como aminoácidos, hidrocarburos o MO marina, enriquecidos en ^{13}C y ^{15}N , en relación a compuestos más resistentes, como los lípidos, la lignina o MO terrestre (Prahl *et al.*, 1997; Böttcher *et al.*, 1998), explica el empobrecimiento de la MO restante en isótopos pesados. Sin embargo, la pérdida diagenética de C lipídico se ha utilizado en sentido contrario, para explicar el enriquecimiento observado en MO de tapices algales (Macko *et al.*, 1993).
- Fraccionamiento isotópico debido al metabolismo de los organismos responsables de la degradación de la MO. Procesos de metabolismo bacteriano (desaminación y descarboxilación) han sido descritos como causantes del incremento de los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de la MO resultante (Macko y Estep, 1984; Macko *et al.*, 1993).

Los cambios más obvios en la composición isotópica del C orgánico relativos a los procesos de diagénesis temprana se han encontrado en sedimentos marinos anóxicos, mientras que los cambios en sedimentos óxicos han sido menores en general (Tyson, 1995). La alteración de la composición isotópica inicial del N en la MO marina se relaciona con la actividad de descomposición bacteriana desarrollada durante el hundimiento y deposición de la MO en condiciones óxicas, que puede aumentar los valores de $\delta^{15}\text{N}$ entre 1‰ y 3‰, mediante la liberación de NH_4^+ isotópicamente ligero (Altabet y François, 1994; Prahl *et al.*, 2003). Sin embargo, si el NH_4^+ producido es capturado por minerales de la arcilla del fondo oceánico, los valores $\delta^{15}\text{N}$ del sedimento pueden no presentar cambios perceptibles (Freudenthal *et al.*, 2001). Por otro lado, simulaciones de degradación de la MO, llevadas a cabo en el laboratorio, han demostrado que el descenso diagenético de los valores $\delta^{15}\text{N}$ va acompañado de un descenso en la relación atómica C/N (Lehmann *et al.*, 2002).

1.5.2. Marcadores moleculares

Mientras que las propiedades globales del conjunto de la MO permiten identificar orígenes generales, el análisis de componentes moleculares suministra información detallada acerca de los procesos de producción, transporte y preservación de la MOS. A pesar de los cambios más o menos importantes sufridos durante los

procesos de diagénesis y posteriores fases de alteración, la MOS retiene gran cantidad de indicadores o marcadores biológicos, entre los que se encuentran los *geolípidos* y las *geomacromoléculas*.

El término marcadores biológicos o *biomarcadores* ha evolucionado a partir del término *fósiles químicos*, introducido en los primeros artículos por Eglinton y Calvin (1967), y se refiere a aquellos compuestos orgánicos presentes en la geosfera, cuyas estructuras pueden relacionarse de forma inequívoca con las de compuestos precursores que se encuentran en el material originario. Son particularmente valiosos para llevar a cabo reconstrucciones paleoambientales puesto que son compuestos menos sensibles a la alteración y a la destrucción que la mayoría de las formas de MO, aunque no son totalmente inmunes a la diagénesis (Meyers, 1997).

En muchos estudios geoquímicos que hacen uso de los marcadores biológicos se pone el énfasis, desde hace ya algunos años, en establecer las relaciones “precursor/producto”, más que en la propia identificación de los biomarcadores. Este cambio probablemente se ha debido al incremento significativo que se produjo, ya en los años 70, de los estudios de sedimentos recientes y materiales fuente, tales como algas y plantas superiores (Eglinton *et al.*, 1974; Philp y Lewis, 1987), que permitieron establecer el origen de muchos biomarcadores con relativa certeza.

I. Geolípidos

Se conoce como *geolípidos* o *biomarcadores de la fracción lipídica* de la MOS a aquellos compuestos solubles en disolventes orgánicos, que pueden relacionarse con productos biosintéticos propios de grupos definidos de organismos. Son pues aquellos compuestos que han escapado de la degradación por su unión a matrices orgánicas más resistentes y que, por su especificidad a fuentes biogénicas de la MOS, suministran información sobre la estructura del sistema trófico implicado en su formación (Polvillo, 2003) y resultan de gran utilidad como herramienta biomarcadora.

La composición y concentración de los *geolípidos* en los sedimentos reflejan tanto cambios paleoambientales como alteraciones diagenéticas (Meyers, 1997). El estudio de las propiedades de la MOS, particularmente los estudios moleculares de su fracción lipídica, puede ser de utilidad para un mejor conocimiento de los diversos y complejos procesos geoquímicos que han tenido lugar durante la deposición de los sedimentos costeros (Hedges y Keil, 1999). Así, aunque el efecto diagenético de la

MOS pasa en la mayoría de los casos por la transformación de proteínas, carbohidratos y biopolímeros en geopolímeros, dando como producto final el kerógeno, los sedimentos contienen, además, otras formas de MO que han sufrido procesos leves de degradación, originada a partir de lípidos de alto peso molecular.

La extracción de los lípidos de los sedimentos produce compuestos hidrocarburos, ácidos alcanoicos, alcoholes, cetonas, aldehídos y otros compuestos relacionados, muchos de los cuales tienen orígenes biológicos específicos y reflejan un control enzimático en sus estructuras moleculares (Meyers, 1997). A través del estudio de las distintas familias de lípidos se puede obtener información importante sobre las diferentes fuentes de entrada de material y los procesos biológicos que ocurren en el medio marino sedimentario, ya que, a menudo, contienen la estructura ósea básica, con grupos funcionales detallados en algunos casos, que provienen de la fuente original (Venkatesan, 1988). Aunque algunos compuestos, como el ácido palmítico o el esteárico, son componentes lipídicos muy ubícuos en la naturaleza y tienen poco valor biomarcador, otros son mucho menos abundantes y son específicos de un determinado grupo de organismos, resultando especialmente útiles en la reconstrucción de las fuentes principales de la MOS.

En general, las contribuciones de material derivado de plantas vasculares y de algas se distinguen principalmente por las diferencias en la longitud de sus cadenas. Mientras las cadenas de mayor longitud se relacionan con componentes mayoritarios de las cubiertas céreas de hojas, flores y polen de plantas superiores (Rieley *et al.*, 1991), las cadenas más cortas se consideran componentes lipídicos dominantes de algas (Cranwell *et al.*, 1987) y bacterias (Volkman *et al.*, 1988). Además, el carácter par o impar de los átomos de C que componen los hidrocarburos, permiten diferenciar los aportes terrestres y vegetales de la contribución microbiológica (Grimalt *et al.*, 1985, 1988).

Junto a los ácidos grasos, unos de los marcadores biológicos más utilizados son los *n*-alcanos, los cuales, a pesar de su estructura simple, han sido amplia y exitosamente utilizados por constituir unos de los compuestos menos reactivos y más abundantes en los sedimentos superficiales. Los patrones de distribución de estos hidrocarburos ayudan a distinguir entre potenciales orígenes y fuentes: terrestres, marinas, antropogénicas y, en menor medida, alteración diagenética de otros compuestos o migración de fuentes profundas (Chester, 2000). En general, los sedimentos marinos cercanos a los continentes contienen *n*-alcanos derivados de

fuentes tanto terrestres como marinas, con predominio de uno u otro componente, en función de la influencia continental y la intensidad de la producción primaria en la zona, mientras que en los sedimentos profundos predominan los *n*-alcanos derivados de fuentes marinas.

A medida que la madurez de los sedimentos y del material precursor aumenta, la distribución de los componentes lipídicos cambia y parte de la especificidad de su origen puede perderse. Así, los procesos de biodegradación pueden influir en la distribución de los *n*-alcanos en los sedimentos y, por tanto, en su utilidad como marcadores biológicos. Los primeros estadios de degradación bacteriana se caracterizan por la eliminación de los *n*-alcanos de bajo peso molecular, seguido de los de rango C₁₆-C₂₅ y finalmente de aquellos por encima de unidades C₂₅. Los compuestos lipídicos acuáticos, en particular, se degradan de forma preferente frente a la MO terrestre, durante la deposición y el enterramiento del material sedimentario, en parte debido a la relativa “frescura” de este material (Meyers, 1997). Por otro lado, distribuciones de *n*-alcanos con un marcado dominio de los C de número impar encontrados en muestras de baja madurez se convierten con el tiempo en distribuciones de pequeña o ninguna preferencia impar/par (Philip, 1985).

Entre los componentes lipídicos, existe un tipo de biomacromoléculas altamente alifáticas, insolubles y no hidrolizables, denominadas *alganos* (Philp y Calvin, 1976; de Leeuw y Largeau, 1993; Gelin *et al.*, 1996, 1997), que se caracterizan por su alta resistencia a la degradación química y bacteriana. Como resultado los *alganos* se preservan selectivamente respecto a lípidos libres o a componentes macromoleculares derivados de proteínas y polisacáridos y sobreviven con mayor facilidad en los sedimentos (Volkman *et al.*, 1998). De esta forma, la MOS se va enriqueciendo en este tipo de compuestos, que constituyen una fuente importante de hidrocarburos en los sedimentos y pueden jugar un papel significativo en el ciclo del C en ambientes marinos, actuando en último término como sumidero del C orgánico (Volkman *et al.*, 1998).

Los *alganos* han sido ampliamente descritos en microalgas verdes de algas de agua dulce (Philp y Calvin, 1976; Derenne *et al.*, 1992; de Leeuw y Largeau, 1993) y en algas marinas (clorofilas, Derenne *et al.*, 1992, Gelin *et al.*, 1997; eustigmatofitas, Gelin *et al.*, 1996). El predominio frecuente de series homólogas de alcanos y alquenos en los pirolizados de kerógenos marinos, aislados de sedimentos antiguos y recientes (Derenne *et al.*, 1990, Douglas *et al.*, 1991; Eglinton *et al.*, 1994) hacen

pensar en una fuente común, probablemente relacionada con los *alganos*, que podría constituirse como contribuyente significativo de la MOS marina (Gelin *et al.*, 1996). Diversos estudios (^{13}C -NMR, pirólisis-GC/MS) han permitido dilucidar que la estructura básica de estos compuestos es fundamentalmente de carácter alifático (pares *n*-alcanos/*n*-alqu-1-enos, C_7 - C_{41} ; *n*-alcan-2-onas y cetonas de cadena media, C_7 - C_{34} ; ácidos grasos, ácidos dioicos, ácidos cetoalcanoicos y dicetoalcanoicos, C_8 - C_{34}), aunque con una presencia significativa de compuestos aromáticos y fenólicos, procedentes de la rotura térmica de macromoléculas polifenónicas (Gelin *et al.*, 1996).

II. Geomacromoléculas

Por *geomacromoléculas* se entiende todo tipo de material orgánico polimérico presente en el medio geológico. Dependiendo del origen y grado de madurez del sedimento, existe una amplia gama de materiales poliméricos, entre los que pueden destacarse, por su valor diagnóstico en términos de reconstrucción, las SH, los derivados de la lignina y los residuos de *black carbon* (BC).

a. Sustancias húmicas

Las SH constituyen un conjunto heterogéneo de sustancias macromoleculares, de peso molecular relativamente alto, color oscuro y propiedades coloidales e hidrofílicas marcadas, que presentan una alta capacidad de intercambio iónico. En términos estructurales, las SH se pueden considerar formadas por un 10-40% de constituyentes aromáticos con grupos carboxilo, OH-fenólico y metoxilo; un 25-40% de estructuras alquílicas derivadas de ácidos mono- y dibásicos, incluyendo OH-ácidos y cadenas ramificadas; y una proporción variable de estructuras O-alquílicas, productos de deshidratación de carbohidratos, taninos complejos o productos de ciclación y fragmentación de lípidos insaturados (Schnitzer y Khan, 1972; Schnitzer, 1978; Aiken *et al.*, 1985; Almendros y Sanz, 1992).

Si bien esta estructura es sólo parcialmente conocida, se admite que la red tridimensional flexible de las SH puede presentar superficies internas hidrófobas, donde tenderían a concentrarse (“encapsularse”) ácidos grasos e hidrocarburos procedentes de la degradación de ceras y poliésteres vegetales y del metabolismo microbiano, con una disposición parecida a la de las membranas celulares de los sistemas biológicos (e.g. Almendros, 1995; Hesketh *et al.*, 1996).

A lo largo de las últimas décadas se han propuesto muchos modelos para explicar las propiedades de las SH, que han ido añadiendo detalles estructurales, a medida que se ha ido avanzando en las nuevas técnicas analíticas. Así, mientras inicialmente se consideraba que la estructura de los AH era fundamentalmente aromática, con la aplicación de la técnica de NMR de ^{13}C en solución y en estado sólido (e.g. González Vila *et al.*, 1983; Wilson, 1987; Patience y Wilson, 1990; Schnitzer, 1991; Preston, 1996) se demostró que las estructuras alifáticas constituían una parte relevante en la composición estructural de la mayoría de los AH. En base a los resultados obtenidos mediante técnicas degradativas (pirólisis analítica y oxidaciones químicas), Schulten *et al.* (1991), Schulten y Schnitzer (1993) y Schulten (1995) propusieron el modelo que se muestra en la Figura 1.3 para la estructura de los AH.

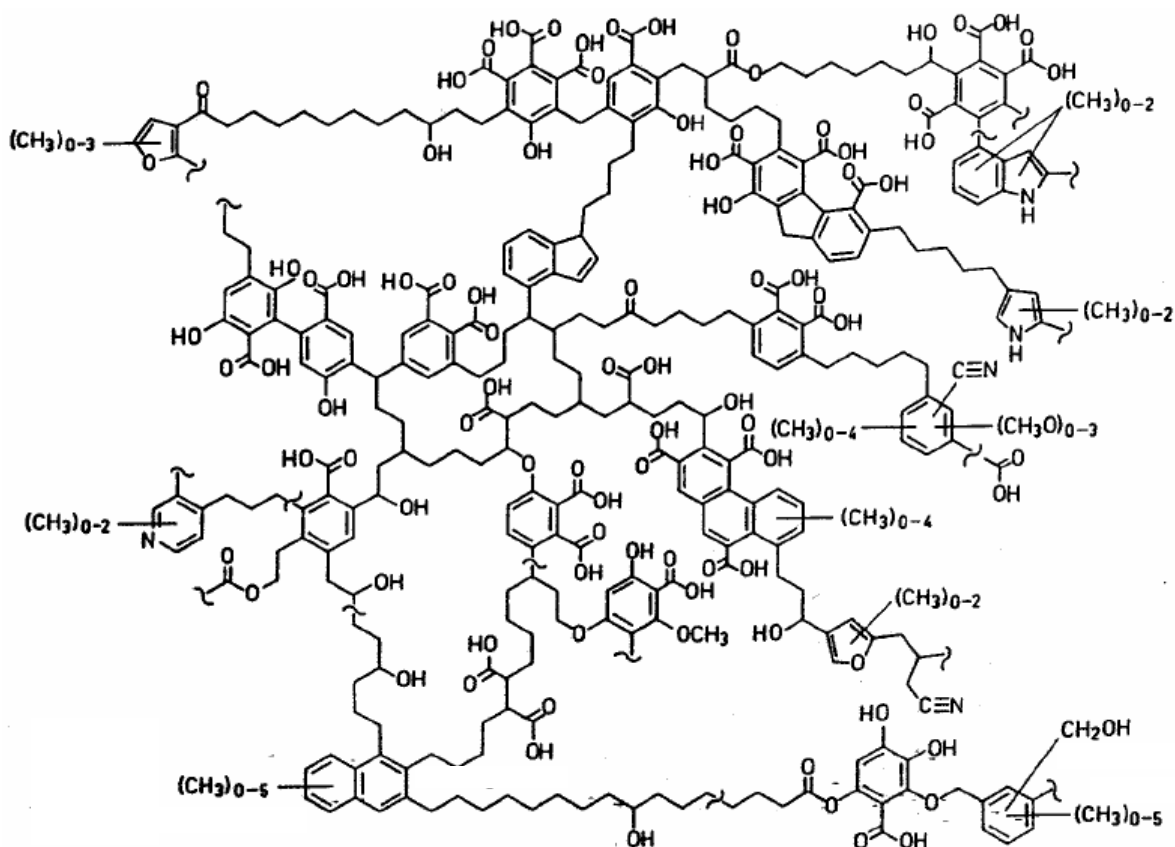


Figura 1.3.- Modelo estructural propuesto para la macromolécula de AH (Schulten *et al.*, 1991; Schulten y Schnitzer, 1993; Schulten, 1995).

Según este modelo, los AH estarían constituidos por una red flexible de enlaces C-C, formada mayoritariamente por anillos aromáticos unidos por largas

cadena alquílicas y con huecos de diferentes dimensiones en los que podrían “fijarse” compuestos orgánicos (carbohidratos, proteínas, lípidos, etc.) e inorgánicos. El O estaría presente en forma de grupos carboxílicos, OH-fenólicos, OH-alcohólicos y enlaces ésteres y éteres, mientras que el N formaría parte de estructuras heterocíclicas y de nitrilos.

Sein *et al.* (1999) propusieron una estructura para los AH aplicando tratamientos de modelización molecular y simulaciones de dinámicas moleculares, que permiten obtener la estructura de menor energía. Dicha estructura presenta un número elevado de centros quirales y muestra que el enlace amida es fundamental en la oligomerización de los AH, propiciando una estructura estable de hélice, en concordancia con la propuesta con anterioridad por Wershaw (1986).

El interés del estudio de las SH deriva en la influencia de estos compuestos en importantes procesos geológicos como la complejación, transporte y deposición de metales y minerales (Kerndorff y Schnitzer, 1980; Christman y Gjessing, 1983), y también en su capacidad para retener compuestos hidrófobos en su estructura (Schnitzer, 1978; Martín *et al.*, 1987). Se admite asimismo que la elucidación de la estructura molecular de las SH pueden suministrarnos una valiosa información sobre el historial diagenético del sedimento en que se encuentra, en particular por la capacidad de preservar en su matriz estructural un material “heredado” de la MO original, como se ha sugerido en recientes estudios estructurales realizados sobre la fracción humina (Almendros *et al.*, 1991).

b. Productos derivados de la lignina

La lignina es el segundo biopolímero más abundante de la naturaleza, después de la celulosa, y forma parte de un conjunto de moléculas orgánicas relativamente recalcitrantes que componen las plantas vasculares o superiores (de Leeuw y Largeau, 1993). Dada la relativa resistencia a la degradación de este polímero y que la distribución de las plantas vasculares se restringe básicamente al medio terrestre, los compuestos derivados de la lignina constituyen marcadores inequívocos de las entradas de material terrestre en los sistemas acuáticos (Louchouart *et al.*, 1999; Houel *et al.*, 2006). Así, la oxidación alcalina de las macromoléculas de la lignina con CuO genera compuestos fenólicos que han sido ampliamente utilizados en la literatura para investigar el origen y la composición de los aportes terrígenos de MO en sedimentos lacustres (Ishiwatari y Uzaki, 1987),

estuarinos (Readman *et al.*, 1986; Louchouart *et al.*, 1997, 1999), de plataforma costera (Hedges *et al.*, 1988 a; Bergamaschi *et al.*, 1997; Goñi *et al.*, 1998; Keil *et al.*, 1998; Louchouart *et al.*, 1999) y de ambientes pelágicos (Gough *et al.*, 1993; Prahl *et al.*, 1994).

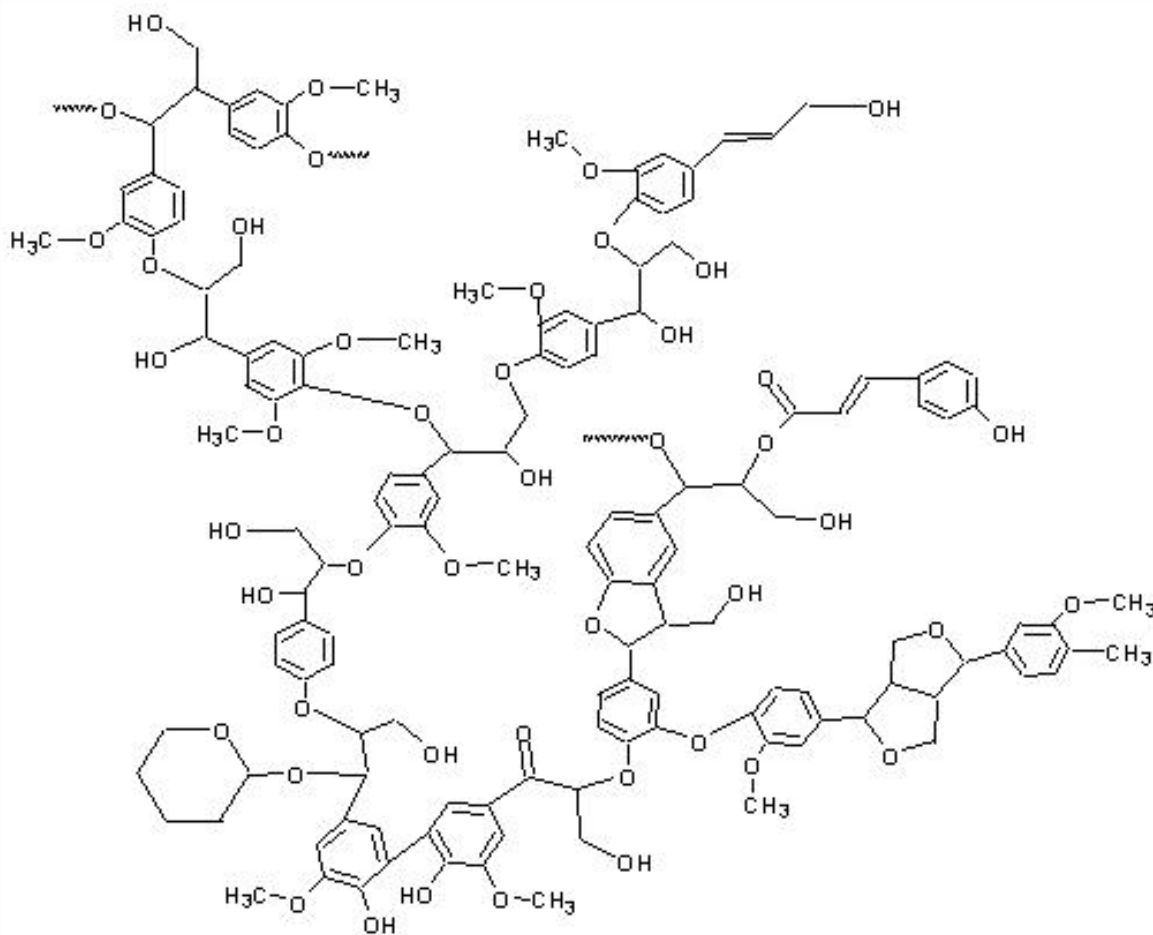


Figura 1.4.- Estructura generalizada de la lignina (Sociedad Americana de Química).

Desde un punto de vista estructural, la lignina es una macromolécula tridimensional, formada por unidades de derivados de fenilpropano que se encuentran unidas por enlaces C-C y éter (Fig. 1.4). Por encontrarse en todas las plantas vasculares, incluyendo las especies herbáceas, la lignina se considera como uno de los precursores mayoritarios de las SH de los sedimentos (Waksman, 1932). Dependiendo del tipo de vegetación originario, los componentes básicos de la lignina derivada varían sensiblemente. Así, mientras que en las ligninas procedentes de las gimnospermas predomina el alcohol coniferílico, en las derivadas de angiospermas

hay una mezcla del alcohol coniferílico y del sinapílico y en las de las gramíneas (angiospermas monocotiledóneas) predominan los alcoholes coniferílico y cumarílico (Fengel y Wegener, 1984).

La biodegradación de la lignina se atribuye principalmente a la acción de hongos basidiomicetos, aunque se ha comprobado que también bacterias, hongos imperfectos y actinomicetos son capaces de degradarla (Fengel y Wegener, 1984; Schoemaker *et al.*, 1991). Las principales transformaciones que sufre la lignina se deben a rupturas oxidativas en las cadenas fenilpropanoicas, desmetilaciones de las estructuras aromáticas, oxidaciones de los alcoholes y fenoles, hidroxilaciones en los anillos aromáticos y aperturas de los mismos. La aplicación de la pirólisis analítica y de métodos de degradación oxidativa con CuO (Hedges y Ertel, 1982; Ertel y Hedges, 1984; Hedges *et al.*, 1988 a) han permitido confirmar estos procesos de transformación y demostrar que la lignina es atacada preferentemente en los enlaces de tipo éter, siendo las uniones de tipo C-C las más resistentes (Hempfling y Schulten, 1989; Hempfling *et al.*, 1990).

c. Black carbon

Dentro de la fracción orgánica más recalcitrante, se define como BC al conjunto de formas de C condensadas, poliaromáticas y relativamente inertes, que tienen su principal origen en los procesos de combustión incompleta, tanto de biomasa como de combustibles fósiles. Es un material que se encuentra de forma ubicua en todo tipo de ambientes naturales, tales como suelos, sedimentos, agua marina, hielos o atmósfera (Goldberg, 1985).

Kuhlbusch y Crutzen (1995) estimaron que la cantidad global de BC producida estaba en torno a los 270 Tg/año, de los cuales, entre 50 y 260 Tg/año se debían a la quema de biomasa y entre 12 y 24 Tg/año a las emanaciones de la quema de combustibles fósiles (Masiello y Druffel, 1998). Se considera que en los sedimentos marinos se depositan anualmente unos 160 Tg de C orgánico, de los cuales entre un 5 y 10% corresponde a BC (Suman *et al.*, 1996; Gustafsson *et al.*, 1998; Masiello y Druffel, 1998). Las dos principales fuentes de BC en estos sedimentos son la precipitación de aerosoles en la superficie de mares y océanos (partículas de tamaño inferior a 1 μ m, procedentes de la quema de combustibles fósiles y biomasa) y el transporte de las aguas continentales (partículas de mayor tamaño, procedentes de combustión de biomasa). La precipitación de BC atmosférico sólo puede explicar entre

un 30 y un 40 % de la tasa total de producción de BC observada, por ello, es muy posible que el transporte de BC en ríos y aguas superficiales de escorrentía represente una fuente muy importante de BC, que se acumula en las zonas de estuarios y litoral (Hedges y Keil, 1997; Kuhlbusch, 1998; Masiello y Druffel, 1998).

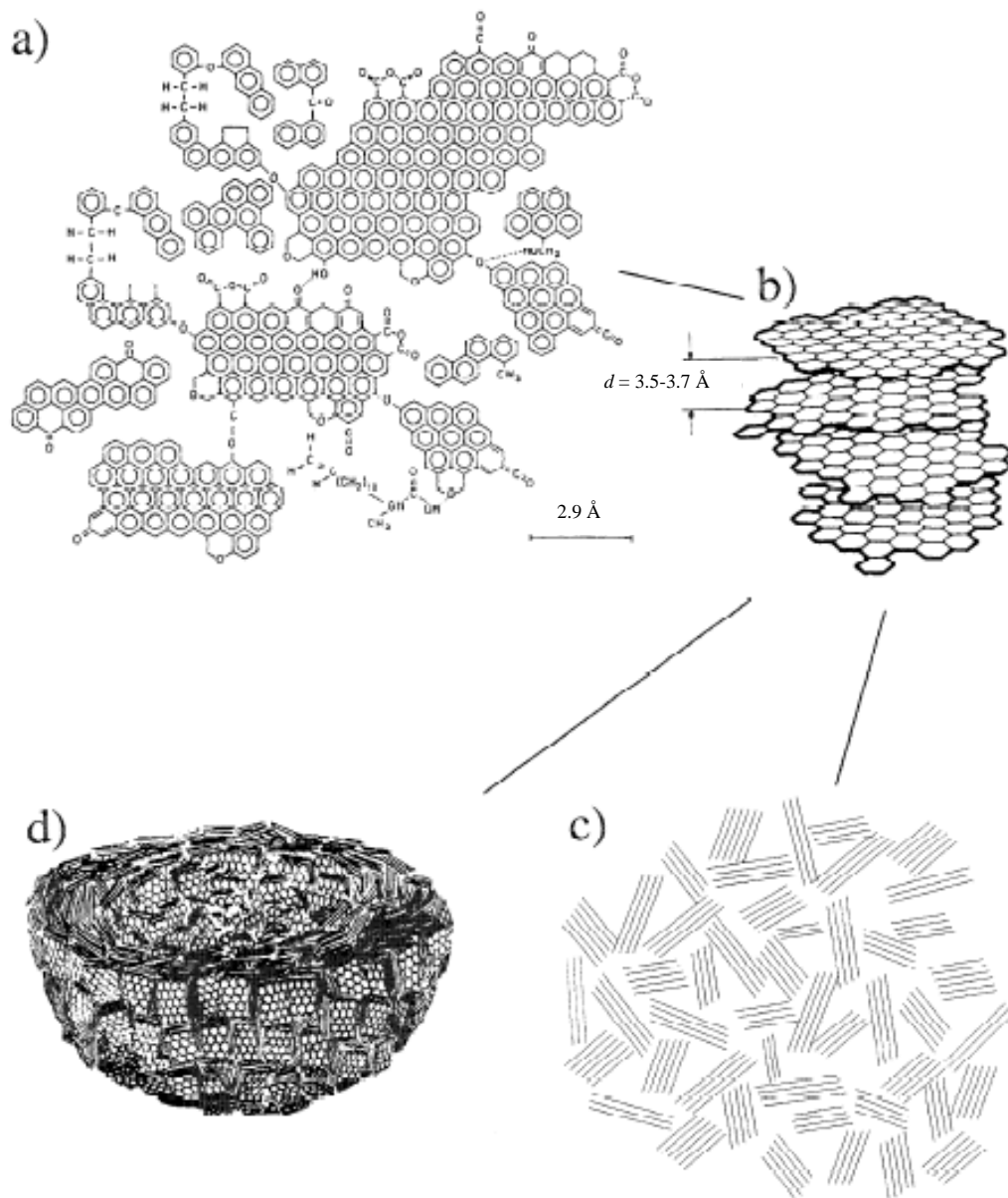


Figura 1.5.- Modelo y unidades básicas de la estructura del *black carbon* (Schmidt y Noack, 2000): a) estructura general del *black carbon*; b) distribución en estructura de tres a cuatro capas (Heidenreich *et al.*, 1968); c) distribución en láminas de grafito orientadas al azar; d) distribución en núcleos de condensación tipo "cebolla" (Heidenreich *et al.*, 1968).

Tradicionalmente se le ha concedido al BC un carácter muy estable, relacionado con la baja velocidad de reacción que presenta ante condiciones de oxidación química y que ha sido descrita en sedimentos marinos (Wolbach y Anders, 1989). Se han encontrado residuos de BC de hasta 65 millones de años de antigüedad, en los que no se reconocía ninguna tendencia a la disminución del tamaño de las partículas con la profundidad de los sedimentos (Herring, 1985), reflejando una gran resistencia a la degradación. Sin embargo, trabajos posteriores (Middelburgh *et al.*, 1999) han llamado la atención sobre la evidencia de ciertos signos de alteración oxidativa selectiva de formas de BC en sedimentos marinos, que apunta hacia un papel más dinámico de lo que se pensaba (Masiello, 2004 y referencias citadas), aunque se desconocen los mecanismos químicos o biológicos implicados.

La estructura química del BC es altamente aromática (Fig. 1.5 a), pudiendo presentar todo un amplio espectro de partículas de combustión que incluye desde residuos de la combustión incompleta de tejidos vegetales (*char* y *charcoal*) hasta productos de condensación de la combustión de gases a altas temperaturas (*soot*) y sus HAP asociados, así como el carbón grafitico inerte (Goldberg, 1985). Las diferencias en las propiedades y características fisico-químicas de las distintas fracciones de BC, derivan fundamentalmente de las distintas condiciones a las que se produce la combustión que da lugar a su formación. Aunque los mecanismos precisos de formación de las partículas más condensadas del BC no han sido descritas, se relacionan con la producción de iones o radicales formados por dos C, que se unen en forma de HAP en estructuras laminares (Fig. 1.5 b). El ensamblaje continuo de estos HAP (Fig. 1.5 c) da lugar a la formación de anillos aromáticos mayores, que se condensan en forma de esferas sólidas de un diámetro mínimo (Kennedy, 1997), resultando en una estructura altamente condensada descrita como de tipo “cebolla” (Fig. 1.5 d).

Aunque se conoce poco sobre las reacciones y los destinos del BC en el medio ambiente, parece claro que las distintas fracciones que componen su espectro presentan distintas vías de distribución y varían en sus propiedades físicas y químicas (Kuhlbusch, 1998). La fracción más condensada del BC (grafito y *soot*) se forma mayoritariamente en fase vapor, tiene un tamaño de partícula menor que las partículas residuales de la biomasa carbonizada y se dispersa rápidamente en forma de aerosoles, mediante transporte atmosférico y deposición (Andreae *et al.*, 1984). Por el contrario, las partículas carbonizadas de mayor tamaño (*char* y *charcoal*), pueden

permanecer próximas a su lugar de formación durante periodos más largos de tiempo (Lichtfouse *et al.*, 1997) o pueden ser transportados por medio de la escorrentía superficial y las corrientes fluviales hasta lagos y márgenes continentales, pasando a formar parte de sus sedimentos. Por ello, el estudio del BC en el medio ambiente a través del tiempo geológico requiere de métodos, no sólo cuantitativos, sino también específicos de las diferentes formas de BC (Schmidt *et al.*, 2001).

El aislamiento y la cuantificación de las diferentes formas de BC de los complejos orgánicos y las matrices minerales suponen un reto importante debido a la falta de estandarización en la definición, identificación y técnicas analíticas (Suman *et al.*, 1996; Kuhlbusch, 1998). Se han desarrollado una gran variedad de métodos operacionales para determinar la fracción BC, incluyendo técnicas microscópicas, ópticas, químicas, térmicas, espectroscópicas o de marcadores moleculares (Masiello, 2004 y referencias citadas). Sin embargo, recientes revisiones de estas metodologías (Currie *et al.*, 2002; Accardi-Dey, 2003; Nguyen *et al.*, 2004) han puesto de manifiesto la falta de un método estandarizado de cuantificación el BC, así como que cada uno de los métodos existentes tiene sus propias limitaciones inherentes, derivadas de la medida de diferentes regiones del espectro de combustión del BC (e.g. Masiello, 2004). Mientras las técnicas ópticas o microscópicas detectan fundamentalmente partículas de *charcoal* relativamente grandes, los métodos térmicos o químicos, basados en la mayor resistencia a la degradación del BC, oxidan las partículas menos refractarias de *charcoal* y miden las formas más pequeñas y condensadas, que incluyen el *soot* y el BC grafítico. De esta forma, el diseño de tratamientos selectivos, químicos o térmicos, permite separar los componentes orgánicos más lábiles (Gélinas *et al.*, 2001) pudiendo aislar las formas más refractarias del BC.

El BC participa en el ciclo biogeoquímico global del C y del O, a través de su importante contribución al llamado ciclo lento (etapa geológica) del C orgánico (Gélinas *et al.*, 2001). Debido a su estabilidad y resistencia a la alteración química y biológica, se le considera un importante sumidero de CO₂ atmosférico y de una parte sustancial del C perdido en el balance global del C afectado por la acción antrópica (Kuhlbusch, 1998), quedando secuestrado de forma estable en suelos y sedimentos. De esta manera, su interés fundamental radica en su importante papel en el balance de la emisión radiactiva de la Tierra y su potencial implicación en el proceso global de Cambio Climático (Crutzen y Andreae, 1990).

1.6. Aplicación de la Geoquímica Inorgánica como herramienta de reconstrucción ambiental

De forma complementaria al análisis de la fracción orgánica, la observación directa de las secuencias sedimentarias y su caracterización geoquímica, por medio de la determinación de parámetros físico-químicos, tales como la textura, el pH o la densidad y la concentración y distribución de elementos mayoritarios y traza en los sedimentos, aportan información sobre el origen y los procesos de transporte y alteración sufridos por el material sedimentario (Herron, 1988), así como de sus condiciones de deposición y posterior evolución (diagénesis).

Los sedimentos constituyen una reserva de contaminantes a largo plazo, ya que sustancias químicas de diversa procedencia se liberan al medio ambiente a través de procesos naturales o antrópicamente inducidos, que se introducen en los sistemas acuáticos y acaban depositándose finalmente en el lecho de sedimentos. La geoquímica inorgánica de los sedimentos resulta, por tanto, una herramienta útil de monitorización de cambios ambientales inducidos por causas naturales y antropogénicas (Borrego *et al.*, 2004).

Los *macroelementos* (Si, Al, Fe, K, Ca, Mg, Na, Ti, Mn y P, en orden decreciente de abundancia) son los elementos que componen de forma mayoritaria las fracciones minerales de los sedimentos. La determinación de su concentración y distribución, permite obtener información sobre potenciales orígenes de los sedimentos (Brumsack, 2006). Así, elementos como el Al, Si, Fe o Ti se encuentran presentes fundamentalmente como componentes estructurales de los sedimentos, pudiendo también formar parte de cubiertas óxido/hidróxido en granos minerales (Fe; Canfield *et al.*, 1992), de nódulos de origen hidrogénico junto con el Mn (nódulos de Fe/Mn, Chester, 2000), de minerales pesados como el rutilo (Ti) o de restos biogénicos (Si, en ópalo amorfo). El Ca y el Mg intervienen mayoritariamente en forma de minerales de origen biológico (caparazones, conchas y esqueletos animales), mientras que el P es un elemento nutriente esencial, que se incorpora a los sedimentos ricos en C orgánico y apareciendo a menudo en forma de granos individuales o incluso de concreciones. El Na y el K, por su parte, pueden proceder de fuentes muy variadas (litogénica, hidrogénica o biológica) y su estimación requiere de un factor de corrección respecto al contenido de sales en el medio marino (Brumsack, 2006).

El término “metales pesados” se aplica de forma general para designar el grupo de metales y metaloides que presentan una densidad atómica mayor de 6 g/cm³. Aunque el término metales pesados es algo ambiguo, se emplea generalmente para elementos como Al, As, Cd, Cr, Co, Cu, Hg, Ni, Pb, Se y Zn, que se asocian con problemas de contaminación y ecotoxicidad. Se trata de elementos ubicuos en la naturaleza, que forman parte de las rocas y de las menas minerales (Freedman, 1995), encontrándose de forma natural en concentraciones variables en suelos, sedimentos, aguas y organismos vivos.

Los metales pesados son contaminantes conservativos, que no están sujetos a la biodegradación o, si lo están, ésta es muy lenta (Clark, 1997). Algunos metales, como el Cu, Zn y posiblemente el Se, son esenciales para la vida y su presencia en el medio puede deberse a procesos geoquímicos como la erosión o el vulcanismo (Anas, 1974), pero también pueden proceder de fuentes antropogénicas como vertidos industriales, urbanos, pesticidas, etc. (Goldblatt y Anthony, 1983). Durante el último periodo geológico (Holoceno), que comprende la historia del hombre, se ha observado un aumento significativo de la concentración de metales pesados en el medio marino (Boutron y Delmas, 1980), especialmente patente en las zonas más recientes de los sedimentos y en aquellos cercanos a costas contaminadas y/o zonas industrializadas, tales como la costa suroeste de la Península Ibérica. Se sabe además que los metales pesados, junto con otros contaminantes, pueden ser transportados a grandes distancias por medio de la atmósfera, pudiendo acumularse en los sedimentos oceánicos más profundos (Slemr y Langer, 1992).

2. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS

2. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS DEL TRABAJO:

La MOS está formada por una gran variedad de componentes, distintos en estructura, características geoquímicas, fuentes y estado de conservación. A partir de su estudio, la *Geoquímica Orgánica* puede llegar a determinar el origen, distribución, evolución y procesos de alteración de la MO, por medio de la identificación de potenciales precursores de los compuestos orgánicos identificados, que permiten la reconstrucción de las condiciones y ambiente de sedimentación.

Los márgenes continentales (deltas y plataformas) constituyen lugares representativos de la preservación de la MO, donde tiene lugar más del 80% del enterramiento global del C (Hedges y Keil, 1995 y referencias citadas). La abundante entrada de MO de origen continental que se produce en las áreas costeras, las escasas profundidades propias de estos ambientes y las altas tasas de producción primaria que los caracterizan dan lugar a altas tasas de sedimentación que favorecen los procesos de enterramiento y la estabilización de la MO, a través de mecanismos de adsorción en superficies minerales (Goñi *et al.*, 2000). En este sentido, la plataforma continental del Golfo de Cádiz constituye un entorno ambiental particularmente interesante, por estar situado en la confluencia del Océano Atlántico y del Mar Mediterráneo y recibir aportes terrígenos, tanto orgánicos como inorgánicos, que juegan un importante papel en la acumulación de la MOS.

Aunque son diversos los trabajos que han investigado los mecanismos que afectan la preservación del C en el océano (e.g. Emerson y Hedges, 1988; Keil *et al.*, 1994; Hartnett *et al.*, 1998), existe una creciente preocupación por comprender los procesos básicos que controlan el ciclo del C orgánico, con particular interés en los sistemas de transición entre los medios continental y oceánico, donde los efectos del proceso global de Cambio Climático pueden llegar a tener un impacto más evidente.

En este contexto, el propósito general de este trabajo es hacer una caracterización geoquímica completa de sedimentos de la plataforma continental interna del Golfo de Cádiz y valorar la influencia continental en el medio marino, en términos de aporte de material terrígeno, tanto natural como contaminante. Además, con este estudio se quiere contribuir a la caracterización geoquímica del BC y las formas más refractarias de la MOS, que juegan un papel fundamental en el ciclo del C, como sumidero natural de C orgánico. De esta forma, los objetivos específicos que se persiguen son los siguientes:

1. Estudiar la composición química y estructural de sedimentos de la plataforma continental interna del Golfo de Cádiz, mediante el análisis combinado de propiedades fisicoquímicas e indicadores elementales, isotópicos y moleculares.
2. Determinar el contenido y las relaciones elementales de los componentes mayoritarios y elementos traza de los sedimentos, así como evaluar los niveles y la distribución espacial de los metales pesados y otros contaminantes, en relación a las potenciales fuentes de contaminación de la zona.
3. Analizar la composición y distribución de las principales familias de marcadores moleculares de la lignina y los lípidos, para contribuir a la reconstrucción del origen y composición de las potenciales fuentes de la MOS.
4. Analizar la composición elemental, las características estructurales y el estado de degradación de los AH, mediante la aplicación de distintas técnicas analíticas.
5. Determinar el contenido, la estructura y la composición isotópica del BC. Evaluar su contribución a la MOS, mediante la aplicación de distintos métodos de aislamiento y técnicas de análisis, con el fin de contribuir a la caracterización de la fracción orgánica más refractaria de los sedimentos.
6. Evaluar la influencia continental en el medio costero a través del análisis conjunto de diversos indicadores terrestres, orgánicos e inorgánicos.

3. SITUACIÓN Y ÁREA DE ESTUDIO

3. SITUACIÓN Y ÁREA DE ESTUDIO	35
3.1. Descripción ambiental del sector costero	36
3.1.1. Geología.....	36
3.1.2. La Faja Pirítica y la actividad minera asociada	37
3.1.3. Desarrollo socioeconómico	38
3.1.4. Edafología	40
3.1.5. Vegetación	40
3.2. Estuarios del Suroeste de España.....	42
3.3. Características de la plataforma continental del Golfo de Cádiz	46

3. SITUACIÓN Y ÁREA DE ESTUDIO

Este trabajo se desarrolla en el área más occidental de la plataforma continental interna del litoral suratlántico español, en el margen septentrional del Golfo de Cádiz, que engloba la zona costera de influencia continental que se encuentra entre los estuarios de los ríos Guadiana y Tinto (Fig. 3.1). El interés fundamental de esta zona, ampliamente caracterizada desde el punto de vista geológico por el Instituto Geológico y Minero de España (IGME), radica en la intensidad de la acción antrópica ejercida durante miles de años, desde los comienzos de la actividad minera por parte de los primeros pueblos colonizadores de la Península Ibérica, hasta el desarrollo industrial de la era moderna a partir de los años sesenta. Todo ello, unido a la acción erosiva ejercida por los sistemas fluviales de la cuenca que drena uno de los mayores depósitos de sulfuros del mundo (Faja Pirítica Ibérica), hacen de este enclave un ambiente especialmente interesante para el estudio de la influencia antrópica y continental sobre el medio costero.

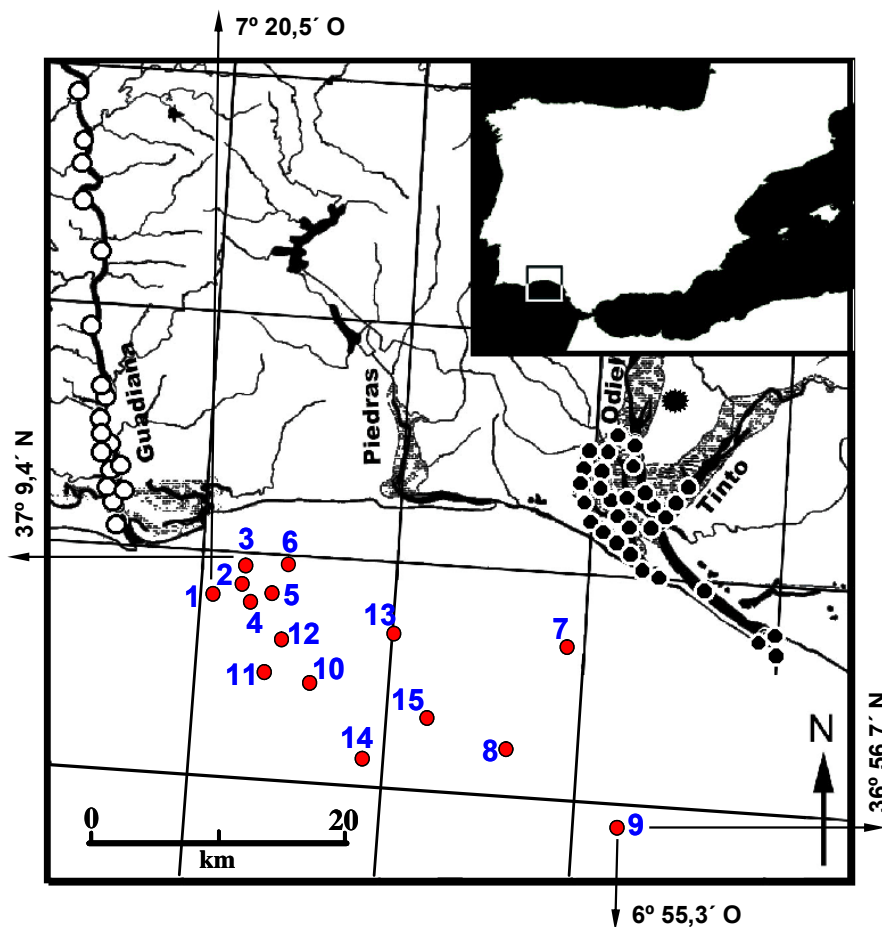


Figura 3.1.- Área de estudio y localización de los puntos de muestreo. El asterisco negro representa la localización de una muestra de sedimento (H-2C) recogida a 15 m de profundidad, para la determinación de los valores de fondo de elementos mayoritarios y traza (ver sección 5.2).

El criterio de selección de los puntos de muestreo se basó en definir un transecto representativo de un cierto gradiente tierra-mar, a lo largo del cual poder detectar la influencia continental sobre el medio marino en las diferencias geoquímicas y su variabilidad espacial. De esta forma, se tomaron 15 muestras de sedimento entre las coordenadas geográficas (DATUM WGS 84): 37° 9,4'N - 36° 56,7'N y 6° 55, 3'O – 7° 20,5'O (Fig. 3.1).

3.1. Descripción ambiental del sector costero

3.1.1. Geología

Desde un punto de vista geológico, el litoral adyacente corresponde mayoritariamente a edades comprendidas entre el Terciario y el Cuaternario (Fig. 3.2), aflorando en orden de antigüedad las siguientes formaciones: Mioceno (Tortonense) constituido por margas azules (al E de la carretera Gibrleón-Huelva) y areniscas miocenas (Saheliense), que aparecen principalmente en los términos de Lepe y Cartaya y que afloran también paralelamente al río Tinto. Apoyados sobre las anteriores, se asientan formaciones pliocenas continentales y/o litorales. La mayor superficie corresponde a edades pliocenas y está constituido por gravas, arenas, cantos y conglomerados, que constituyen el Plioceno Continental y que se extienden hacia el Sur hasta confundirse con el Plioceno Marino. En la parte del litoral se asientan limos, arcillas, cantos, arenas, areniscas y gravas holocénicas, que se extienden hasta las playas con sus dunas vivas. Estas formaciones quedan interrumpidas por los depósitos cuaternarios (Holoceno) de limos, cantos, arenas, gravas y arcillas, en los ríos Piedras, Tinto y Odiel. Al NE aparecen manchas paleozoicas, correspondientes a materiales del Carbonífero Inferior, que consisten en grauwacas y pizarras arcillosas con frecuentes alternancias de fajas arenosas (Liñán *et al.*, 1994).

La cuenca del río Guadiana está compuesta por un amplio rango de formaciones geológicas, de edades comprendidas entre el Proterozoico y el Mesozoico. En la zona del S de Portugal la mayoría de los afloramientos son depósitos *flysch*, formaciones vulcano-sedimentarias (Faja Pirítica Ibérica) y metabasaltos de edades devónicas y carboníferas (González *et al.*, 2006). En las áreas próximas a la desembocadura del Guadiana, así como en algunas áreas de la cuenca interna, se encuentran terrenos mesozoicos. Las cuencas de drenaje de los ríos Tinto y Odiel descansan principalmente sobre materiales paleozoicos y, más específicamente,

sobre formaciones del llamado complejo volcánico sedimentario, ocupando gran parte del denominado Dominio Central o Faja Pirítica Ibérica (Borrego *et al.*, 2002).

3.1.2. La Faja pirítica y la actividad minera asociada

La Faja Pirítica Ibérica constituye el principal substrato geológico de la red de drenaje de los ríos de la zona y está formada por tres grupos estratigráficos (Moreno, 1993):

1. *Formación Fillítica-Cuarcítica Devónica* (PQ) con alternancia de pizarras y cuarcitas, que contienen lentejones locales de conglomerados y carbonatos.
2. *Complejo Sedimentario Volcánico del Carbonífero*, representado por rocas volcánicas félsicas y máficas, desde subaéreas a marinas, y sedimentos volcánicos epiclásticos, que incluyen importantes minerales sulfurosos vulcano-sedimentarios.
3. *Grupo Culm Superior* (Carbonífero), compuesto por una sucesión de pizarras, grauwas y unidades de turbiditas.

Cerca de la desembocadura del río Odiel, los sedimentos del Holoceno se depositaron sobre sedimentos siliciclásticos del Mioceno-Plioceno generados en ambientes marinos y continentales (Civis *et al.*, 1987). Esta sucesión del Terciario consiste en arcillas y limos gris-azul basales (*Formación de Arcillas Gibraleón*) y arenas finas superiores y limos gris-amarillos (*Formación de Huelva*). Estas formaciones constituyen un gran sistema de acantilados distribuidos a lo largo de la línea de costa que rodea este estuario (López-González *et al.*, 2006).

Como ya se ha mencionado, la Faja Pirítica Ibérica constituye uno de los depósitos masivos de sulfuros más grandes y famoso del mundo, que contiene más de 10^9 t de mineral masivo de pirita y abundantes sulfuros metálicos (Zn, Cu, Pb) y metales traza asociados (Cd, As, Tl, Sn, Hg, Ag y Au) (Borrego *et al.*, 2004). Se extiende en una orientación fundamentalmente E-O, cruzando unos 250 km desde el SO de España hasta el SE de Portugal, con una anchura media de 30-40 km (Davis *et al.*, 2000) y una potencia de varios cientos de metros. El cuerpo mineral se limita a una longitud de 5 km, una anchura de 750 m y una potencia de 40 m. Estos sulfuros se formaron a principios del Carbonífero (300-350 Ma), sobre una secuencia de pizarras del Devónico y arenitas de cuarzo y están recubiertos por turbiditas del Carbonífero

Inferior (Moreno, 1993). La mineralización se produjo por una gran actividad hidrotermal desarrollada en el fondo marino durante un periodo de intensa actividad volcánica (Davis *et al.*, 2000) y su deformación tuvo lugar durante la Orogenia Hercínica (Strauss *et al.*, 1977).

La explotación minera de estos depósitos de sulfuros masivos se ha llevado a cabo durante aproximadamente 5000 años (Davis *et al.*, 2000), empezando con los pueblos Íbero y Tarteso, que desarrollaron las primeras minas alrededor del año 3000 a.C., cerca de la actual localidad de Nerva. Estas operaciones subterráneas a pequeña escala fueron seguidas por las de los Fenicios (2800-2600 B.P.) y los Romanos (2000-1800 B.P.). Esta área constituye el asentamiento de los comienzos de la Edad del Cobre y la Edad del Bronce (Coles y Harding, 1979). Los Romanos acuñaron sus primeras monedas a partir de materiales extraídos en esta zona, especialmente oro y plata. Culturas posteriores, incluyendo la de los Visigodos (1600-1300 B.P.) y los Musulmanes (1300-500 B.P.) abandonaron las operaciones mineras y no fue hasta el siglo XIX cuando resurgió de nuevo la actividad, a cargo de empresas del Reino Unido, mediante el predominio de trabajos a cielo abierto a gran escala, hasta que prácticamente se agotaron los depósitos un siglo después (Davis *et al.*, 2000). El pico de producción de los productos de gran volumen, como la pirita, tuvo lugar entre 1875 y 1930 (Ferrero, 1988). La producción de cobre se detuvo en 1986 y la de plata y oro siguieron hasta 1996. En 1994 se retomó de nuevo la producción de cobre a mucha menor escala, pero resultó poco rentable y se abandonó definitivamente en 1998 (Davis *et al.*, 2000).

3.1.3. Desarrollo socioeconómico

El desarrollo socioeconómico de la zona se ha basado fundamentalmente en el desarrollo de las actividades industrial, agrícola y de servicios. Bajo la sombra de una tradicional actividad minera, el desarrollo industrial ha girado en torno al refinado de petróleo, la fundición de cobre, las plantas de productos químicos (fertilizantes, petroquímicos, explosivos, etc), las actividades pesqueras, los procesado de metales pesados, la industria cementera y papelera, las construcciones navales o la extracción de áridos (Grande *et al.*, 2000; Leblanc *et al.*, 2000; Borrego *et al.*, 2002), mientras que las labores agrícolas se han caracterizado por el desarrollo de la labor intensiva, basada fundamentalmente en el cultivo de hortalizas y cereales, frutales y de secano.

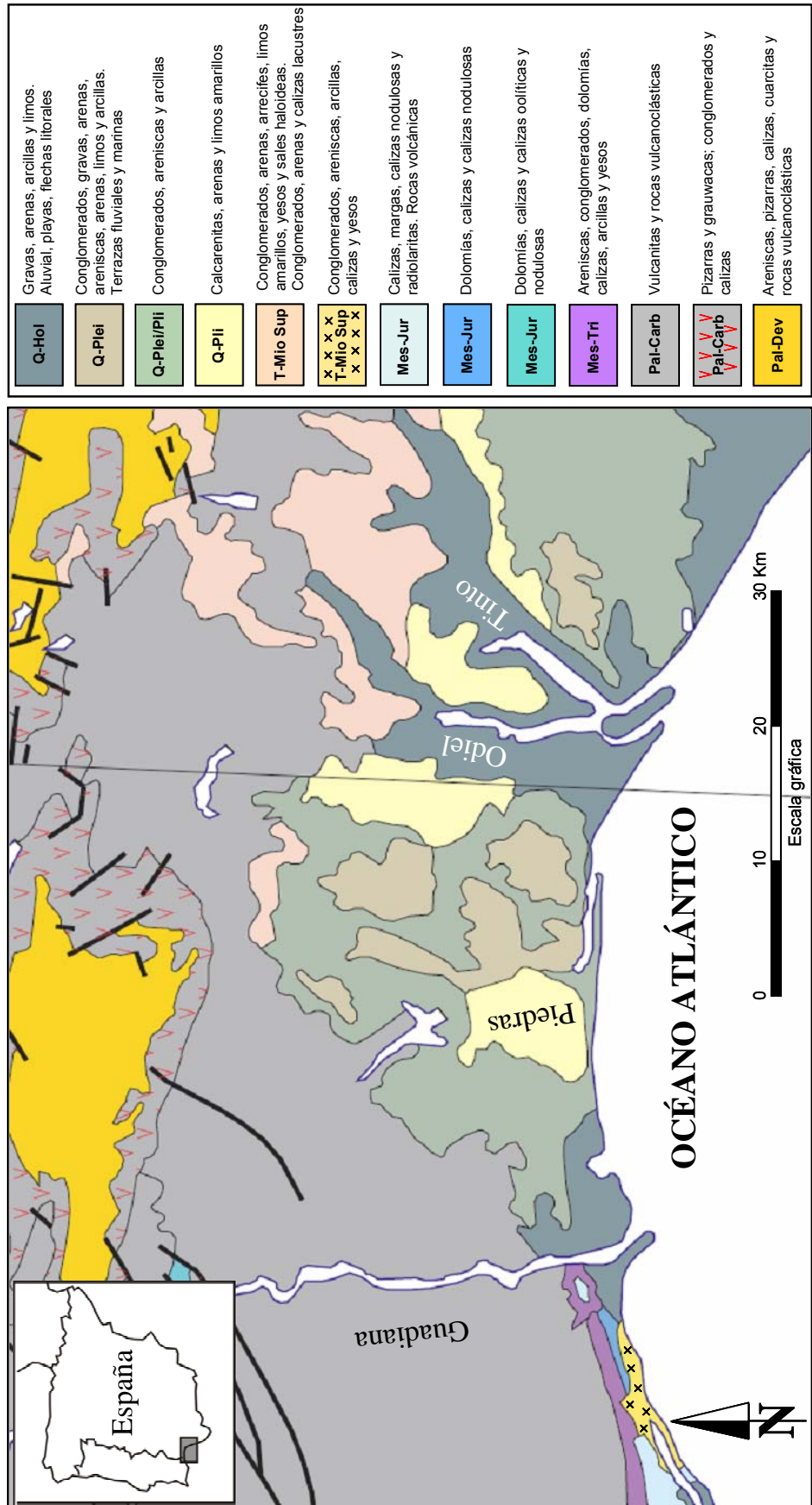


Figura 3.2.- Esquema geológico del área de estudio. Modificado del Mapa Geológico de la Península Ibérica, Baleares y Canarias (Liñán *et al.*, 1994).

3.1.4. Edafología

La clasificación edafológica del límite continental del área de estudio abarca los siguientes Órdenes edafológicos: Entisol, Alfisol, Inceptisol y Vertisol, de acuerdo con la Soil Taxonomy (Soil Survey Staff, 1999). Los suelos más abundantes son los Entisoles, dentro de los cuales los Xerorthents dominan en las zonas más abruptas, siendo suelos pobres y poco profundos, sometidos y fruto de una continua erosión. Los Xeropsamments son suelos de carácter arenoso y profundo, que se encuentran típicamente desarrollados en las zonas de dunas y arenales, tan abundantes a lo largo de todo el margen costero, especialmente entre las desembocaduras de los ríos Guadiana y Piedras. También dentro del Orden Entisol, los Xerofluvents son suelos aluviales que aparecen en los márgenes de los ríos, profundos y sin desarrollo morfológico del perfil, formados a partir de los respectivos aportes fluviales. En el entorno del sistema fluvial del Tinto y Odiel, predominan los Haploxeralfs, suelos generalmente profundos, ligeramente ácidos y potencialmente ricos en elementos minerales. Entre las cuencas de los ríos Guadiana, Tinto y Odiel se extienden los Xerochrepts, denominados en la terminología tradicional como tierras pardas meridionales y desarrollados sobre rocas metamórficas. En menor medida y limitados básicamente a los márgenes del río Tinto, los Chromoxererts representan suelos de gran espesor y altos contenidos en arcilla, fundamentalmente esmectítica.

3.1.5. Vegetación

La vegetación natural de la zona se describe como una formación típica *Durilignosa*, con características oceánicas, pero marcadamente mediterráneas, formada por bosques y bosquetes esclerófilos perennifolios, presididos por la encina (*Quercus ilex*). Existe una importante representación de matorral y pastizal característicos de las zonas de marisma, asentados en terrenos donde se suceden frecuentes encharcamientos, como consecuencia del desbordamiento de ríos, arroyos y esteros durante la estación húmeda. Estas formaciones de marismas, constituidas por gramíneas y especies típicamente halófilas (ver Anexo), se asientan en suelos poco profundos, pedregosos y de acidez acusada. Además, entre la vegetación espontánea de tipo matorral, predominan las especies leñosas de jaras, asociadas en algunos casos con tomillos, lentiscos, cantuesos, retamas, romeros y aulagas (Anexo). La superficie forestal está dominada por las formaciones de pino piñonero (*Pinus pinna*) y eucalipto (*Eucalyptus globulus*), independientes o asociadas entre sí, con pino resinero (*Pinus pinaster*), *Eucalyptus rostrata* y/o matorral.

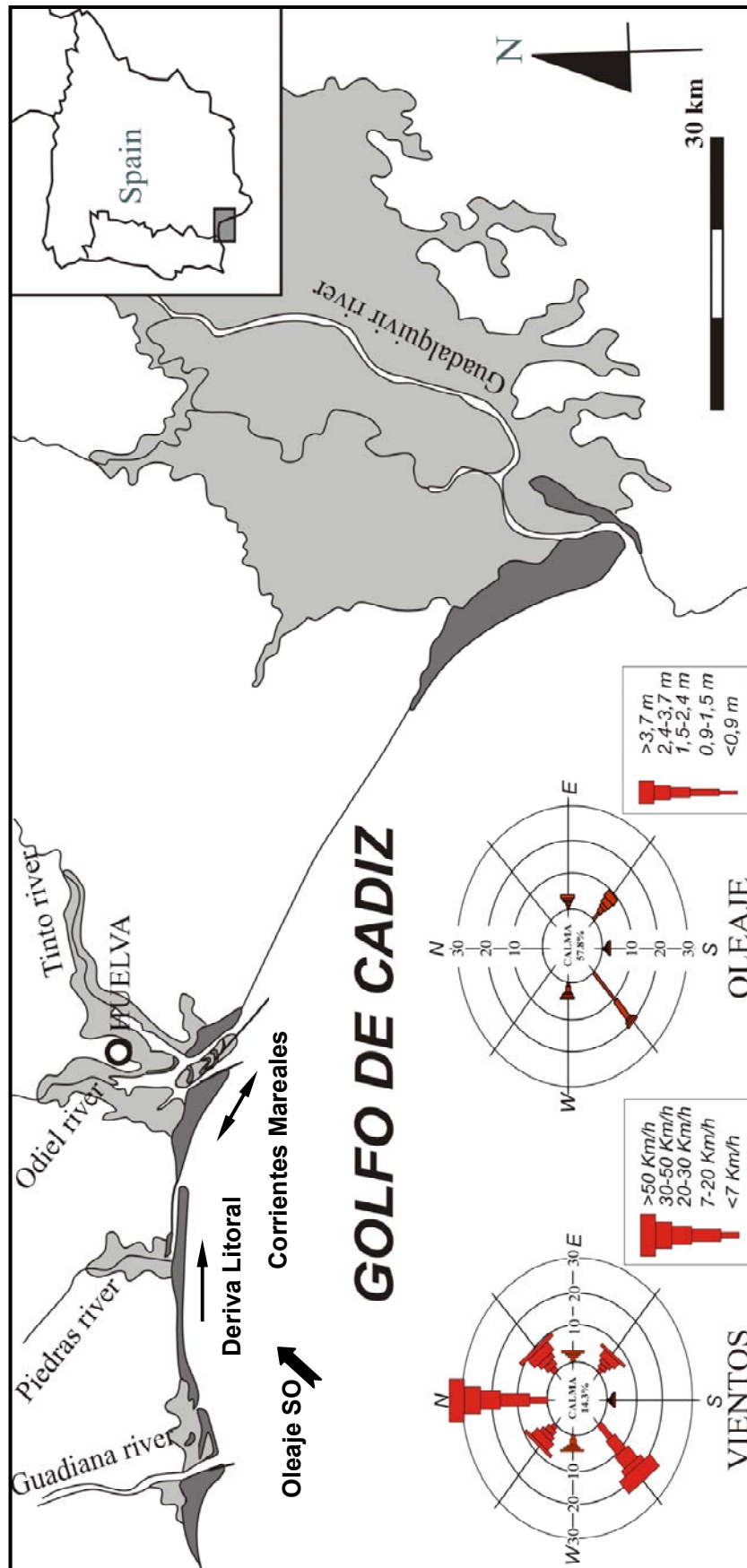


Figura 3.3.- Mapa esquemático de los estuarios del SO de la Península Ibérica y su dinámica costera (modificado de Morales, 1995).

Dentro de la superficie de arbolado también existen extensiones frutales de higueras, almendros, encinas y olivo. Además, en los cauces de los ríos y arroyos son características las adelfas y los juncos (Ruiz de la Torre, 1990).

3.2. Estuarios del Suroeste de España

La zona de estudio se encuentra próxima a la confluencia del Océano Atlántico con el Mar Mediterráneo, en una franja costera que recibe las aguas de los ríos Guadiana, Piedras, Odiel y Tinto (Fig. 3.3). A diferencia de la mayoría de los estuarios europeos, que se formaron en los grandes ciclos glaciares acaecidos durante el Pleistoceno, los estuarios de estos ríos son el resultado de la excavación de los cauces fluviales, que tuvieron lugar durante el último periodo glacial (*Würm*) y su posterior inundación a lo largo de la *Transgresión Flandriense*. En su momento culminante, el nivel del mar debió situarse 2 ó 3 m por encima del actual, dando lugar a estuarios de mayor extensión que los actuales. El posterior descenso de las aguas supuso la fosilización de unos y la merma de otros, haciendo que afloraran parte de las llanuras de sedimentación que actualmente conforman las planicies en torno a algunos de los principales estuarios (Morales, 1997; Pendón *et al.*, 1998).

Aun presentando similitudes entre ellos, estos estuarios exhiben diferencias importantes relacionadas principalmente con los mecanismos de cierre de la desembocadura, la distribución de sus facies internas y su fisiografía. Estas diferencias vienen justificadas por la situación geográfica y orientación de la línea de costa, la diferente propagación de la onda de marea en el interior de cada estuario y las características del componente fluvial de cada sistema (Polvillo, 2003). El estuario del río Guadiana, por su parte, constituye el sistema mesotidal fluvio-marino más importante del SO de la Península Ibérica. Situado sobre un sustrato paleozoico, conforma en su desembocadura un canal estuarino sobre un valle fluvial, como consecuencia de los efectos de la *Transgresión Flandriense*. Este estuario se configura como el único sistema del litoral en el que no se ha producido la colmatación de una amplia bahía, debido al elevado encajonamiento del enclave. En su lugar existió un pequeño entrante costero en el sector más meridional del sistema (*estuario marino*), el cual, debido precisamente a esta peculiaridad, ha evolucionado de una forma diferente (Polvillo, 2003). Por otra parte, los estuarios de los ríos Piedras, Tinto y Odiel se disponen sobre un sustrato clásico neógeno-cuaternario y en ellos la contribución fluvial es mucho menor, produciéndose descargas fluviales en el interior de los estuarios, que dan lugar a amplias llanuras mareales con vegetación. Sus

desembocaduras se caracterizan por el desarrollo de flechas litorales, alimentadas por la deriva litoral del O (Fig. 3.3). La historia y evolución de estos sistemas estuarinos supone el paso desde una costa de energía mixta dominada por la acción de las mareas hacia otra dominada por la acción del oleaje, a lo largo de su historia holocena (Borrego *et al.*, 1993, 1999).

El Guadiana es uno de los ríos principales de la Península Ibérica, con una longitud total de 730 km, de los cuales los 200 últimos km forman una frontera natural entre España y Portugal. Se trata de un sistema fluvial con una gran variabilidad interanual, que refleja la influencia combinada de las fluctuaciones climáticas y los manejos de regulación (Silva *et al.*, 2000). El flujo promedio del río al estuario, medido en la estación de Pulo do Lobo (a unos 70 km corriente adentro de la desembocadura), se estimó entre 1940 y 2001 en un valor medio de 141 m³/s, habiendo decrecido hasta 83 m³/s durante la última década (González *et al.*, 2001). La plataforma continental sometida a la influencia del río Guadiana se encuentra en el área de transición entre la relativamente abrupta plataforma portuguesa, de 5 km de anchura y 0,5° de pendiente, y la localizada frente a la desembocadura del Guadalquivir, de anchura superior a 30 km y pendiente inferior a 0,2° (Lobo *et al.*, 2001). El río Guadiana ha experimentado un incremento de la influencia antrópica durante la segunda mitad del siglo XX (Brandão y Rodrigues, 2000; González *et al.*, 2001), que ha originado la reducción de los niveles medios de carga fluvial, con impactos directos en los eventos de inundación extremos y con la alteración de la cantidad y tipo de sedimentos exportados a la plataforma adyacente, afectando los índices de erosión costera, relleno estuarino y desarrollo de biotopos (González *et al.*, 2006).

El río Piedras da lugar a uno de los sistemas estuarinos más significativos de la costa mesomareal de Huelva (Morales *et al.*, 2001). Su desembocadura conforma un estuario tipo *lagoon*, que recibe aportes fluviales muy restringidos a causa de una presa corriente arriba y que se encuentra en un avanzado estado de rellenado. Su prisma mareal ha decrecido durante el Holoceno, causando inestabilidad y obstrucción de antiguas ensenadas y transformando la cadena de islas barrera en una gran lengua de arena, denominada *El Rompido* o *Nueva Umbria*, generada por la fuerte deriva litoral del O en un periodo de relativa estabilidad del nivel del mar (Morales *et al.*, 2001; Ruiz, 2001). La dinámica de sedimentación se encuentra controlada por la interacción de las corrientes de refluo y el oleaje dominante del SO (Fig. 3.3). El principal aporte de sedimentos se debe a las intensas corrientes O-E a lo largo de la costa, que

transportan material arenoso procedente de los acantilados portugueses y del río Guadiana (Morales *et al.*, 2001). El estuario del río Piedras, como el del Guadiana, presenta bajos niveles de metales pesados en sus aguas superficiales (A.M.A., 1994), puesto que los ríos surgen de materiales del Paleozoico, a partir de rocas no mineralizadas. De esta forma, sólo algunas zonas de producción agrícola extensiva y próximas al puerto localizado en el dominio marino del estuario (Fig. 3.4) son potenciales fuentes de contaminantes y podrían afectar la calidad de las aguas profundas (Ruiz, 2001).

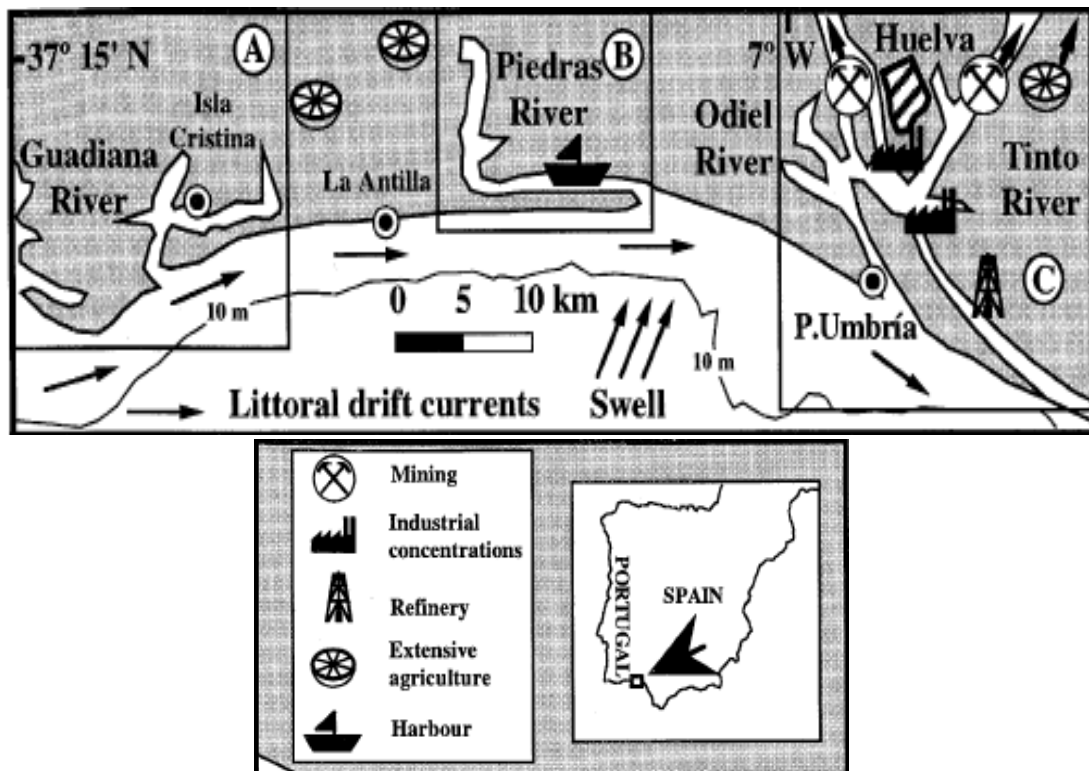


Figura 3.4.- Localización de las principales actividades antrópicas desarrolladas en los sistemas fluviales-estuarinos de los ríos Guadiana (A), Piedras (B) y Tinto-Odiel (C) (Ruiz, 2001).

Los ríos Tinto y Odiel, situados al NE de la zona de estudio (Fig. 3.1), constituyen un sistema estuarino conjunto conocido como Ría de Huelva, de gran importancia histórica e interés ambiental por ser uno de los sistemas fluvio-estuarinos más contaminados del mundo (Ruiz *et al.*, 1998; Elbaz-Poulichet *et al.*, 1999 b). El estuario del río Odiel se conforma sobre un sistema de barras arenosas (Fairbridge, 1980), que cierran la desembocadura y dan lugar en las áreas internas a llanuras mareales y marismas saladas sobre cuerpos estuarinos de acreción de origen fluvio-mareal (Borrego *et al.*, 1999; López-González *et al.*, 2006). El Odiel se encuentra con

el Tinto en su desembocadura, compartiendo ambos el principal canal de acceso a la misma: El Canal del Padre Santo (Borrego *et al.*, 2002). El río Tinto, cuya cabecera se encuentra en un área de intensa actividad minera, supone un aporte al sistema caracterizado por aguas de mala calidad, con bajos valores de pH (3-5) y grandes cantidades de metales pesados disueltos (Elbaz-Poulichet *et al.*, 1999 b; Grande *et al.*, 2000). Su estuario se caracteriza por el desarrollo de sistemas de meandros y canales trenzados de grava, arena y fango, con grava terrígena limitada por la parte superior y una modesta llanura de inundación. Los canales mareales están formados por típicos afloramientos de lechos de arena y fango, concentrados en los márgenes y en las zonas intermareales inferiores (Davis *et al.*, 2000).



Figura 3.5.- Fotografía aérea de las balsas de fosfoyesos emplazadas en el margen derecho del río Tinto.

Las cuencas de drenaje de los ríos Tinto y Odiel descansan principalmente sobre los depósitos sulfurosos de la Faja Pirítica Ibérica, explotados desde antiguo (Davis *et al.*, 2000; Leblanc *et al.*, 2000). En los últimos 150 años se ha llevado a cabo una intensa actividad minera de extracción de pirita y otros concentrados minerales, con fines comerciales (Borrego *et al.*, 2002). Los cambios naturales sufridos por estas masas sulfurosas, así como la propia actividad minera asociada, han causado una contaminación de edad antigua en los sedimentos de los ríos Tinto y Odiel, que contienen altas concentraciones de metales pesados (Nelson y Lamothe 1993; Braungardt *et al.*, 1998) por acumulación de sedimentos enriquecidos en los mismos

(Elbaz-Poulichet *et al.*, 1999 a; Leblanc *et al.*, 2000). A la descarga de aguas ácidas y ricas en metales pesados procedentes de la actividad minera, hay que añadir el significativo impacto del desarrollo industrial llevado a cabo en la ciudad de Huelva desde 1967 (Davis *et al.*, 2000), que hacen de este sistema uno de los complejos fluvio-estuarinos más contaminados del O de Europa (Ruiz *et al.*, 1998; Elbaz-Poulichet *et al.*, 1999 b). Toda la actividad desarrollada en el complejo industrial situado en la base central del estuario (Fig. 3.4) conlleva una importante producción de escorias y vertidos contaminantes, tales como metales pesados, partículas en suspensión, fosfoyesos (Fig. 3.5) y otros nutrientes, que van a parar a aguas y sedimentos (Elbaz-Poulichet *et al.*, 1999 a; Grande *et al.*, 2000). La distribución de los sedimentos está directamente controlada por la dirección de las contribuciones fluviales, las corrientes mareales y la localización de las descargas en el estuario. Estos elementos originan una variación espacial en las características geoquímicas de los sedimentos del estuario (Borrego *et al.*, 2002).

3.3. Características de la plataforma continental del Golfo de Cádiz

La plataforma continental interna se encuentra dominada por depósitos terrígenos de tipo arenoso (Fig. 3.6) hasta profundidades de aproximadamente 25 m (González *et al.* 2006), particularmente en las áreas próximas a la línea de costa (Moita, 1986; Fernández Salas *et al.*, 1999). La cuña prodeltaica del estuario del Guadiana presenta franjas de fangos arenosos y limos de tamaños muy finos ($8 \phi = 2 \mu\text{m}$) y sedimentos arenosos dominados por bioclastos, que constituyen un área de aproximadamente 60 km² (Fernández Salas *et al.*, 1999). En los alrededores de la desembocadura del Guadiana se encuentran en grandes cantidades componentes terrígenos distintos del cuarzo, que son menos abundantes en los demás estuarios (González *et al.*, 2006). La franja comprendida entre los 25 y 30 m de profundidad está formada fundamentalmente por arenas y fangos arenosos, con algunos afloramientos rocosos de extensión reducida y probable edad holocénica (Rey y Medialdea, 1989; Fernández Salas *et al.*, 1999) y cantidades variables de gravas terrígenas. La transición entre la plataforma interna y media se caracteriza por la presencia de terrazas pronunciadas, con finas coberturas de sedimentos de arenas y gravas en la parte superior y fangos hacia la parte inferior (González *et al.*, 2006). La plataforma media está constituida por un extenso cinturón fangoso, formado por materiales arcillosos (Nelson *et al.*, 1999), junto con una escasa fracción arenosa de naturaleza comúnmente bioclástica, de moluscos y foraminíferos (González *et al.*, 2006).

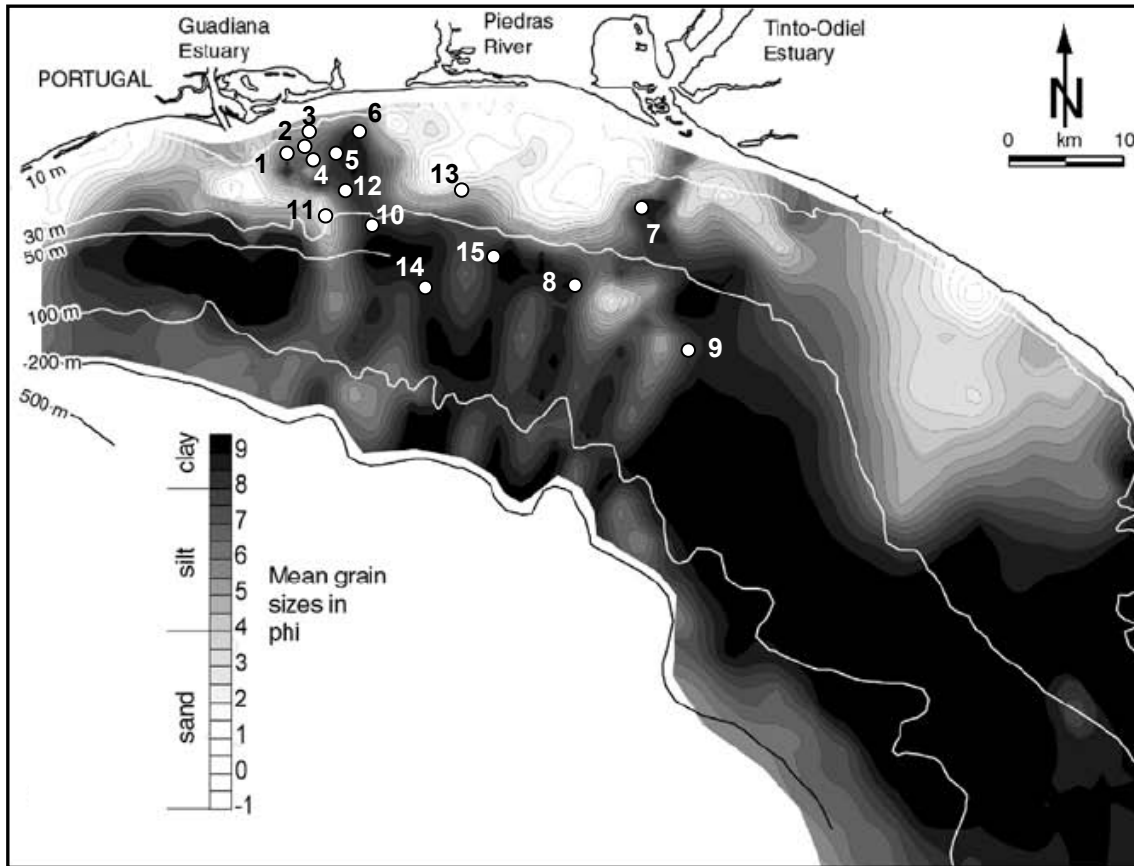


Figura 3.6.- Caracterización sedimentológica de la plataforma del Golfo de Cádiz a partir de la distribución del tamaño medio de grano (González *et al.*, 2006).

El aporte de los sedimentos de esta zona proviene de dos fuentes principales. Por un lado, a pesar de que el Guadalquivir constituye la mayor contribución de sedimentos en la región, el Guadiana se constituye como el suministro más importante (González *et al.*, 2006), debido a que gran parte de los sedimentos generados por la descarga del Guadalquivir son desviados hacia el SE como consecuencia de la influencia de las corrientes superficiales del Atlántico Norte (e.g. Lobo *et al.*, 2004). Así, el Guadiana aporta a la plataforma continental una cantidad media estimada, entre 1946 y 1990, en $57,90 \cdot 10^4$ m³/año como descarga en suspensión y $43,96 \cdot 10^4$ m³/año como descarga de fondo (Morales, 1997). La segunda fuente de sedimentos regional proviene de la deriva litoral. En condiciones de oleaje predominante hacia el interior de la línea de costa, se estima una deriva litoral anual neta hacia el E de entre $10 \cdot 10^5$ y $30 \cdot 10^5$ m³/año, principalmente de sedimentos arenosos transportados desde la costa sur portuguesa hacia la parte E del Golfo de Cádiz (González *et al.*, 2001). Parte de los sedimentos con tamaños de grava o arena son atrapados en el sistema estuarino del Guadiana cuando pasan por su desembocadura, mientras que la mayoría permanecen en la plataforma continental interna (González *et al.*, 2006).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	49
4.1. Recogida y preparación de muestras	49
4.2. Caracterización global de los sedimentos	49
4.2.1. Análisis granulométrico	49
4.2.2. Medida del pH y la densidad	51
4.2.3. Determinación del contenido de elementos mayoritarios.....	51
4.2.4. Determinación del contenido de elementos traza	52
4.2.5. Determinación del contenido de Na y Hg.....	53
4.2.6. Análisis mineralógico por Difracción de Rayos X.....	53
4.2.7. Determinación del contenido de materia orgánica oxidable.....	54
4.2.8. Determinación del contenido total de C, N y S.....	55
4.2.9. Determinación de la composición isotópica del ¹³ C y ¹⁵ N	56
4.2.10. Espectrometría de resonancia magnética nuclear de ¹³ C en estado sólido (¹³ C RMN CP MAS)	57
4.3. Fraccionamiento de la materia orgánica sedimentaria	59
4.3.1. Aislamiento y análisis de marcadores moleculares I: lípidos	59
a. Aislamiento: extracción con disolventes orgánicos	59
b. Análisis por Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas (CG/MS).....	60
4.3.2. Aislamiento y análisis de marcadores moleculares II: derivados de la lignina	61
a. Aislamiento: degradación oxidativa con CuO	61
b. Análisis por Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas (CG/MS).....	62
4.3.3. Caracterización de la fracción húmica (ácidos húmicos)	63
a. Aislamiento: extracción alcalina	63
b. Análisis elemental (CNHOS)	64
c. Análisis por Pirólisis <i>Flash</i> -Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas (Py-CG/MS).....	64
d. Espectrometría de resonancia magnética nuclear de ¹³ C en estado sólido (¹³ C RMN CP MAS).....	65
4.3.4. Caracterización de la fracción orgánica refractaria (<i>black carbon</i>)..	66
I. Oxidación térmica	66
a. Método de oxidación térmica directa (CTO).....	66
b. Método de oxidación térmica con pretratamiento químico (GBC).....	67
II. Oxidación química y uso de marcadores moleculares (BPCA)	68

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Recogida y preparación de muestras

Mediante el uso de una draga Shipek (Fig. 4.1), se tomaron 15 muestras de sedimentos marinos, correspondientes a los primeros 20 cm de superficie. Para evitar el contacto con el aire y la consecuente oxidación y contaminación microbiana, las muestras se aislaron y almacenaron congeladas a -18°C . Posteriormente, se secaron a temperatura $\leq 40^{\circ}\text{C}$ con el fin de no alterar la fracción orgánica y se tamizaron a $250\ \mu\text{m}$, reservándose la fracción más fina para llevar a cabo los análisis.



Fig. 4.1.- Draga Shipek utilizada para la toma de muestras de sedimento.

4.2. Caracterización global de los sedimentos

Dentro del estudio geoquímico practicado (Fig. 4.2), la caracterización global de los sedimentos se realizó mediante el análisis conjunto de propiedades (granulometría, pH o densidad) y parámetros físico-químicos, basados en la determinación de elementos mayoritarios y elementos traza, el análisis elemental (C, N y S) e isotópico (^{13}C y ^{15}N) y los estudios mineralógico y espectroscópico de resonancia magnética nuclear (RMN) de los sedimentos.

4.2.1. Análisis granulométrico

El análisis granulométrico de una matriz expresa las proporciones relativas de las distintas partículas minerales inferiores a 2 mm agrupadas por tamaños, tras la destrucción de los agregados. Esto permite definir el tipo textural del sedimento o estimar el grado de disgregación o meteorización de las rocas.

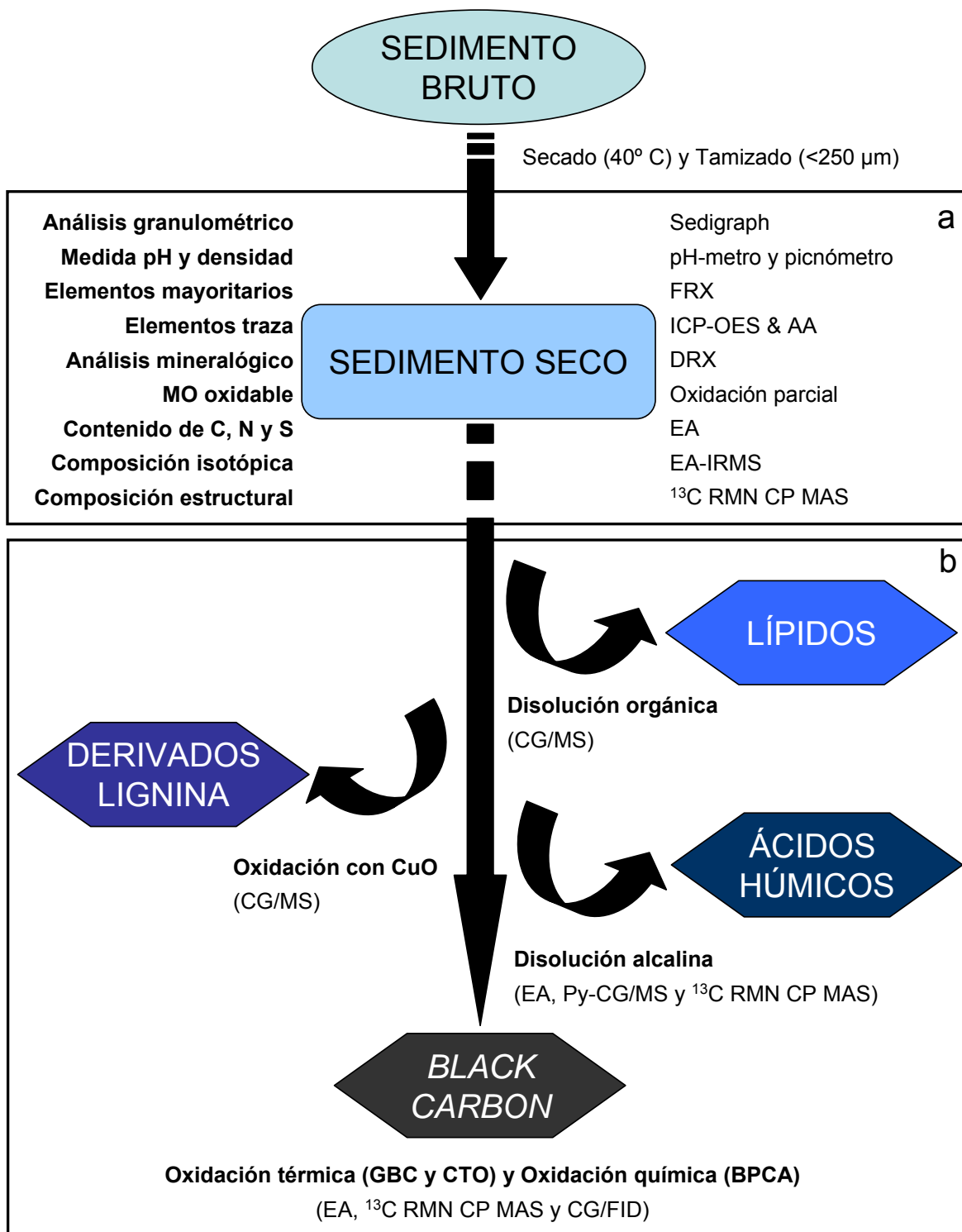


Fig. 4.2.- Esquema general de los tratamientos físico-químicos realizados en la caracterización geoquímica de los sedimentos. ^a Caracterización global de los sedimentos: parámetros y propiedades (negrita, izquierda), técnicas y aparatos (derecha). ^b Fraccionamiento y caracterización geoquímica de la fracción orgánica sedimentaria: método de extracción (negrita, arriba), técnica analítica (abajo). Las abreviaturas de compuestos y técnicas analíticas se describen en el texto.

4.2.2. Medida del pH y de la densidad

El pH expresa la concentración de iones H^+ disociados en la solución del sedimento. Es un factor determinante de las propiedades matriciales del sedimento, que influye en los procesos de adsorción/desorción de contaminantes orgánicos y metales pesados. El pH de los sedimentos se determinó en suspensiones sedimento:solución de KCl (0,1M), en una relación 1:2,5 (P/V). Para ello, se utilizó un pH-metro Crison, modelo Micro pH 2001, calibrado con disoluciones tampón Panreac ST pH $4,00 \pm 0,02$ y $7,02 \pm 0,02$, a $20^\circ C$.

La densidad relativa de las partículas de un suelo o sedimento viene definida como el cociente entre la masa de un determinado volumen de suelo o sedimento a una temperatura dada y la masa del mismo volumen de agua destilada a la misma temperatura. La densidad del material sedimentario se determinó usando un picnómetro marca Pobel (50 ml), midiendo el peso del volumen ocupado por 2 g de sedimento seco y agua destilada. Mediante el completo llenado del picnómetro con agua destilada, se determinó el peso del volumen equivalente de agua a la misma temperatura ($20^\circ C$).

4.2.3. Determinación del contenido de elementos mayoritarios

La cuantificación de los elementos mayoritarios (Si, Al, Ti, Fe, Ca, Mg, K, P y Mn) se llevó a cabo mediante la aplicación de la técnica de Espectroscopia de Fluorescencia de Rayos X (FRX), por dispersión de longitudes de onda con tubo de Rh, en un equipo Panalytical MagiX (Fig. 4.3). Esta técnica se basa en la emisión de rayos X (fluorescencia) por parte de átomos que han absorbido previamente radiación X, produciendo iones excitados electrónicamente, que vuelven a su estado fundamental mediante transiciones que involucran a los electrones de los niveles de mayor energía.

Las muestras se prepararon usando tetraborato de litio ($Li_2B_4O_7$) como fundente, en una perladora Perl'X3 de Panalytical, con horno de inducción y pirómetro óptico. Se emplearon condiciones de fusión (4,3 min a $1200^\circ C$) recomendadas para materiales silicatados y carbonatados. Las muestras fundidas (perlas) se recogieron en un platillo de Pt:Au:Rh, de igual medida que el portamuestras del espectrómetro de FRX, donde se midieron directamente. Se empleó una cantidad de muestra (0,3 g) en

relación a la del fundente (5,5 g $\text{Li}_2\text{B}_4\text{O}_7$, 0,1 g BrLi) que minimizara al máximo el efecto matriz y corrigiera el efecto tamaño de partícula, permitiendo que la señal fuera lo suficientemente intensa para la cuantificación.



Fig. 4.3.- Equipo de FRX utilizado para el análisis de los componentes mayoritarios (Panalytical MagiX).

4.2.4. Determinación del contenido de elementos traza

Para la determinación del contenido de elementos traza de los sedimentos (Ag, As, Ba, Be, Cd, Ce, Co, Cr, Cu, La, Mo, Nb, Ni, Pb, Sb, Sc, V, W, Y y Zn) se empleó la técnica de Espectrofotometría de Emisión Óptica con Plasma Inductivamente Acoplado (ICP-OES). Se trata de una técnica multi-elemental, que permite medir gran cantidad de elementos con una única preparación y que utiliza una fuente de plasma de acoplamiento inductivo para disociar los átomos o iones que constituyen la muestra, excitándolos a un nivel en el que emiten luz de una longitud de onda característica.

Las muestras secas y tamizadas se atacaron en caliente (180°C) con una mezcla de ácidos HF, HNO_3 y HClO_4 concentrados (22M, 14M y 12M, respectivamente) hasta sequedad. El residuo se redisolvió en caliente, añadiendo agua desionizada y HCl 1,2M. En el caso del As se procedió de igual forma, pero el ataque ácido fue con agua regia ($\text{HNO}_3\text{:HCl}$, 1:3). El análisis se realizó en un espectrómetro Thermo Jarrell-Ash (modelo ICAP-61).

4.2.5. Determinación del contenido de Na y Hg

La concentración de Na se determinó mediante Espectrometría de Absorción Atómica (AA) por Emisión con Llama de Acetileno, técnica analítica cuya cuantificación espectrofotométrica se basa en la absorción de luz por parte de los átomos del metal en estado fundamental. Las muestras se atacaron previamente con fundente metaborato de litio (LiBO_2) y calentamiento a 950°C , para asegurar una extracción total. El análisis del residuo disuelto en HCl 1,2M se llevó a cabo en un equipo Varian-FS 220.

La concentración de Hg se determinó siguiendo las recomendaciones de la norma EPA 7471. Según ésta, la muestra se somete a una digestión con agua regia, con posterior tratamiento con permanganato potásico (KMnO_4), para suprimir posibles interferencias de sulfuros. Tras la eliminación del exceso de permanganato, se añade cloruro de estaño (SnCl_2) para reducir las distintas sales de Hg a Hg elemental (Hg^0). El análisis se realizó midiendo la absorbancia a 253,7 nm por Espectrofotometría de AA (Varian-FS 220) mediante la técnica de Vapor Frío. El fundamento de esta técnica consiste en el transporte del Hg^0 , mediante una corriente de Ar, hasta una célula de cuarzo, alineada con la radiación producida por una lámpara de Hg. Los átomos de Hg absorben parte de la radiación y generan una señal dependiente de la concentración de Hg presente en la muestra.

4.2.6. Análisis mineralógico por Difracción de Rayos X.

La Difracción de Rayos X (DRX) permite determinar la composición cualitativa y semicuantitativa de los componentes minerales de una muestra cristalina. La difracción está basada en las interferencias ópticas que se producen cuando una radiación monocromática atraviesa una ranura de espesor comparable a la longitud de onda de la radiación.

Las muestras de sedimento fueron finamente molidas en un mortero de ágata ($74\ \mu\text{m}$) y dispuestas en un portamuestra de Al. El equipo utilizado para las medidas fue un difractómetro Philips Modelo PW1700, con tubo de cobre, monocromador de grafito y rendija automática (Fig. 4.4). Las condiciones de medición del generador de rayos-X fueron de 40 mA y 40 kV, con ánodo de Cu y filtro de Ni, para la longitud de onda α_1 1,54056 y α_2 1,54439. La ventana presentó una abertura de 12 mm y el barrido se realizó para un rango angular comprendido entre 2° y 62° . La identificación de las

fases se realizó por comparación con fichas cristalográficas de la base de datos del software APD de Philips. Los difractogramas se tomaron usando $K\alpha_1$ y $K\alpha_2$ de Cu con una resolución de 0,02 Å, paso de 2s y cubriendo un rango desde 2° hasta 62°.



Fig. 4.4.- Visión interna del equipo de DRX.

Para determinar la composición arcillosa (filosilicatos) de las muestras, se extrajo la fracción inferior a 2 μm , mediante la utilización de calgón (5%) para la dispersión de las partículas coloidales de la arcilla. La distribución de alícuotas dispersas en portamuestras, en forma de *agregados orientados*, favorece la orientación de los filosilicatos según el plano (001) y elimina los minerales no arcillosos, que producen reflexiones en todos los planos (hkl). Las condiciones empleadas para el análisis de los filosilicatos fueron idénticas a las descritas anteriormente, excepto las de los ángulos de barrido, que en este caso variaron entre 2° y 32° (2 θ).

4.2.7. Determinación del contenido de materia orgánica oxidable.

Para la determinación del contenido de MO oxidable (MO_{ox}) se empleó el método de oxidación parcial de las muestras con $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 1M en medio ácido. El contenido de C orgánico se calculó valorando el exceso de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ con $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ 0,5M (sal de Mohr) utilizando difenilamina como reactivo indicador (Walkley y Black, 1934). Para ello, se introdujo la muestra pulverizada (1 g) en un

matraz erlenmeyer de 500 ml, se añadieron 10 ml de una solución de $K_2Cr_2O_7$ 1M con agitación y 20 ml de H_2SO_4 concentrado. Se dejó en reposo durante 30 minutos y se añadieron 200 ml de H_2O , permitiendo que la mezcla de reacción alcanzara temperatura ambiente. Tras añadir 10 ml de H_3PO_4 y 1 ml de difenilamina, se procedió a la valoración del exceso de dicromato no reducido mediante la solución de sal de Mohr ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$) 0,5M. Paralelamente, se analizaron blancos y el porcentaje de C orgánico se calculó mediante la fórmula I:

$$C (\%) = [(V_b - V_m) \times 3,90] / V_{bt} \quad (I)$$

Donde V_b y V_m son el volumen en ml de sal de Mohr añadido al blanco y a la muestra de suelo, respectivamente y V_{bt} el volumen del blanco teórico (20 ml). El C orgánico se puede expresar como MO_{ox} multiplicando su valor por el factor 1,724 propuesto por Walkley (1947).

4.2.8. Determinación del contenido de C, N y S

La técnica de análisis elemental (*Elemental Analysis*: EA) se basa en la oxidación total de la muestra por combustión instantánea y completa, transformándola en productos de combustión (CO_2 , N_2 y SO_2) en presencia de O_2 . Éstos son arrastrados mediante un gas portador (He) hasta el equipo de detección correspondiente (sensores de infrarrojos o detector de conductividad térmica).

La determinación del contenido de CT y NT se realizó a partir de las muestras de sedimento seco, mediante la combustión de 30 mg de muestra en cápsulas de plata, usando un analizador elemental Eurovector, con cromatografía de gases y detector de conductividad térmica. Para la estimación del contenido de COT, se analizó otra tanda de muestras previamente tratadas con HCl 3M para eliminar los carbonatos. El contenido de CIT se obtuvo por diferencia de la medida de CT y COT (Nieuwenhuize *et al.*, 1994).

La determinación del contenido ST se llevó a cabo mediante la combustión de 120 mg de muestra, con ayuda de 2 g de W y 0,7 g de Fe como aceleradores, en cápsulas de porcelana. Las medidas de los gases de combustión (SO_2) generados en

un horno de inducción, se registró a través de detectores de absorción infrarroja en estado sólido, de un analizador elemental ELTRA (modelo CS-800; Fig. 4.5).



Fig. 4.5.- Equipo de análisis elemental ELTRA CS-800.

4.2.9. Determinación de la composición isotópica del ^{13}C y ^{15}N

La abundancia isotópica de un elemento representa la medida de sus razones isotópicas en un determinado compuesto. Los diferentes isótopos de dicho elemento se separan según sus diferentes masas en un campo magnético generado en un espectrómetro de masas.

La determinación del contenido isotópico de ^{13}C se realizó sobre muestras de sedimento previamente tratadas con HCl. Se pesaron alícuotas de las muestras descarbonatadas y se sometieron a la combustión a 1050°C del C orgánico, para determinar el CO_2 generado y compararlo con un gas precalibrado de referencia (CO_2) en un analizador elemental Eurovector (EuroEA-3000), asociado a un Espectrómetro de Masas de Relación Isotópica (*Isotopic Ratio Mass Spectrometry: IRMS*) Isoprime de Finnigan. Los resultados se expresaron, de acuerdo con la expresión I de la sección 1.5.1, como valores $\delta^{13}\text{C}$ relativos al estándar de caliza *Pee Dee Belemnite* en partes por mil (‰).

La relación isotópica del ^{15}N se determinó a partir de muestras de sedimento sin tratar, por combustión *flash* del NT a N_2 , a 1020°C , y detección en un analizador elemental Carlo Erba 1108, acoplado a un IRMS Micromass CF-ISOCHROM (VG Instruments). La medida se expresó como $\delta^{15}\text{N}$ (expresión I, sección 1.5.1), relativa a un gas estándar (99,99% N_2 puro), calibrado con estándares IAEA N-1 y N-2.

4.2.10. Espectrometría de resonancia magnética nuclear de ^{13}C en estado sólido (CP MAS ^{13}C RMN)

La espectroscopía de RMN de ^{13}C proporciona información sobre la estructura y la proporción relativa de las diferentes unidades estructurales de la MO. La aplicación de la técnica “polarización cruzada” (*Cross Polarization: CP*) y “rotación en ángulo mágico” (*Magic Angle Spinning: MAS*) a la RMN de ^{13}C en estado sólido permite obtener espectros de alta resolución en tiempos de adquisición razonables (Tinoco, 2000). A pesar de que la CP MAS ^{13}C RMN se ve limitada por una menor resolución respecto a la espectroscopía de RMN en estado líquido, presenta la gran ventaja de poder ser aplicada al análisis de todo tipo de muestras poco solubles, como suelos completos o fracciones, SH, etc., sin necesidad de ser previamente extraídos con disolventes orgánicos y evitando los problemas de alteración, pérdida de material y extracción selectiva.

La técnica RMN de ^{13}C no sólo se aplicó al conjunto de los sedimentos y AH, sino también a cuatro de las muestras de BC. En el caso de los sedimentos, de forma previa al análisis de RMN, las muestras se sometieron a un tratamiento de concentración de la MO y eliminación del material paramagnético (óxidos de Fe), de acuerdo con el protocolo descrito por Skjemstad *et al.* (1994). Para ello, se tomaron ~ 15 g de muestra previamente descarbonatada (HCl 0,5N) y se agitaron con 50 ml de HF (10%) en botellas de polietileno, durante 12h a temperatura ambiente. Tras centrifugar 10 min a 3.000 rpm, se eliminó el sobrenadante y se repitió el proceso cinco veces. El residuo de sedimento se lavó repetidamente con 40 ml de agua destilada hasta $\text{pH}\sim 7$ y se liofilizó.

Los espectros de RMN de ^{13}C en estado sólido se obtuvieron con un espectrómetro Bruker DSX 200 (Fig. 4.6), operando a una frecuencia de resonancia de ^{13}C de 50,3 MHz y usando rotores de dióxido de circonio de 7 mm de diámetro externo, con tapón KEL-F. La técnica de CP MAS se aplicó durante la rotación del ángulo mágico a 6,8 kHz. El tiempo de contacto fue de 1 ms y el intervalo entre pulsos

de ^1H de 5,3 μs a 90° . Se acumularon entre 3.000 y 10.000 escáneres, usando un pulso de retardo de 400 ms. El desplazamiento químico se calibró respecto al estándar tetrametilsilano (0 ppm), usando glicina (176,08 ppm).



Fig. 4.6.- Equipo de RMN de ^{13}C .

La cuantificación de las estructuras químicas determinadas se realizó mediante la división del espectro en diferentes regiones de desplazamiento químico, de acuerdo con Knicker y Lüdemann (1995): región alquílica (0-45 ppm), región O-alquílica (45-110 ppm), región aromática (110-160 ppm) y región carbonílica (160-245). La distribución relativa del C se determinó por integración de la intensidad de la señal en diferentes regiones de desplazamiento químico mediante una rutina de integración suministrada con el software del instrumento. Las bandas laterales de rotación originadas a ambos lados del patrón, como consecuencia de las condiciones de velocidad de rotación (6,8 kHz), se corrigieron por contener intensidad de señal de las respectivas señales patrón. Así, a la intensidad de la región aromática (110-160 ppm) se le añadió la intensidad de las regiones 245-276 ppm y 0-(-45) ppm y a la región carboxílica (160-245 ppm) se le añadió el doble de la señal de la banda lateral detectada a 276-323 ppm, menos la intensidad de la región alquílica (0-45 ppm) (Knicker *et al.*, 2005).

4.3. Fraccionamiento de la materia orgánica sedimentaria

Tras la caracterización global de los sedimentos, se procedió a la caracterización geoquímica de la fracción orgánica sedimentaria y para ello, se aislaron de forma secuencial distintos componentes orgánicos (lípidos, derivados de la lignina, AH y BC; Fig. 4.2).

4.3.1. Aislamiento y análisis de marcadores moleculares I: lípidos

La fracción lipídica de los sedimentos está constituida por una mezcla heterogénea de un gran número de compuestos que tienen en común su solubilidad en disolventes orgánicos. Dentro de esta fracción se encuentran desde compuestos relativamente sencillos como alcanos y ácidos grasos, hasta sustancias más complejas, como terpenos, ceras, resinas, clorofilas, esteroides, etc.

a. Aislamiento: extracción con disolventes orgánicos

Con el fin de estudiar cualitativamente y semicuantitativamente las principales familias de marcadores moleculares lipídicos, se eligió un disolvente de baja polaridad, que evitara la extracción excesiva de sustancias macromoleculares no volátiles. No se aplicaron pretratamientos hidrolíticos o desmineralizantes de liberación de las fracciones lipídicas fijadas al sedimento, con el objeto de extraer preferentemente las moléculas libres.



Figura 4.7.- Sistema de extracción a reflujo Soxhlet.

Las fracciones de lípidos totales se aislaron por extracción a reflujo de 100 g de muestra contenidos en cartuchos de celulosa, con una mezcla de diclorometano:metanol, en proporción 3:1, durante 16 horas, en un sistema de extracción Soxhlet como el presentado en la Fig. 4.7. El S elemental se eliminó añadiendo virutas de Cu activadas con HCl (2M) a la mezcla de disolventes. El extracto se desecó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró hasta sequedad con una corriente de N₂. Posteriormente se pesó y el resultado se expresó como % del COT de los sedimentos.

Para facilitar el análisis cualitativo de las distintas familias de marcadores moleculares, el extracto de lípidos totales se separó en dos fracciones, denominadas ácida y neutra. Para ello, se saponificó el extracto total por calentamiento a reflujo con 25 ml de KOH al 90% en metanol durante 8 horas, favoreciendo así la formación de sales con los componentes ácidos de los lípidos. Con la fracción ácida en forma de sales disueltas en la disolución caliente, se extrajo la fracción neutra con *n*-hexano y, una vez extraída ésta, se dejó enfriar la disolución y se llevó a pH<1 (HCl), para favorecer la precipitación de las sales y la liberación de los componentes ácidos. De nuevo, se utilizó *n*-hexano para extraer la fracción ácida ya liberada. Ambas fracciones se secaron con flujo de N₂.

b. Análisis por Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas (CG/MS)

Los lípidos, separados en sus dos fracciones ácida y neutra, se analizaron mediante Cromatografía de Gases y Espectrometría de Masas (CG/MS), para el posterior estudio cualitativo y semicuantitativo de las principales familias de lípidos. Esta técnica combina la capacidad separadora de la CG con la información estructural que aporta la MS, resultando un método muy adecuado para el análisis de compuestos volátiles en mezclas complejas. El equipo utilizado fue un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard 5730A acoplado a un detector de masas (Hewlett-Packard GCD), con fuente de ionización por impacto electrónico a 70 eV.

Dada la baja volatilidad y/o escasa separación en columnas de poca polaridad de muchos compuestos orgánicos (ácidos grasos, alcoholes, esteroides, etc), que no pueden analizarse en condiciones óptimas por CG, las muestras fueron derivatizadas de forma previa a su análisis, con el fin de incrementar la volatilidad de sus componentes. Para ello, se utilizaron los siguientes agentes derivatizadores: N,O-bis-

(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA), para la silanización de los grupos hidroxilos de alcoholes, esteroides, etc. y trimetilsilildiazometano (TMSCHN_2), para la metilación de los ácidos alcanoicos, fenoles, alcoholes, enoles y aminas, de acuerdo con el procedimiento descrito por Hashimoto *et al.* (1981).

4.3.2. Aislamiento y análisis de marcadores moleculares II: derivados de la lignina

La lignina es el segundo biopolímero más abundante en la tierra, después de la celulosa (de Leeuw y Largeau, 1993) y constituye uno de los compuestos orgánicos relativamente recalcitrantes producidos por las plantas vasculares. La oxidación alcalina con CuO de las macromoléculas de la lignina produce una serie de compuestos fenólicos indicativos de la fuente y composición de los aportes de MO terrígena en medios marinos (Farella *et al.*, 2001 y referencias citadas).

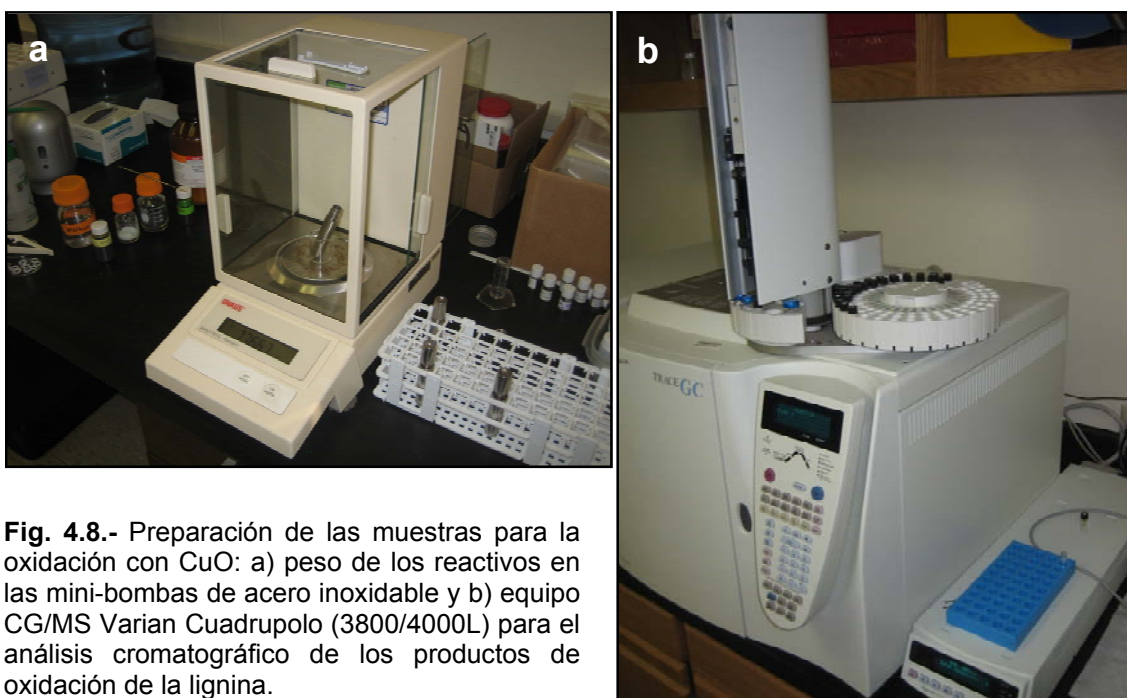


Fig. 4.8.- Preparación de las muestras para la oxidación con CuO : a) peso de los reactivos en las mini-bombas de acero inoxidable y b) equipo CG/MS Varian Cuadrupolo (3800/4000L) para el análisis cromatográfico de los productos de oxidación de la lignina.

a. Aislamiento: degradación oxidativa con CuO

La degradación oxidativa con CuO se llevó a cabo de acuerdo con el método inicialmente desarrollado por Hedges y Ertel (1982) y Goñi y Hedges (1992), con

ligeras modificaciones (Goñi y Montgomery, 2000; Louchouart *et al.*, 2000). Se oxidó bajo condiciones alcalinas (NaOH, 2N) una cantidad de sedimento suficiente para contener 2-4 mg COT, con 330 mg de CuO y 50 mg de $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, a 155° C durante 3 h, en mini-bombas de reacción de acero inoxidable presurizadas (3 ml; Prime Focus Inc.; Fig. 4.8 a). La solución acuosa se acidificó con HCl 6N y se extrajo tres veces con acetato de etilo. Los extractos obtenidos se secaron con Na_2SO_4 y se evaporaron hasta sequedad en un concentrador de solventes LabConco™. Los productos de la reacción con CuO se redisolviaron en un pequeño volumen de piridina (200-500 μl) y se derivatizaron submuestras con BSTFA con un 1% de trimetilclorosilano (TMCS).

b. Análisis por Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas (CG/MS)

La separación y cuantificación de los subproductos de oxidación CuO derivados derivatizados se realizó mediante CG/MS. La CG permite cuantificar en función del área de los picos cromatográficos, utilizando una referencia interna, así como identificar compuestos por su tiempo de retención en comparación con patrones. La MS se basa en la fragmentación a 70 eV de las moléculas en fase gaseosa, generando iones que se separan por un campo electrostático y se cuantifican posteriormente. El equipo utilizado fue un Equipo CG/MS Varian Cuadrupolo (3800/4000L) con fuente de ionización por impacto electrónico a 70 eV, en modo escáner (Fig. 4.8 b). Como fase estacionaria se empleó una columna capilar de sílice fundida (VF 5MS; diámetro interno: 60 m x 0,25 mm; Varian Inc.). Cada muestra fue inyectada en modo splitless, en un liner insertado en el puerto de inyección CG y se utilizó He como gas portador a un flujo de ~1,3 ml/min. La temperatura del horno CG se programó desde 100° C a 300° C a 4° C/min y se mantuvo constante la última temperatura durante 10 min. El inyector CG y la interfase CG/MS se mantuvieron a 300° C.

La identificación de los compuestos se realizó mediante la utilización de los tiempos de retención de columna y por comparación de los espectros obtenidos con espectros estándar suministrados comercialmente. La cuantificación se llevó a cabo utilizando los factores de respuesta relativos ajustados al ácido *trans*-cinámico, como patrón interno. El análisis replicado de sedimentos estándar estuarinos (i.e., NIST SRM 1944; n=12) permitió calcular una precisión analítica media para la mayoría de

los productos de oxidación CuO y parámetros relacionados de ~5%. La desviación estándar media obtenida con las réplicas analíticas de las muestras osciló en 5-10%.

4.3.3. Caracterización de la fracción húmica (ácidos húmicos)

El término AH se aplica indistintamente a todo aquel material presente en suelo, agua y sedimentos, que es soluble en medio alcalino (como SH que son) e insoluble en medio ácido (a diferencia de los AF, que se mantienen en disolución). Se considera un término definido operacionalmente, que no implica funciones y características necesariamente idénticas de los materiales extraídos.

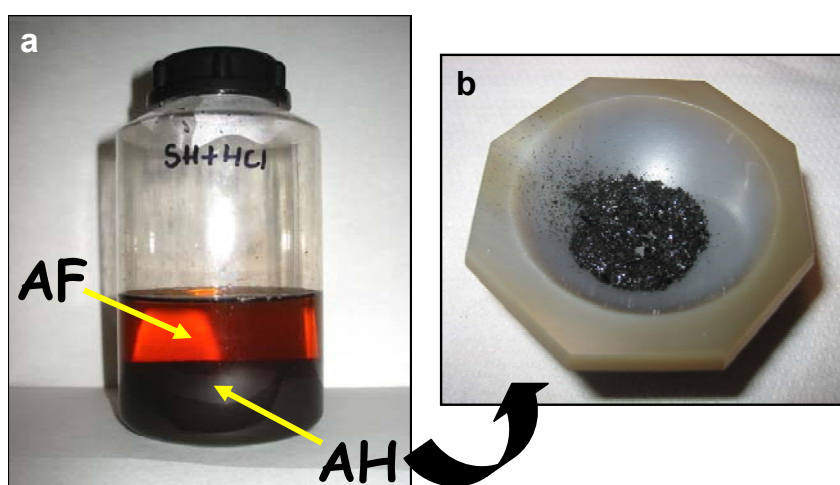


Fig. 4.9.- Proceso de separación de las sustancias húmicas: a) precipitación de ácidos húmicos en condiciones ácidas, b) ácidos húmicos purificados y secos.

a. Aislamiento: extracción alcalina

La extracción de los AH se llevó a cabo mediante un procedimiento convencional (Schnitzer, 1982), basado en la extracción alcalina y purificación en condiciones ácidas. De esta forma, se extrajeron muestras de sedimento libre de lípidos con una solución alcalina de $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,1M y NaOH 0,1M (1:1). Tras agitar durante al menos 8 horas, la solución se centrifugó (15 min/10.000 rpm), para separar el sobrenadante (AH y AF disueltos) de la fracción insoluble en medio alcalino (*humina*). La extracción alcalina se repitió varias veces hasta que el sobrenadante obtenido fue incoloro. Éste se acidificó con HCl concentrado hasta hacer precipitar la fracción de AH y separarla de la de AF (Fig. 4.9 a), mediante centrifugación (15 min/10.000 rpm). Posteriormente, el residuo sólido se redisolvió en NaOH 0,5M, se

agitó y centrifugó para precipitar potenciales impurezas. La solución acuosa fue entonces acidificada hasta $\text{pH} \sim 2$ con una solución 1M de HCl:HF (1:1), con el fin de disolver la fracción mineral de los AH. El residuo libre de minerales se dializó (membranas MWCO 12-14.000 daltons) en agua destilada, para eliminar los cloruros y otras sales formadas durante el tratamiento y se secó a una temperatura inferior o igual a 40°C (Fig. 4.9 b).

b. Análisis elemental (CNHOS)

De acuerdo con el fundamento descrito en el apartado 4.2.8., el contenido de C, N, H y S de los AH se determinó utilizando un equipo analizador elemental LECO CHNS-932. Los resultados se expresaron como porcentaje (%) de la cantidad de AH inicial. Los % de C, H, N y S se obtuvieron por comparación con los correspondientes a una sustancia patrón previamente analizada. El % de O se obtuvo por diferencia respecto a los otros cuatro elementos una vez referidos a muestra libre de cenizas.

El contenido de cenizas es una medida aproximada de la fracción inorgánica presente en los AH. Su determinación es imprescindible para el cálculo, por diferencia, del contenido en O de las muestras a partir de los contenidos de C, H, N y S. Para ello, las muestras de AH se depositaron en crisoles de porcelana previamente tarados, tras calentarlos en un horno mufla a 550°C durante 1 h y dejarlos enfriar en un desecador con gel de sílice hasta temperatura ambiente. Los crisoles, con aproximadamente 100 mg de muestra de AH, se calentaron en el horno mufla a 550°C durante 5 h, tiempo suficiente para producirse la combustión de todo el C orgánico presente en las muestras. Posteriormente, y tras alcanzar la temperatura ambiente en un desecador, se pesaron y se calculó por diferencia el contenido resultante de cenizas, que se utilizó para corregir los resultados del EA de los AH.

c. Análisis por Pirólisis Flash-Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas (Py/CG/MS)

La pirólisis es una técnica degradativa de gran interés para el estudio de las sustancias orgánicas de elevado peso molecular. Esta técnica es capaz de romper no sólo los enlaces de tipo éster y éter, sino también distintas uniones C-C. Se lleva a cabo en condiciones de atmósfera inerte, a elevadas temperaturas ($500\text{-}700^\circ \text{C}$) y durante un corto espacio de tiempo (5-10 s). Las técnicas pirolíticas presentan diversas ventajas respecto a otros métodos degradativos de análisis de

macromoléculas, como una buena reproducibilidad, que necesitan muy poca cantidad de muestra o que no requieren derivatizaciones adicionales ni pretratamientos químicos de la muestra. Muchos de los productos de pirólisis son compuestos de diagnóstico que permiten obtener información sobre la composición del material de partida.

La pirólisis de los AH purificados (1 mg) se realizó en un pirolizador Horizon Instruments con punto de Curie, conectado a un equipo CG/MS Varian Saturn 2000. Las muestras se depositaron en un filamento ferromagnético y se calentaron a la temperatura de Curie (610° C) en tiempo *flash* (20 ms). La interfase pirolizador/CG se mantuvo a 250° C y el tiempo de pirólisis fue de 5 s. El horno de CG se programó de 50 a 100° C, a 32° C/min aumentándose después a 320° C a la velocidad de 6° C/min. El puerto de inyección del CG, conectado a una unidad criogénica de CO₂ líquido, se programó a la temperatura de -30° C (1 min) hasta 300° C a la velocidad de 20° C/min, mientras que la interfase CG/MS se mantuvo a 300° C. Se utilizó una columna capilar de 25 m × 0,32 mm de sílice fundida impregnada con CPSil-5 y He como gas portador con un flujo de 1 ml/min.

Los productos derivados de la pirólisis de los AH fueron identificados a partir de patrones de las librerías de espectros Wiley, NIST (*National Institute of Standards and Technology*) y NBS (*National Bureau of Standards*) o con espectros publicados anteriormente en la bibliografía.

d. Espectrometría de resonancia magnética nuclear de ¹³C en estado sólido (CP MAS ¹³C RMN)

De acuerdo con el procedimiento descrito en el apartado 4.2.10, se aplicó la técnica de espectrometría de RMN de ¹³C CP MAS para el análisis y el estudio de las diferentes unidades estructurales de los AH. A diferencia de los sedimentos, las muestras de AH se analizaron directamente por espectrometría RMN de ¹³C, sin tratamiento químico previo de enriquecimiento y eliminación de materiales paramagnéticos ya que, el propio proceso de aislamiento de AH implicó la utilización de HF.

4.3.4. Caracterización de la fracción orgánica refractaria (*black carbon*)

Dentro del término BC se engloba una amplia gama de productos derivados de la combustión incompleta de combustibles y biomasa vegetal, que abarca desde restos carbonizados de tejidos vegetales, hasta productos de condensación formados por la combustión de gases a altas temperaturas y restos de carbón grafito inerte. Al igual que en el caso de los AH, no existe un modelo estructural único de la macromolécula de BC. Sin embargo y al contrario de lo que ocurre con los AH, tampoco se ha definido a día de hoy una metodología única de aislamiento y determinación de BC, por lo que existe una gran variedad de técnicas, que se agrupan en seis categorías, en función del tipo de las distintas cualidades o propiedades estudiadas (Masiello, 2004 y referencias citadas).

En este trabajo se han utilizado tres métodos distintos para la determinación de la fracción refractaria de los sedimentos, los cuales se basan en la aplicación de dos técnicas distintas: térmica y química, con uso de marcadores moleculares.

I. Oxidación térmica:

El fundamento de esta técnica se basa en el calentamiento de la muestra a alta temperatura (375° C) en presencia de O₂ con el fin de eliminar el C orgánico volátil y aislar así la fracción de C más resistente. Ésta técnica se basa en la mayor resistencia del BC a la oxidación térmica, dada su estructura molecular altamente aromática, y asume la volatilización u oxidación selectiva de todo el C orgánico que no es BC, mediante la selección de condiciones térmicas específicas, consiguiendo aislar el BC como el residuo térmico final. Dada la complejidad de la matriz sedimentaria, rica en minerales y MO de carácter marino, se han aplicado dos métodos distintos de oxidación térmica, basados en a) la combustión directa de las muestras y b) el tratamiento químico de las muestras, de forma previa a la combustión térmica.

a. Método de oxidación térmica directa (CTO)

El método aplicado está basado en la metodología original CTO-375, descrita por Gustafsson *et al.* (2001), e introduce pequeñas modificaciones. Se tomaron alícuotas de 50-100 mg de sedimento seco y finamente molido en crisoles de porcelana de boca ancha (Fig. 4.10) y se sometieron a una combustión térmica (375° C), durante 18h, en atmósfera rica en O₂. Posteriormente, se dejaron enfriar los

residuos de combustión y se trataron con HCl 3M para eliminar los carbonatos. El contenido de BC se determinó por EA del C orgánico residual (analizador elemental Carlo Erba modelo 2400), de acuerdo con la técnica descrita en el apartado 4.2.8) y se denominó con las siglas CTO, de acuerdo con la terminología empleada por Gustafsson *et al.* (1997, 2001) y Gustafsson y Gschwend (1998).

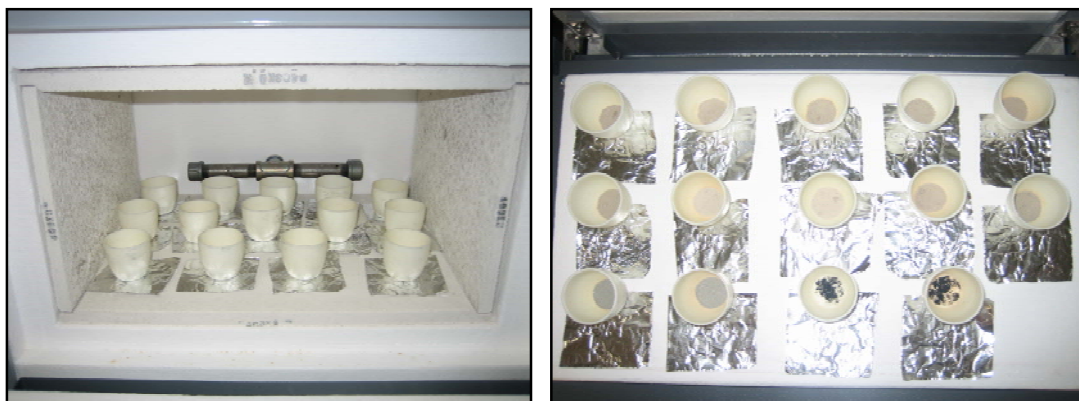


Fig. 4.10.- Crisoles de boca ancha con muestras de sedimento preparadas para el proceso de aislamiento de *black carbon* mediante el método de oxidación térmica directa (CTO).

b. Método de oxidación térmica con pretratamiento químico (GBC)

Esta versión de la oxidación térmica se basa en el mismo fundamento de resistencia térmica del BC, pero añade algunos pasos previos a la combustión, con el fin de optimizar el proceso de aislamiento del BC, de acuerdo con el protocolo descrito por Gélinas *et al.* (2001). Así, de forma previa a la oxidación térmica, las muestras secas y finamente molidas fueron tratadas con HCl 1N (0,5h a 20° C) y HCl 1N + HF 10% (12h a 20° C, dos veces), para disolver y eliminar los carbonatos, silicatos, sales y cubiertas de sesquióxidos presentes en la matriz mineral del sedimento. Para prevenir la formación de minerales de neoformación, se añadió a las muestras una solución de H₃BO₃ y HF 10%, en relación 1:10 (P:V), se agitaron durante 12-18 h y se centrifugaron (20 min a 3.000 rpm) para eliminar el sobrenadante.

Las muestras libres de minerales se trataron sucesivamente con ácido trifluoroacético (TFA) 2N (3h a 100° C, en atmósfera de N₂), TFA 4N (18h a 100° C, en atmósfera de N₂), TFA 6N (18h a 100° C, en atmósfera de N₂) y HCl 6N (24h a 110° C en atmósfera de N₂), con el fin de eliminar la MO hidrolizable (MOH), principalmente compuesta por carbohidratos y proteínas. El incremento paulatino de la concentración

de TFA, seguido del tratamiento con HCl 6N consigue una eliminación selectiva de los azúcares y otras formas de MO fácilmente hidrolizable y evita la formación de materiales similares a la melanoidina, que son potenciales interferentes de la medida de BC (Allard *et al.*, 1998).

Finalmente, las muestras liofilizadas y libres de minerales y MOH se sometieron a una oxidación térmica (375° C) durante 24h, en un horno de mufla, con circulación de aire para asegurar el O₂ suficiente durante toda la reacción. El contenido de BC se determinó por EA del C orgánico del residuo térmico final, enfriado hasta alcanzar la temperatura ambiente. Para la determinación final del BC utilizó un analizador elemental Carlo Erba (modelo 2400), de acuerdo con la técnica descrita en el apartado 4.2.8. y los resultados se expresaron como GBC (Gélinas *et al.*, 2001)

Adicionalmente, la técnica de espectrometría de RMN de ¹³C CP MAS se utilizó en la caracterización estructural de algunas muestra de residuo térmico GBC, de acuerdo con el procedimiento descrito en el apartado 4.2.10. Igual que en el caso de los AH, las muestras de GBC se analizaron directamente por espectrometría RMN de ¹³C, sin tratamiento químico previo de enriquecimiento y eliminación de materiales paramagnéticos ya que, el propio proceso de aislamiento de los residuos GBC implicó la utilización de HF.

II. Oxidación química y uso de marcadores moleculares (BPCA)

Esta técnica se basa en la rotura de los núcleos altamente aromáticos de la matriz sedimentaria, mediante oxidación química, para convertir todos los centros policíclicos y aromáticos sustituidos que componen la estructura del BC en ácidos bencenopolicarboxílicos (*benzenepolicarboxylic acids*: BPCA), considerados como marcadores moleculares del BC (Glaser *et al.*, 1998). El procedimiento analítico incluye una digestión previa de las muestras (0,5 g) con 2 ml de TFA (4M), a 170° C, durante 30 min, para eliminar los cationes polivalentes (básicamente Fe³⁺ y Al³⁺) que pueden interferir en la medida final de los BPCA. El residuo recogido por filtración, se somete a una digestión ácida (180° C, 1h) con 2 ml de HNO₃ (65%), en condiciones de alta presión, para oxidar los componentes de BC a BPCA. Los productos de la digestión, recuperados por filtración, se pasaron por una columna de intercambio iónico para eliminar los restos de cationes polivalentes, utilizando una disolución de ácido salicílico (2-hidroxi-ácido bencenocarboxílico, 100µg en 100µl) como estándar interno, para corregir las pérdidas derivadas de la limpieza.

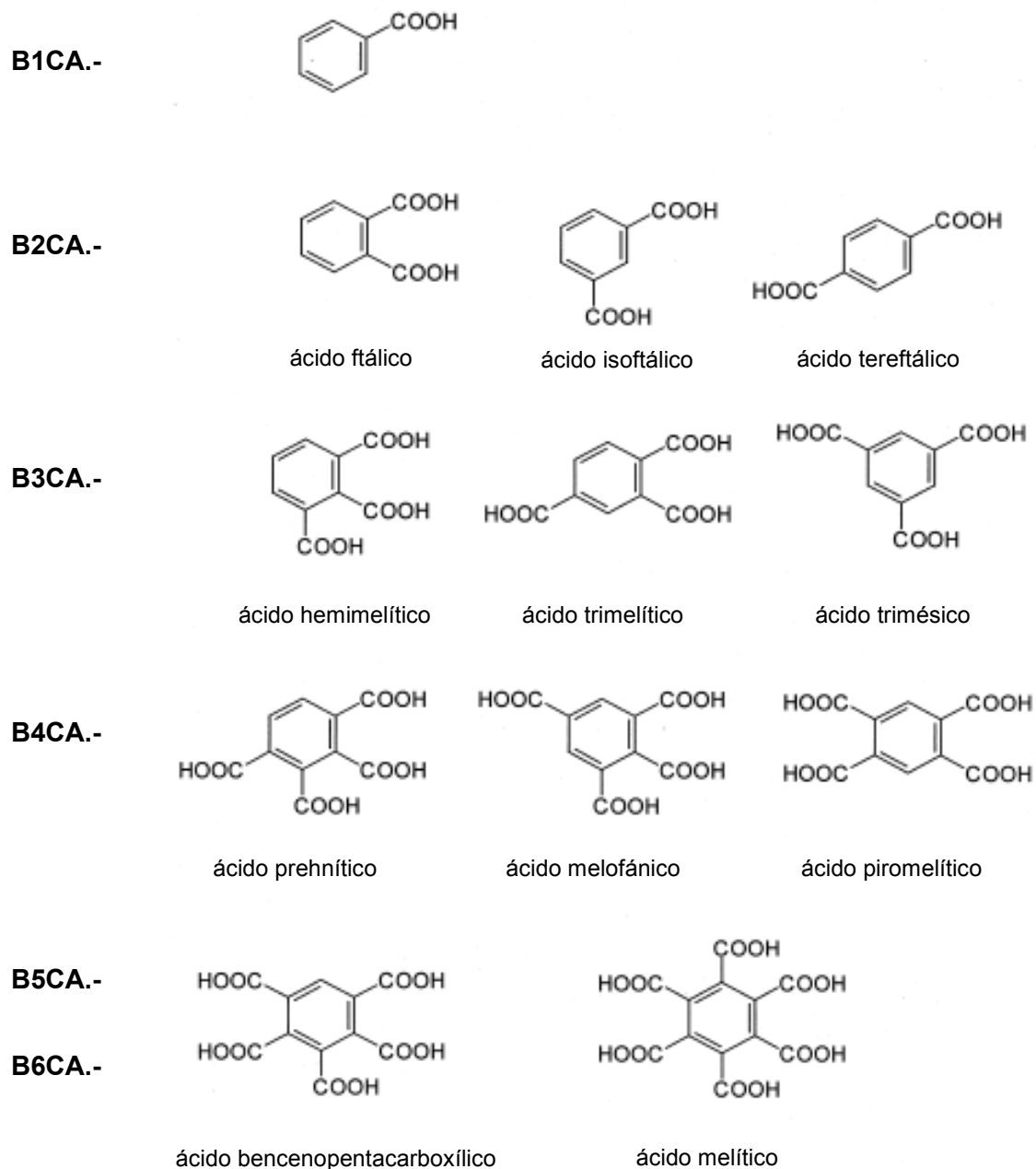


Fig. 4.11.- Estructura química de los ácidos bencenopolicarboxílicos (BPCA). El número en la nomenclatura BnCA indica el número de grupos carboxílicos que tiene el compuesto.

El análisis de los BPCA generados se realizó por CG asociada a un detector de ionización de llama (*Flame Ionization Detector*: FID), tras la derivatización de las muestras con agente BSTFA y catalizador TMCS. El equipo utilizado fue un CG Agilent 6890N, equipado con un sistema FID y una columna DB-5 (30 m x 0,32 mm d.i. y 0,25 μm de grosor de película). Se usó He como gas portador a un flujo constante de 0,8 ml/min. La temperatura del inyector y el detector fue 300° C. Se inyectaron

alícuotas de muestra (2 μ l) en una relación de split 30:1 en un sistema de inyector desactivado provisto de liner silanizado. El programa de temperaturas fue: temperatura inicial de la columna 100° C durante 2 min, seguida de un incremento de 20° C/min hasta 240° C, durante 7 min. A continuación la temperatura se incrementó hasta 300° C a 30° C/min y se mantuvo así durante 10 min (tiempo total: 28 min). Como patrones internos del proceso cromatográfico se utilizaron ácido bifenil-2,2-dicarboxílico y ácido salicílico, disueltos en metanol.

Se prepararon series de estándares para cada análisis en series de 2 a 3 réplicas, usando soluciones estándar de 10, 15, 25, 50, 75 y 100 μ g por vial de BPCA (ácido hemimelítico, ácido trimelítico, ácido trimésico, ácido piromelítico, ácido benceno pentacarboxílico y ácido melítico; Fig. 4.11). El contenido de estándar interno (ácido ftálico) se mantuvo a una concentración constante de 100 μ g en 100 μ l de metanol. Posteriormente, los estándares se secaron completamente y se derivatizaron individualmente como se ha descrito anteriormente. La determinación final de BC se calculó como la concentración total de los BPCA de 3, 4, 5 y 6 grupos carboxílicos (Fig. 4.11), multiplicada por el factor de conversión (2,27) propuesto por Glaser *et al.* (1998).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	71
5.1. Caracterización global de los sedimentos	71
5.1.1. Propiedades físico-químicas	71
5.1.2. Composición elemental	72
5.1.3. Composición isotópica	76
5.2. Geoquímica de los elementos mayoritarios y traza. Composición mineralógica de los sedimentos	79
5.2.1. Distribución de los elementos mayoritarios y mineralogía asociada	79
5.2.2. Elementos traza. Distribución y origen de especies contaminantes	91
5.2.3. Análisis estadístico y significado ambiental	95
5.3. Distribución de las principales familias de marcadores moleculares lipídicos	101
5.3.1. <i>n</i> -Alcanos	103
5.3.2. Fitol y compuestos isoprenoides	110
5.3.3. <i>n</i> -Aldehídos	113
5.3.4. Cetonas alifáticas	117
5.3.5. <i>n</i> -Ácidos alcanoicos	122
5.3.6. <i>n</i> -Ácidos alcanodioicos	128
5.3.7. Ácidos resínicos	131
5.4. Caracterización geoquímica de los ácidos húmicos	133
5.4.1. Análisis elemental de los ácidos húmicos	133
5.4.2. Análisis por pirólisis de los ácidos húmicos	137
5.5. <i>Distribution of the lignin oxidation products</i>	155
5.5.1. <i>Description of lignin parameters</i>	155
5.5.2. <i>Compositional characteristics of the sediments</i>	157
5.5.3. <i>Qualitative characterization of lignin sources</i>	161
5.5.4. <i>Diagenetic state of the bulk sediments and the humic acids</i>	164
5.5.5. <i>Abundance of terrestrial organic matter within the Gulf of Cádiz sedimentary record</i>	170
5.6. Caracterización de la fracción orgánica refractaria: <i>black carbon</i>	175
5.6.1. Estimación del <i>black carbon</i> mediante oxidación térmica	176
5.6.2. Estimación del <i>black carbon</i> mediante el uso de BPCA como marcadores moleculares	181
5.6.3. Comparación de la medida de <i>black carbon</i> con ambas técnicas .	184

5.6.4. Composición isotópica de los residuos térmicos de <i>black carbon</i> (GBC)	188
5.7. Análisis por espectroscopía de resonancia magnética nuclear (CP MAS ¹³ C NMR).....	191
5.7.1. Análisis directo de los sedimentos	192
5.7.2. Análisis de los ácidos húmicos	196
5.7.3. Análisis de los residuos térmicos de <i>black carbon</i> (GBC)	198

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

5.1. Caracterización global de los sedimentos.

5.1.1. Propiedades físico-químicas

La composición físico-química de la MOS da una idea de su caracterización geoquímica global. En la Tabla 5.1.1 se describen las principales características de localización y descripción geoquímica de los sedimentos, así como sus distintas fracciones granulométricas. La distribución de la densidad ($2,60 \pm 0,11 \text{ g/cm}^3$) y pH ($7,81 \pm 0,21$) resulta homogénea en el conjunto de los sedimentos, correspondiendo a materiales de carácter neutro o ligeramente alcalino. *De visu*, los sedimentos presentan un aspecto más o menos fangoso, de color gris y ocre oscuro, con cierta estructura arenosa en algunas de las muestras.

Tabla 5.1.1.- Localización y características geoquímicas de los sedimentos. Longitud (O); Latitud (N); Prof.: profundidad (m); Dist.: distancia a costa (km); Dens.: densidad (g/cm^3); fracciones granulométricas ($\text{g}/100 \text{ g}$): Gr, grava ($>2 \text{ mm}$); Ar, arena ($2-0,063 \text{ mm}$); Li, limo ($0,063-0,002 \text{ mm}$); Arc, arcilla (inferior a $0,002 \text{ mm}$).

	Longitud	Latitud	Prof.	Dist.	pH	Dens.	Gr	Ar	Li	Arc
S-1	07° 20,489'	37° 08,458'	13	3,61	7,55	2,76	2	50	33	15
S-2	07° 19,302'	37° 08,267'	16	3,89	7,72	2,35	0	17	54	29
S-3	07° 19,237'	37° 09,393'	12	3,06	7,82	2,62	0	24	42	34
S-4	07° 19,233'	37° 08,160'	16	5,28	8,07	2,59	0	12	54	34
S-5	07° 17,342'	37° 08,356'	17	5,83	7,92	2,63	0	6	56	37
S-6	07° 16,058'	37° 09,815'	15	4,17	8,24	2,70	0	37	43	20
S-7	06° 58,388'	37° 05,546'	20	8,89	7,44	2,72	0	14	50	36
S-8	07° 02,587'	37° 00,616'	46	19,72	7,82	2,63	0	4	54	42
S-9	06° 55,293'	36° 56,698'	53	22,22	7,75	2,53	0	6	51	43
S-10	07° 15,447'	37° 04,010'	42	14,44	7,85	2,56	0	3	52	46
S-11	07° 18,457'	37° 04,349'	36	11,94	7,58	2,50	0	9	52	39
S-12	07° 17,021'	37° 06,079'	27	10,00	7,61	2,50	0	4	53	44
S-13	07° 09,639'	37° 06,240'	22	11,39	8,03	2,74	15	43	24	18
S-14	07° 12,007'	37° 00,316'	66	21,94	7,77	2,53	0	1	55	44
S-15	07° 08,027'	37° 02,131'	42	18,89	7,95	2,60	0	1	54	45

En la Figura 5.1.1 se representa la distribución granulométrica de los sedimentos en un diagrama ternario de los grupos de texturas clásticas como el propuesto por Shephard (1954), en función del contenido relativo de arena ($2-0,063 \text{ mm}$), limo ($0,063-0,002 \text{ mm}$) y arcilla (inferior a $0,002 \text{ mm}$). Se observa una composición textural mixta de los sedimentos, con porcentajes de grava (superiores a 2 mm) despreciables y predominio de las fracciones inferiores a 2 mm , excepto para la muestra S-13 (fracción grava: 15%). El predominio de texturas finas tipo limo-arcillosa

se relaciona con condiciones de baja energía de sedimentación tipo intermareal. De acuerdo con la distribución granulométrica observada en la Fig. 3.6 (González *et al.*, 2004), los sedimentos localizados en las proximidades de la desembocadura del Guadiana muestran tamaños de partícula mayores, que se relacionan con condiciones de mayor energía de sedimentación derivada de la descarga del río Guadiana y las corrientes costeras del SE (Fig. 3.3). Así, los sedimentos pueden clasificarse según su distribución granulométrica en los siguientes grupos estructurales:

- Fracción areno-limosa: S-1.
- Fracción areno-limo-arcillosa: S-3, S-6, S-13.
- Fracción limo-arcillosa: S-2, S-4, S-5, S-7, S-8, S-9, S-10, S-11, S-12, S-14, S15.

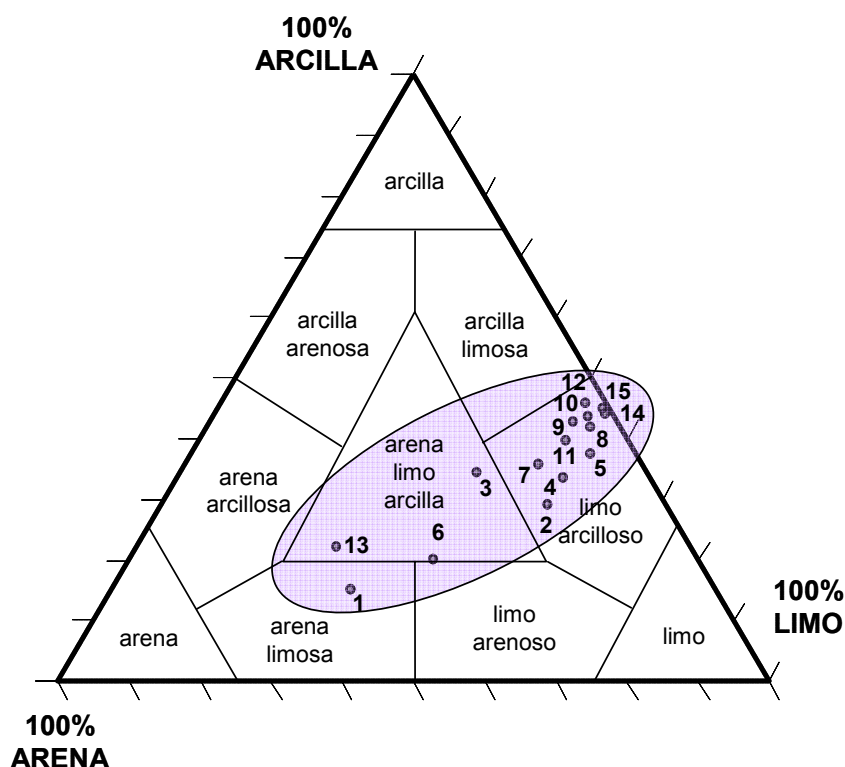


Figura 5.1.1.- Diagrama ternario de los grupos texturales clásticos de los sedimentos, (Shephard, 1954).

5.1.2. Composición elemental

Los contenidos de MO_{ox}, CT, COT, CIT, NT, ST, δ¹³C y δ¹⁵N y las relaciones atómicas C/N y C/S (COT x 12⁻¹ / N x 14⁻¹ y COT x 12⁻¹ / S x 32⁻¹) medidos en los sedimentos están recogidos en la Tabla 5.1.2. En ella se puede ver que la MO_{ox}

representa entre 1,2 y 3,2 g/100 g de la masa sedimentaria, parte de la cual corresponde a COT (27,4-57,9%), mientras que el contenido de CT asciende a $2,31 \pm 0,96$ g/100 g. La fracción inorgánica constituye una parte importante (CIT=0,37-2,91 g/100 g) del CT, especialmente en las muestras más alejadas de la costa (S-7, S-8, S-9, S-13, S-14 y S-15), donde se han determinado las mayores concentraciones de carbonatos (CIT=2,50 \pm 0,26 g/100 g) y la producción de significativa efervescencia durante los tratamientos de desmineralización con HCl (secciones 5.4 y 5.6). Los valores de COT medidos en los sedimentos (0,50 y 1,54 g/100 g) se encuentran dentro de los rangos típicos descritos para sedimentos costeros (Nieuwenhuize *et al.*, 1994; Gélinas *et al.*, 2001; Dickens *et al.*, 2004; Simpson y Hatcher, 2004 b). Así, se han registrado valores de COT en sedimentos marinos del Margen Ibérico del Océano Atlántico que oscilan entre 0,22 y 2,60 g/100 g o en sedimentos del Mediterráneo Oriental que varían entre 0,22 y 0,63 g/100 g (Middelburg *et al.*, 1999). Los contenidos bajos de COT pueden indicar aportes relativamente pobres de material orgánico o bien condiciones de baja preservación del mismo, relacionadas con procesos activos de biodegradación en el tapiz sedimentario. De acuerdo con los resultados discutidos en las secciones 5.2 y 5.3, se puede decir que existen indicios de condiciones de preservación aceptables de la MOS.

Tabla 5.1.2.- Composición elemental e isotópica de los sedimentos. MOox: materia orgánica oxidable (g/100 g); CT: carbono total (g/100 g); COT: carbono orgánico total (g/100 g); CIT: carbono inorgánico total (g/100 g); NT: nitrógeno total (g/100 g); ST: azufre total (g/100 g); C/N y C/S: relación atómica carbono-nitrógeno y carbono-azufre; $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$: composición isotópica de carbono y nitrógeno (‰ relativo al estándar *Vienna Pee-Dee Belemnite* y ‰ relativo al aire, respectivamente).

	MOox	CT	COT	CIT	NT	ST	C/N	C/S	$\delta^{13}\text{C}$		$\delta^{15}\text{N}$	
									sed	hum	sed	hum
S-1	2,79	1,82	1,01	0,81	0,12	0,16	9,8	17,1	-25,9	-31,9	4,9	4,2
S-2	2,44	1,15	0,77	0,38	0,11	0,32	8,2	6,5	-25,3	-25,3	4,9	4,1
S-3	2,19	1,40	0,84	0,56	0,14	0,20	7,0	11,0	-25,5	-24,9	5,8	3,9
S-4	1,82	1,12	0,75	0,37	0,12	0,20	7,3	10,2	-25,5	-25,2	6,1	6,2
S-5	2,99	1,36	0,82	0,54	0,12	0,26	8,0	8,3	-25,7	-25,6	5,2	4,2
S-6	1,18	0,97	0,50	0,47	0,08	0,18	7,3	7,4	-25,1	-25,6	4,0	3,7
S-7	1,85	2,85	0,64	2,21	0,11	0,15	6,8	11,5	-23,0	-15,5	5,2	3,8
S-8	1,85	3,26	0,89	2,37	0,12	0,16	8,7	14,8	-22,8	-22,6	4,6	5,7
S-9	1,61	3,55	0,64	2,91	0,11	0,09	6,8	19,5	-23,0	-22,7	4,8	4,6
S-10	2,62	2,48	0,98	1,50	0,16	0,17	7,1	15,4	-24,4	-17,0	5,4	5,7
S-11	3,16	2,73	1,4	1,33	0,07	0,32	23,3	11,7	-24,9	-24,6	2,9	4,2
S-12	2,59	1,93	1,38	0,55	0,11	0,21	14,6	17,5	-25,5	-25,1	5,7	6,1
S-13	1,24	3,33	0,72	2,61	0,10	0,12	8,4	16,0	-22,6	n.m.	4,9	n.m.
S-14	2,02	3,41	1,12	2,29	n.m.	0,13	n.m.	23,0	-23,1	-24,6	4,4	7,9
S-15	1,58	3,31	0,69	2,62	0,13	0,13	6,2	14,2	-22,8	-17,7	4,8	4,5
Min.	1,18	0,97	0,50	0,37	0,07	0,09	6,2	6,5	-25,9	-31,9	2,91	3,68
Prom.	2,13	2,31	0,88	1,43	0,11	0,19	9,2	13,6	-24,3	-23,4	4,90	4,91
Max.	3,16	3,55	1,40	2,91	0,16	0,32	23,3	23,0	-22,6	-15,5	6,11	7,90
DE	0,62	0,96	0,26	0,97	0,02	0,07	4,6	4,7	1,3	4,2	0,78	1,22

n.m.: no medido; sed: sedimento bruto; hum: sedimento sin fracción mineral, lipídica y húmica.

En lo que respecta al NT, los contenidos estimados en los sedimentos oscilan entre 0,07 y 0,16 g/100 g. Este parámetro está relacionado con la contribución de biomasa acuática, rica en N (González-Vila *et al.*, 2003), aunque el aspecto más relevante de este elemento es la relación atómica C/N, que sirve para distinguir entre los rentes orígenes de la MO. El significado paleoambiental de esta razón y su utilidad como identificador de MO han sido ampliamente utilizados (e.g. Meyers, 1994; Silliman *et al.*, 1996) para distinguir entradas de material de diferentes orígenes en ambientes estuarinos, dado que los organismos marinos autóctonos ricos en material proteínico presentan valores C/N mucho más bajos (4-10) que los presentados por las plantas terrestres ricas en celulosa (superiores o iguales que 20; Kawamura e Ishiwatari, 1981; Uzaki e Ishiwatari, 1986; Meyers, 1994). Así, las relaciones C/N determinadas para los sedimentos (Tabla 5.1.2) sugieren un origen de la MO predominantemente marino, con valores mayoritariamente inferiores a 10 (C/N medio $9,25 \pm 4,56$). Estos valores son similares a los encontrados en sapropeles marinos compuestos por mezcla de restos de plantas vasculares y residuos bacterianos y algales (Meyers, 1994, 1997). De acuerdo con Goñi y Hedges (1995), las relaciones C/N que se encuentran entre 6 y 7 (S-3, S-4, S-6, S-7, S-9, S-10 y S-15) podrían relacionarse con material de tipo planctónico, mientras que aquellas en torno a 8 (S-2, S-5 y S-13) ó 9-10 (S-1 y S-8) podrían indicar la contribución de algas verdes y rojas.

Por otro lado, las relaciones obtenidas para S-11 y S-12 (23,3 y 14,6) sugieren una mayor influencia terrestre, con utilización preferencial del C, frente a una inmovilización bacteriana del N, particularmente evidente en S-11. No es el caso, sin embargo, de las muestras S-1 a S-6, que a pesar de encontrarse más próximas al continente, presentan firmas C/N más indicativas de un origen marino (7,0-9,8). Sin embargo, la degradación selectiva de componentes de la MO durante las fases iniciales de la diagénesis pueden dar lugar a modificaciones de la relación C/N (Meyers, 1997). Así, se han descrito, por ejemplo, reducciones del valor C/N en sedimentos oceánicos (e.g. Müller, 1977), como consecuencia de la absorción de amonio derivada de la descomposición de MO acompañada de remineralización y liberación de C, dando lugar a valores de C/N próximos a 15, mientras que los de las plantas vasculares fuente variaban entre 30 y 40 (Ertel y Edges, 1985). En cualquier caso, la variabilidad de los resultados está relacionada con el carácter mixto del área de influencia fluvial-estuarina, que se caracteriza por recibir aportes mixtos de MO de origen marino y terrestre.

Además, debe tenerse en cuenta la distribución diferencial de las fracciones granulométricas de los sedimentos, que pueden dar lugar a alteraciones de los valores de C/N (Prahl *et al.*, 1994). Así, en los casos en los que existe una importante contribución de la fracción arcillosa, pueden llegar a generarse relaciones C/N especialmente bajas (Müller, 1977), por la adsorción de N inorgánico a través de las elevadas áreas superficiales y elevado número de cargas superficiales negativas que presentan estos minerales (Meyers, 1997). De acuerdo con todo esto, no debe descartarse la posibilidad de que los bajos valores de C/N observados en los sedimentos, particularmente en aquellos más cercanos a costa, pudieran ser el resultado de la importante contribución de la fracción fina en estos sedimentos (Fig. 3.6). De hecho, distintas variables geoquímicas descritas más adelante indican que existe mayor heterogeneidad en la composición de la MOS en el gradiente tierra-mar del derivado del mero análisis de la relación C/N.

Por otra parte, se han registrado bajos niveles de S en los sedimentos ($ST=0,19\pm 0,07$ g/100 g), con elevadas relaciones atómicas C/S (6,48-22,97; Tabla 5.1.2), que se asocian con ambientes anóxicos o subóxicos, como los descritos en sedimentos de áreas de saladar del estuario del río Odiel (~ 7 ; Borrego *et al.*, 1998) o en sedimentos profundos del Estuario del Guadiana (3-26; Polvillo, 2003). La razón C/S ha sido ampliamente utilizada como indicadora de las condiciones ambientales de sedimentación (Borrego *et al.*, 1998), ya que permite discriminar entre ambientes deposicionales óxicos y ambientes anóxicos o subóxicos, en los que se producen condiciones deficitarias de oxígeno tanto en la columna de agua como por debajo de la interfase agua-sedimento (Raiswell y Berner, 1985). En este sentido, los elevados valores C/S detectados en los sedimentos estudiados, sugieren unas condiciones deposicionales anaerobias. Además, hay que destacar la presencia ocasional de restos piríticos autigénicos, en forma de pequeños cristales de caras angulosas sin restos de alteración, observados en los sedimentos durante los tratamientos de aislamiento de la MO refractaria. Estos restos, junto con la detección de compuestos azufrados entre los productos de pirólisis de los AH (ver sección 5.4), apoyan la idea de un ambiente de deposición caracterizado por los bajos niveles de oxígeno, en el que los procesos de sulfato-reducción habrían dominado la incorporación de S en las etapas tempranas de la diagénesis (Hadas *et al.*, 2001). Las dinámicas de rápido enterramiento de los materiales de sedimentación, típicas de las zonas costeras próximas a estuarios y zonas de descarga fluvial, podrían haber favorecido la existencia de condiciones anóxicas o subanóxicas, ralentizando los procesos de degradación bioquímica y favoreciendo la relativa preservación de la MO.

5.1.3. Composición isotópica:

La composición isotópica $\delta^{13}\text{C}$ de los sedimentos se ha estimado que varía entre $-25,93\text{‰}$ y $-22,57\text{‰}$ (Tabla 5.1.2). Esta relación permite diferenciar entre distintas fuentes de MOS de origen marino o continental e identificar la MO procedente de diferentes tipos de plantas terrestres (Meyers, 1997), puesto que refleja principalmente las dinámicas de asimilación de CO durante la fotosíntesis y las composiciones isotópicas de la fuente de C (e.g. Hayes, 1993). A diferencia de la relación C/N ó $\delta^{15}\text{N}$, la composición isotópica $\delta^{13}\text{C}$ no se encuentran significativamente afectada por el tamaño de grano del sedimento o por factores ambientales o deposicionales, de forma que resulta un indicador muy útil para la reconstrucción de fuentes de MOS (Meyers, 1997). En áreas costeras, como la estudiada, la huella isotópica de la MO resulta especialmente compleja, como consecuencia de la contribución biológica mixta que se produce en estos ecosistemas (e.g. Fry *et al.*, 1977). Los valores observados para $\delta^{13}\text{C}$ (Tabla 5.1.2) reflejan composiciones ligeras (entre -24 y -26‰) en sedimentos próximos a la costa, indicativas de cierta influencia continental, mientras que en las muestras más alejadas los valores determinados (entre -20 y -22‰) están más relacionados con los de fuentes típicas marinas (Meyers, 1994). Todo ello determina una cierta transición entre las estaciones con importante contribución terrestre y aquellas con dominante carácter autóctono. (Fig. 5.1.2). De acuerdo con su proximidad a la costa, las muestras S-1, S-2, S-3, S-4, S-5 y S-6 reciben una mayor influencia continental.

Las muestras de sedimento previamente tratadas para eliminar la fracción mineral y la MO hidrolizable (*huminas*) presentan un rango de variación de $\delta^{13}\text{C}$ (Tabla 5.1.2) mayor ($-15,5\text{‰}$ a $-31,9\text{‰}$) que el de los sedimentos. Esto refleja la heterogeneidad en términos isotópicos de los compuestos eliminados en las extracciones secuenciales de las *huminas* (minerales, lípidos, sustancias húmicas). En general, la variación de $\delta^{13}\text{C}$ entre *huminas* y sedimentos brutos es pequeña, sin embargo para las muestras S-1, S-7, S-10 y S-15 las diferencias son considerables ($\delta^{13}\text{C}_{\text{sed}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{hum}} \sim [5,1 \text{ a } 7,5 \text{‰}]$). El contenido isotópico más pobre encontrado entre los sedimentos (S-1: $-25,9\text{‰}$), coincide con el mínimo contenido de la *humina* H-1 ($-31,9\text{‰}$), que presenta un empobrecimiento notable en ^{13}C , respecto del sedimento original ($\delta^{13}\text{C}_{\text{sed}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{hum}} \sim [6\text{‰}]$). La eliminación de compuestos orgánicos de carácter más ligero que el grueso de la MO en términos isotópicos (lípidos, carbohidratos, proteínas, celulosa, etc.), puede suponer una alteración considerable de

la huella isotópica de la MOS, cuando la contribución del material hidrolizable es importante. De acuerdo con Macko *et al.*, (1993), el enriquecimiento general de las *huminas* respecto a los sedimentos brutos es coherente con la eliminación de la MOH empobrecida en ^{13}C .

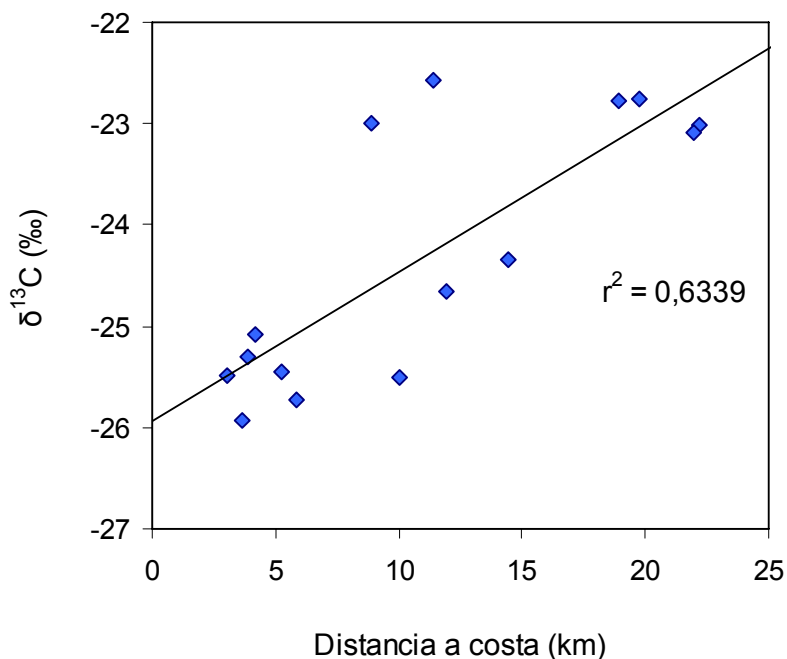


Figura 5.1.2.- Distribución espacial de la composición isotópica $\delta^{13}\text{C}$ de la MO de los sedimentos.

Por su parte, la relación isotópica $\delta^{15}\text{N}$ oscila en los sedimentos entre 2,9‰ y 6,1‰ (Tabla 5.1.2), de acuerdo con los valores descritos por Meyers y Barnasconi (2005) para muestras de sedimentos del Mediterráneo (4 y 5‰) o por Freudenthal *et al.* (2001) para sedimentos marinos del Atlántico Este Subtropical, entre las Islas Canarias y la Costa Marroquí (6,5-7,3‰). La huella isotópica de los sedimentos, denota un cierto enriquecimiento en el isótopo pesado (^{15}N), más aproximado a valores encontrados en plancton (8,6‰), que a los observados en plantas terrestres C3 (0,4‰), (Peterson y Howarth, 1987). Estos resultados podrían indicar, por un lado, una contribución mayoritaria de material marino, en detrimento de material terrestre y, por otro, posibles condiciones de enriquecimiento en nitrato con altos valores de $\delta^{15}\text{N}$, que habrían favorecido la incorporación del isótopo pesado.

La diferencia entre los valores $\delta^{15}\text{N}$ típicos de la MO marina o continental ha sido ampliamente empleada en la estimación de distintas fuentes de MOS. Sin

embargo, aunque esta aplicación es generalmente válida, la relación $\delta^{15}\text{N}$ responde a un rango de factores ambientales y deposicionales más amplio que el de otros indicadores geoquímicos, reflejando múltiples procesos biogeoquímicos que deben ser tenidos en cuenta (Meyers and Bernasconi, 2005). Por ejemplo, en ambientes de deposición subóxicos, como las áreas marinas de influencia estuarina con rápidas tasas de acumulación de sedimentos, los procesos de desnitrificación liberan $^{14}\text{N}_2$, enriqueciendo el nitrato restante en ^{15}N y generando $\delta^{15}\text{N}$ aparentemente más pesados (Ganeshram *et al.*, 2000), como consecuencia del metabolismo bacteriano. De este modo, los contenidos más altos observados en los sedimentos cercanos a la costa (S-1, S-2, S-3, S-4, S-5, S-6), en los que cabría esperar valores inferiores como consecuencia de una mayor influencia terrestre, podrían interpretarse en este sentido. A pesar de la contribución mixta de MO marina y terrestre, el valor medio registrado en los sedimentos ($\delta^{15}\text{N}=4,9 \text{ ‰}$) coincide con los descritos por Meyers y Bernasconi (2005) o por Struck *et al.* (2001) para sedimentos pobres en COT del Mar Mediterráneo (4–5‰ y 4,4‰, respectivamente). Resulta interesante el caso de la muestra S-11 por presentar el valor más bajo de $\delta^{15}\text{N}$ (2,91‰), coincidiendo con la máxima relación C/N (23,3) y los mayores contenidos de COT (1,54%) y la MOox (3,16%), que sugieren una considerable influencia terrestre.

Del mismo modo que sucedía en el caso de $\delta^{13}\text{C}$, el rango de variación de $\delta^{15}\text{N}$ de las *huminas* (3,7-7,9‰) es más amplio que el observado en los sedimentos brutos. Sin embargo, aunque en conjunto las *huminas* se encuentran más enriquecidas en ^{15}N que los sedimentos correspondientes, no existe una tendencia clara a nivel individual. Así, las *huminas* de las muestras S-1, S-2, S-3, S-5, S-6, S-7, S-9 y S-15 presentan $\delta^{15}\text{N}$ inferiores que los sedimentos brutos, posiblemente como resultado del fraccionamiento sufrido durante el la eliminación de compuestos orgánicos enriquecidos y fácilmente degradables, mientras que las *huminas* de las muestras restantes se encuentran enriquecidas en $\delta^{15}\text{N}$, respecto a los sedimentos brutos (Tabla 5.1.2).

5.2 GEOQUÍMICA DE LOS ELEMENTOS MAYORITARIOS Y TRAZA. COMPOSICIÓN MIERALÓGICA DE LOS SEDIMENTOS

5.2.1. Distribución de los elementos mayoritarios y mineralogía asociada

La concentración de elementos mayoritarios de los sedimentos (expresados en forma de los óxidos correspondientes, g/100 g) se encuentra dentro de los rangos publicados para la composición media de la corteza terrestre (Turekian y Wedepohl, 1961 y Pettijohn, 1975) y del *average shale* (Wedepohl, 1971, 1991; Tabla 5.2.1). Así, los contenidos de SiO₂, Al₂O₃, Fe₂O₃, TiO₂, Na₂O, K₂O, MgO y P₂O₅ son muy similares en los sedimentos y en las muestras de referencia (Tabla 5.2.1), mientras los de Na₂O y CaO son ligeramente más abundantes en los primeros (Tabla 5.2.1 y Tabla 5.2.2).

Tabla 5.2.1.- Comparación del contenido de elementos mayoritarios (g/100 g) de los 15 sedimentos estudiados con distintos valores de referencia publicados para la corteza terrestre.

	Average shale^a	Corteza terrestre^b	Corteza terrestre^c	Sedimentos marinos			
				Prom.	Min.	Max.	DE
SiO₂	58,90	-	-	53,75	42,04	67,78	8,65
Al₂O₃	16,70	16,63	15,40	13,20	9,25	16,13	2,06
CaO	2,20	2,24	3,11	6,38	1,73	14,38	4,60
Fe₂O₃	6,90	6,75	4,02	5,80	4,89	6,86	0,68
TiO₂	0,78	0,77	-	0,93	0,60	1,22	0,22
Na₂O	1,60	0,80	1,30	2,47	1,78	2,88	0,33
K₂O	3,60	3,20	3,24	2,22	1,70	2,55	0,32
MgO	2,60	2,49	2,44	1,85	1,28	2,53	0,40
MnO	-	0,12	-	0,06	0,05	0,10	0,01
P₂O₅	0,16	0,16	-	0,12	0,09	0,16	0,02

^a Wedepohl (1971, 1991); ^b Turekian y Wedepohl (1961); ^c Pettijohn (1975). Prom.: promedio; Min.: mínimo; Max.: máximo; DE: desviación estándar.

Estos elementos componen la corteza terrestre de forma mayoritaria (Si, Al, Fe, K, Ca, Mg, Na, Ti, Mn y P, en orden decreciente de abundancia) y conforman los materiales de tipo terrígeno-detrítico, considerados químicamente inertes, excepto por movilización reductora. Sin embargo, la mayoría de ellos se encuentran afectados de una manera u otra por procesos biológicos o de diagénesis y derivan de la contribución de diversas fuentes. Sólo el Al se encuentra poco afectado por estos procesos de alteración, por lo que se le considera el elemento más conveniente para cuantificar la fracción terrígena-detrítica que existe en los sedimentos de ambientes costeros (Brumsack, 2006). Esta cuantificación considera las desviaciones que se producen en la concentración de macroelementos respecto a la composición del *average shale* (Wedepohl, 1971, 1991) y detecta fácilmente cualquier exceso o defecto en la relación entre el elemento en cuestión y el Al. De esta forma, se puede definir el

Tabla 5.2.2.- Composición de elementos mayoritarios, expresados en forma de óxidos (g/100 g), y elementos traza (µg/g) de los sedimentos y del *fondo geoquímico*, H-2C (sedimento recogido a 15 m de profundidad, SO ciudad de Huelva, Fig. 3.1).

	S-1	S-2	S-3	S-4	S-5	S-6	S-7	S-8	S-9	S-10	S-11	S-12	S-13	S-14	S-15	Prom.	DE	DER	H-2C
SiO ₂	67,78	61,18	60,72	62,18	59,20	67,02	51,86	42,41	42,04	48,64	49,68	52,32	49,43	43,09	48,77	53,75	8,65	16,1	
Al ₂ O ₃	12,28	14,64	14,83	13,84	15,49	11,98	9,81	12,07	11,05	14,44	14,54	16,13	9,25	13,18	14,44	13,20	2,06	15,6	12,23
CaO	2,04	1,89	1,93	2,35	1,73	3,00	10,33	12,44	14,38	6,36	6,34	3,13	13,08	10,40	6,33	6,38	4,60	72,0	7,81
Fe ₂ O ₃	5,05	5,96	6,05	5,62	6,13	4,89	5,08	5,64	5,04	6,56	6,56	6,86	4,91	6,08	6,59	5,80	0,68	11,7	5,18
TiO ₂	1,20	1,07	1,09	1,20	1,13	1,22	0,74	0,66	0,60	0,88	0,87	1,01	0,65	0,72	0,88	0,93	0,22	23,7	0,67
Na ₂ O	2,39	2,87	2,59	2,88	2,69	2,41	2,42	2,11	1,78	2,60	2,37	2,83	1,90	2,70	2,45	2,47	0,33	13,5	2,16
K ₂ O	1,80	2,27	2,22	2,05	2,42	1,78	1,79	2,44	2,32	2,48	2,53	2,53	1,70	2,55	2,51	2,22	0,32	14,2	2,29
MgO	1,28	1,48	1,57	1,53	1,55	1,33	1,91	2,42	2,53	2,05	2,05	1,90	1,72	2,36	2,06	1,85	0,40	21,4	1,82
MnO	0,07	0,10	0,08	0,08	0,08	0,06	0,05	0,05	0,05	0,06	0,06	0,06	0,05	0,05	0,06	0,06	0,01	23,1	0,04
P ₂ O ₅	0,09	0,09	0,12	0,12	0,10	0,09	0,16	0,13	0,12	0,14	0,13	0,13	0,13	0,14	0,14	0,12	0,02	17,5	0,10
Ag	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1			<1
As	16	29	22	21	26	20	50	28	20	42	32	42	35	36	38	30	10	32,4	23
Ba	247	329	309	302	338	279	310	263	238	311	330	351	191	294	279	291	43	14,7	248
Be	1,5	2,1	2,2	2,0	2,4	1,6	1,8	2,1	1,8	2,0	2,0	<1	<1	<1	2,0	2	0	25,6	3
Cd	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2			<2
Ce	45	53	51	54	52	54	45	45	37	53	57	63	33	50	47	49	8	15,5	47
Co	17	21	20	20	21	18	16	16	14	15	16	18	9	13	12	16	3	20,9	9
Cr	51	69	70	63	69	52	58	63	62	85	87	94	105	78	75	72	15	21,4	65
Cu	26	43	49	47	50	55	224	61	36	90	91	83	70	62	84	71	47	65,4	15
Hg	0,2	0,5	0,3	0,4	0,4	0,6	0,7	0,3	0,2	0,6	0,6	0,5	0,6	0,5	0,6	0,5	0,2	34,0	<0,1
La	28	33	31	32	30	29	20	18	5	31	32	37	21	31	29	27	8	29,6	26
Mo	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4			<4
Nb	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10			<10
Ni	21	30	30	27	32	21	21	25	25	38	38	44	20	36	35	30	7	25,2	27
Pb	18	29	28	29	31	37	113	61	44	101	83	63	80	73	88	59	30	51,4	35
Sb	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10			<10
Sc	10	13	14	13	14	11	10	10	10	13	14	16	6	13	12	12	2	21,0	10
V	80	104	106	100	109	86	87	100	95	116	118	131	71	113	106	101	16	15,5	89
W	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10			<10
Y	12	14	14	14	14	14	15	12	12	14	14	15	11	13	14	13	1	8,9	13
Zn	120	211	163	156	157	192	379	237	169	224	214	187	184	204	229	202	59	29,1	83

Prom.: promedio; DE: desviación estándar; DER: desviación estándar relativa.

Factor de Enriquecimiento (FE) de un elemento a partir de la siguiente expresión (Brumsack, 2006):

$$FE = (\text{elemento}/Al)_{\text{muestra}} / (\text{elemento}/Al)_{\text{average shale}} \quad (I)$$

El enriquecimiento relativo de un determinado elemento se verá expresado por valores FE superiores a 1, mientras que los elementos empobrecidos darán lugar a FE inferiores a 1. Idealmente, la mayoría de los elementos tendrían FE cercanos a la unidad (Brumsack, 2006). Sin embargo, el uso del *average shale* como parámetro análogo al fondo terrígeno-detrítico conlleva ciertos riesgos ya que, pese a su composición similar en términos generales a la composición de la corteza continental superior (Taylor y McLennan, 1985), el material litogénico puede verse alterado tras su deposición a causa de factores erosivos o de selección de tamaño de grano. De manera particular, los sistemas costeros reciben entradas de material mineral muy específico, con químicas asociadas poco comunes (Brumsack, 2006), de forma que en estos casos es conveniente realizar una valoración del fondo litológico particular de la zona estudiada. Es por ello que en este estudio se ha considerado como *fondo geoquímico* una muestra recogida a 15 m de profundidad del la zona SO de la ciudad de Huelva (H-2C; Fig. 3.1), considerando su contenido de elementos mayoritarios y traza como valores preantrópicos de referencia de la zona. Los FE de los macroelementos y los principales elementos traza de los sedimentos, calculados a partir del *fondo geoquímico* H-2C, se recogen en la Tabla 5.2.3.

El Al, que aparece formando parte de los componentes estructurales de la mayoría de los minerales introducidos por vía fluvial o por fuentes eólicas, es mucho menos abundante en el agua de mar que en los aluminosilicatos (Orians y Bruland, 1986), lo cual permite utilizarlo como parámetro de distinción entre ciertos ambientes. Su presencia en los sedimentos en proporciones semejantes (13,20 g/100 g) a las del *fondo geoquímico* H-2C (12,23 g/100 g; Tabla 5.2.2), con excepción de S-7 y S-13 (9,81 y 9,25 g/100 g, respectivamente), se relaciona con aportes predominantemente fluviales a partir de las fuentes litogénicas de los alrededores (Wehausen y Brumsack, 2002). Además, los coeficientes de correlación de Pearson obtenidos (Tabla 5.2.4) indican la existencia de significativos niveles de correlación positiva (nivel de confianza >99%) del Al₂O₃ con el Fe₂O₃ (0,872), K₂O (0,745), Ce (0,798), La (0,755), Ni (0,842), Sc (0,926), V (0,852) y, en menor medida, Na₂O (0,683) y Ba (0,665), que sugieren asociaciones más o menos fuertes entre estos elementos y los componentes aluminosilicatos (Hoffmann *et al.*, 2001). El CaO, sin embargo, presenta una correlación negativa (-0,716) con el Al₂O₃.

Tabla 5.2.3.- Factores de enriquecimiento antropogénico (FE; Brumsack, 2006) de los elementos mayoritarios y traza en los sedimentos respecto al *fondo geoquímico* H-2C (sedimento recogido a 15 m de profundidad, SO ciudad de Huelva, Mapa 3.1).

	S-1	S-2	S-3	S-4	S-5	S-6	S-7	S-8	S-9	S-10	S-11	S-12	S-13	S-14	S-15	Prom.
CaO	0,3	0,2	0,2	0,3	0,2	0,4	1,7	1,6	2,0	0,7	0,7	0,3	2,2	1,2	0,7	0,8
Fe ₂ O ₃	1,0	1,0	1,0	1,0	0,9	1,0	1,2	1,1	1,1	1,1	1,1	1,0	1,3	1,1	1,1	1,0
TiO ₂	1,8	1,3	1,3	1,6	1,3	1,9	1,4	1,0	1,0	1,1	1,1	1,1	1,3	1,0	1,1	1,3
Na ₂ O	1,1	1,1	1,0	1,2	1,0	1,1	1,4	1,0	0,9	1,0	0,9	1,0	1,2	1,2	1,0	1,1
K ₂ O	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	1,0	1,1	1,1	0,9	0,9	0,8	1,0	1,0	0,9	0,9
MgO	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	1,3	1,3	1,5	0,9	0,9	0,8	1,2	1,2	1,0	1,0
MnO	1,7	2,0	1,8	1,7	1,5	1,6	1,7	1,2	1,3	1,2	1,3	1,2	1,6	1,2	1,2	1,5
P ₂ O ₅	0,9	0,8	1,0	1,0	0,8	0,9	2,0	1,4	1,4	1,2	1,1	1,0	1,8	1,3	1,2	1,2
As	0,7	1,1	0,8	0,8	0,9	0,9	2,7	1,2	1,0	1,5	1,2	1,4	2,0	1,5	1,4	1,3
Ba	1,0	1,1	1,0	1,1	1,1	1,2	1,6	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,0	1,1	1,0	1,1
Be	0,5	0,6	0,6	0,6	0,6	0,5	0,8	0,7	0,7	0,6	0,6	0,3	0,4	0,3	0,6	0,6
Ce	1,0	0,9	0,9	1,0	0,9	1,2	1,2	1,0	0,9	1,0	1,0	1,0	0,9	1,0	0,8	1,0
Co	1,9	1,9	1,9	2,0	1,8	2,0	2,2	1,8	1,8	1,4	1,5	1,5	1,3	1,3	1,1	1,7
Cr	0,8	0,9	0,9	0,9	0,8	0,8	1,1	1,0	1,0	1,1	1,1	1,1	2,1	1,1	1,0	1,1
Cu	1,7	2,4	2,7	2,8	2,6	3,8	18,6	4,1	2,6	5,1	5,1	4,2	6,2	3,8	4,7	4,7
Hg	2,0	4,2	2,5	3,5	3,2	6,1	8,7	3,0	2,2	5,1	5,0	3,8	7,9	4,6	5,1	4,5
La	1,1	1,1	1,0	1,1	0,9	1,1	1,0	0,7	0,2	1,0	1,0	1,1	1,1	1,1	0,9	1,0
Ni	0,8	0,9	0,9	0,9	0,9	0,8	1,0	1,0	1,0	1,2	1,2	1,2	1,0	1,2	1,1	1,0
Pb	0,5	0,7	0,7	0,7	0,7	1,1	4,0	1,8	1,4	2,4	2,0	1,4	3,0	1,9	2,1	1,6
Sc	1,0	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,2	1,0	1,1	1,1	1,2	1,2	0,8	1,2	1,0	1,1
V	0,9	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,2	1,1	1,2	1,1	1,1	1,1	1,1	1,2	1,0	1,1
Y	0,9	0,9	0,9	1,0	0,8	1,1	1,5	0,9	1,0	0,9	0,9	0,9	1,1	0,9	0,9	1,0
Zn	1,4	2,1	1,6	1,7	1,5	2,4	5,7	2,9	2,2	2,3	2,2	1,7	2,9	2,3	2,3	2,3

Prom.: promedio.

Tabla 5.2.4.- Coeficientes de correlación de Pearson (análisis regresión bivariada) entre los elementos mayoritarios, elementos traza, variables geoquímicas (CIT, COT, ST) y composición granulométrica.

	SiO ₂	Al ₂ O ₃	CaO	Fe ₂ O ₃	TiO ₂	Na ₂ O	K ₂ O	MgO	MnO	P ₂ O ₅	As	Ba	Ce	Co	Cr	Cu
SiO ₂																
Al ₂ O ₃	0,199**															
CaO	-0,819**	-0,716**														
Fe ₂ O ₃	-0,201**	0,872**	-0,387**													
TiO ₂	0,908**	0,557**	-0,960**	0,162**												
Na ₂ O	0,461**	0,683**	-0,763**	0,540**	0,652**											
K ₂ O	-0,477**	0,745**	-0,084**	0,858**	-0,098**	0,267**										
MgO	-0,964**	-0,134**	0,761**	0,208**	-0,834**	-0,423**	0,544**									
MnO	0,681**	0,585**	-0,802**	0,247**	0,739**	0,631**	0,089**	-0,654**								
P ₂ O ₅	-0,668**	-0,332**	0,596**	0,111**	-0,684**	-0,162**	0,059**	0,604**	-0,671**							
As	-0,430**	-0,184**	0,324**	0,219**	-0,465**	0,129**	0,015 ^{ns}	0,312**	-0,420**	0,815**						
Ba	0,232**	0,665**	-0,593**	0,616**	0,430**	0,797**	0,416**	-0,157**	0,434**	0,026 ^{ns}	0,282**					
Ce	0,357**	0,798**	-0,736**	0,669**	0,635**	0,791**	0,453**	-0,264**	0,425**	-0,220**	0,009 ^{ns}	0,847**				
Co	0,657**	0,490**	-0,736**	0,117**	0,726**	0,610**	0,040**	-0,527**	0,743**	-0,533**	-0,376**	0,664**	0,615**			
Cr	-0,373**	0,269**	0,106**	0,523**	-0,251**	0,002 ^{ns}	0,360**	0,189**	-0,119**	0,230**	0,323**	-0,023 ^{ns}	0,086**	-0,444**		
Cu	-0,187**	-0,475**	0,326**	-0,190**	-0,369**	-0,029**	-0,363**	0,134**	-0,431**	0,755**	0,821**	0,226**	-0,123**	-0,176**	-0,130**	
Hg	-0,033 ^{ns}	-0,183**	0,055**	0,083**	-0,116**	0,182**	-0,223**	-0,093**	-0,232**	0,484**	0,765**	0,245**	0,133**	-0,297**	0,264**	0,689**
La	0,471**	0,755**	-0,801**	0,658**	0,683**	0,852**	0,303**	-0,490**	0,552**	-0,247**	0,047**	0,634**	0,814**	0,393**	0,321**	-0,202**
Ni	-0,242**	0,842**	-0,334**	0,964**	0,127**	0,519**	0,858**	0,260**	0,153**	0,101**	0,209**	0,602**	0,694**	0,078**	0,566**	-0,220**
Pb	-0,583**	-0,357**	0,544**	0,104**	-0,635**	-0,191**	-0,009 ^{ns}	0,482**	-0,659**	0,892**	0,899**	0,030 ^{ns}	-0,185**	-0,607**	0,292**	0,798**
Sc	0,162**	0,926**	-0,662**	0,826**	0,500**	0,766**	0,703**	-0,063**	0,482**	-0,173**	-0,029 ^{ns}	0,846**	0,896**	0,566**	0,173**	-0,244**
V	-0,230**	0,852**	-0,343**	0,923**	0,147**	0,559**	0,883**	0,301**	0,192**	0,082**	0,155**	0,722**	0,766**	0,277**	0,379**	-0,186**
Y	0,210**	0,309**	-0,402**	0,362**	0,294**	0,627**	0,070**	-0,159**	0,148**	0,360**	0,542**	0,820**	0,605**	0,411**	-0,134**	0,612**
Zn	-0,285**	-0,497**	0,415**	-0,206**	-0,463**	-0,070**	-0,281**	0,250**	-0,410**	0,715**	0,792**	0,185**	-0,176**	-0,182**	-0,225**	0,946**
CIT	-0,806**	-0,611**	0,913**	-0,247**	-0,906**	-0,705**	-0,002 ^{ns}	0,745**	-0,757**	0,646**	0,377**	-0,598**	-0,761**	-0,838**	0,091**	0,332**
COT	-0,241**	0,544**	-0,151**	0,676**	-0,002**	0,278**	0,603**	0,246**	-0,043**	0,100**	0,129**	0,434**	0,569**	0,029 ^{ns}	0,562**	-0,145**
ST	0,423**	0,588**	-0,633**	0,425**	0,516**	0,527**	0,260**	-0,412**	0,698**	-0,443**	-0,151**	0,668**	0,654**	0,652**	0,113**	-0,169**
arena	0,621**	-0,430**	-0,166**	-0,645**	0,324**	-0,250**	-0,797**	-0,692**	0,129**	-0,459**	-0,377**	-0,489**	-0,308**	-0,007 ^{ns}	-0,129**	-0,134**
limo	-0,273**	0,505**	-0,121**	0,546**	0,003 ^{ns}	0,469**	0,682**	0,411**	0,143**	0,172**	0,197**	0,678**	0,510**	0,361**	-0,204**	0,092**
arcilla	-0,686**	0,397**	0,228**	0,656**	-0,391**	0,154**	0,793**	0,758**	-0,253**	0,555**	0,407**	0,415**	0,258**	-0,096**	0,184**	0,158**

(**) Correlación significativa al nivel 0,01; (*) correlación significativa al nivel 0,05; (ns) correlación no significativa (bilateral)

Tabla 5.2.4.- (continuación).

	Hg	La	Ni	Pb	Sc	V	Y	Zn	CIT	COT	ST	arena	limo	arcilla
SiO ₂														
Al ₂ O ₃														
CaO														
Fe ₂ O ₃														
TiO ₂														
Na ₂ O														
K ₂ O														
MgO														
MnO														
P ₂ O ₅														
As														
Ba														
Ce														
Co														
Cr														
Cu														
Hg														
La	0,250**													
Ni	0,070**	0,634**												
Pb	0,737**	-0,177**	0,094**											
Sc	-0,067**	0,731**	0,849**	-0,231**										
V	-0,031 ^{ns}	0,568**	0,955**	0,020 ^{ns}	0,912**									
Y	0,531**	0,417**	0,340**	0,353**	0,539**	0,421**								
Zn	0,650**	-0,285**	-0,260**	0,778**	-0,289**	-0,193**	0,513**							
CIT	0,116**	-0,723**	-0,249**	0,609**	-0,622**	-0,316**	-0,331**	0,420**						
COT	-0,037**	0,492**	0,757**	0,077**	0,611**	0,728**	0,120**	-0,235**	-0,238**					
ST	0,077**	0,601**	0,367**	-0,310**	0,597**	0,431**	0,297**	-0,162**	-0,715**	0,430**				
arena	-0,040**	-0,042**	-0,633**	-0,336**	-0,525**	-0,732**	-0,391**	-0,224**	-0,234**	-0,318**	-0,044**			
limo	0,007 ^{ns}	0,175**	0,524**	0,092**	0,638**	0,691**	0,522**	0,212**	-0,074**	0,220**	0,282**	-0,888**		
arcilla	0,012 ^{ns}	-0,006 ^{ns}	0,658**	0,409**	0,491**	0,734**	0,367**	0,217**	0,310**	0,359**	-0,089**	-0,967**	0,784**	

(**) Correlación significativa al nivel 0,01; (*) correlación significativa al nivel 0,05; (ns) correlación no significativa (bilateral))

Tabla 5.2.5.- Composición mineralógica (DRX) y granulométrica de los sedimentos.

Muestra	Minerales principales	Minerales secundarios	Minerales accesorios y trazas	Fracción arena ^(a) (g/100 g)	Fracción finos ^(b) (g/100 g)
S-1	cuarzo	moscovita,albita	esmectita,calcita,anfíbol	50	48
S-2	cuarzo	albita,moscovita	vermiculit,microclima ⁽¹⁾ ,anfíbol	17	83
S-3	cuarzo	albita,moscovita	vermiculit,microclina,anfíbol	24	76
S-4	cuarzo	albita,moscovita	vermiculit,microcl,anfíbol	12	88
S-5	cuarzo	albita,moscovita	vermiculita,calcita	6	94
S-6	cuarzo	moscovita,albita,calcita	dolomita,anfíbol,caolinita,vermiculita	37	62
S-7	cuarzo	calcita	moscovita,dolomita,esmectita,caolín	14	86
S-8	cuarzo,calcita	dolomita,moscovita	albita,microclina,esmectita/vermiculita,caolinita,anfíbol	4	96
S-9	cuarzo,calcita	albita,microcl,moscov	dolomita,esmectita,caolinita	6	94
S-10	cuarzo	calcita	plagioclasas ⁽²⁾ ,anfíbol,esmectita,mica,caolinita	3	97
S-11	cuarzo	calcita	feldespatos ⁽³⁾ ,esmectita,mica,caolinita	9	91
S-12	cuarzo	-	calcita,aragonito,feldespatos,esmectita,mica,caolinita	4	97
S-13	cuarzo	calcita, plagioclasas	feldespatos potásicos,dolomita,esmectita,caolinita,mica	43	42
S-14	cuarzo,calcita	dolomita	feldespatos,esmectita,caolinita,mica	1	99
S-15	cuarzo,calcita	feldespatos,dolomita	esmectita,caolinita,mica	1	99

^(a) 2-0,063 mm; ^(b) fracción limo (0,063-0,002 mm) + fracción arcilla (<0,002 mm). ⁽¹⁾ El término microclina se refiere a los feldespatos potásicos; ⁽²⁾ el término plagioclasas se refiere a los feldespatos calcosódicos (albita y anortita); ⁽³⁾ el término feldespatos incluye tanto los potásicos, como los sódicos y los cálcicos.

Los contenidos de SiO₂ oscilan entre 42,04 y 67,78 g/100 g (Tabla 5.2.2), encontrándose, en general, los valores más elevados en los sedimentos con mayor contenido de arenas (Tabla 5.2.5). El Si forma parte de las láminas estructurales de los minerales de la arcilla, feldespatos y cuarzos, aunque también constituye un importante componente de contribuciones biogénicas de diatomeas y radiolarios, que se acumulan en los sedimentos en forma de ópalo amorfo (Brumsack, 2006). La composición mineralógica de los sedimentos (Tabla 5.2.5) refleja un claro predominio del cuarzo, feldespatos y minerales de la arcilla, con ausencia total de ópalo, por lo que cabe descartar la contribución biogénica en el contenido de sílice de los sedimentos. De acuerdo con distintos autores (e.g. Vine y Tourtelot, 1970; Wehausen y Brumsack, 2002), el origen de ciertos elementos (Si, Al, Ti, Na y K) se considera fundamentalmente detrítico. Concretamente, la presencia de Si, Ti, Na, K, Cr y Y se relaciona con fuentes litogénicas (Wehausen y Brumsack, 2002), encontrándose el Si y Ti típicamente presentes en minerales de la fracción limosa (e.g. cuarzo) o en sedimentos tipo *loess* (Schnetger, 1992). Esto hace que estos dos elementos se encuentren enriquecidos en el polvo eólico (Ganor *et al.*, 1991), por lo que se les considera indicativos de una fuerte contribución eólica en los sedimentos marinos (Wehausen y Brumsack, 1999). Al igual que para el SiO₂, los mayores contenidos de TiO₂ también se observan en las muestras S-1 a S-6. Este elemento se encuentra formando parte de filosilicatos y feldespatos, aunque a menudo también está presente en minerales pesados como el rutilo (Brumsack, 2006), siendo muy frecuentes en los sedimentos de la costa adyacente al estuario de los ríos Tinto y Odiel (IGME, 1974; Fernández-Caliani *et al.*, 1997). Sin embargo, en los sedimentos estudiados no se ha encontrado rutilo (Tabla 5.2.5), por lo que la presencia de Ti no parece estar relacionada con esta forma mineral.

La fuerte correlación positiva (>99%) existente entre el SiO₂ y el TiO₂ (0,908; Tabla 5.2.4) pone de manifiesto la asociación que existe entre ambos elementos de naturaleza detrítica. Por el contrario, correlaciones negativa del SiO₂ con el CaO (-0,819), MgO (-0,964) y CIT(-0,806) indican una relación inversa entre las fases carbonatadas y los minerales terrestres-detríticos, derivados de las cuencas de captación fluviales y de la erosión costera (Galán *et al.*, 2003).

La relación entre el SiO₂ y el Al₂O₃ (SiO₂/Al₂O₃) proporciona una estimación de la madurez textural de los sedimentos, debido al enriquecimiento relativo de filosilicatos ricos en Al que se dan en los sedimentos de granulometría fina, en detrimento de las fases ricas en Si (Weltje y Eynatten, 2004). La disminución de la

razón $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ que se observa entre los sedimentos (Fig. 5.2.1) está relacionada con el descenso del tamaño de grano o de su madurez textural (López-González *et al.*, 2006). De hecho, los sedimentos con mayor porcentaje de fracción arenosa (S-1, S-2, S-3, S-4, S-6, S-7, S-13; Tabla 5.2.5) son los que presentan mayores valores de la relación $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ (4,09-5,59), indicando una mayor madurez textural o un mayor aporte de materiales detríticos de granulometría arenosa, más resistente a la alteración.

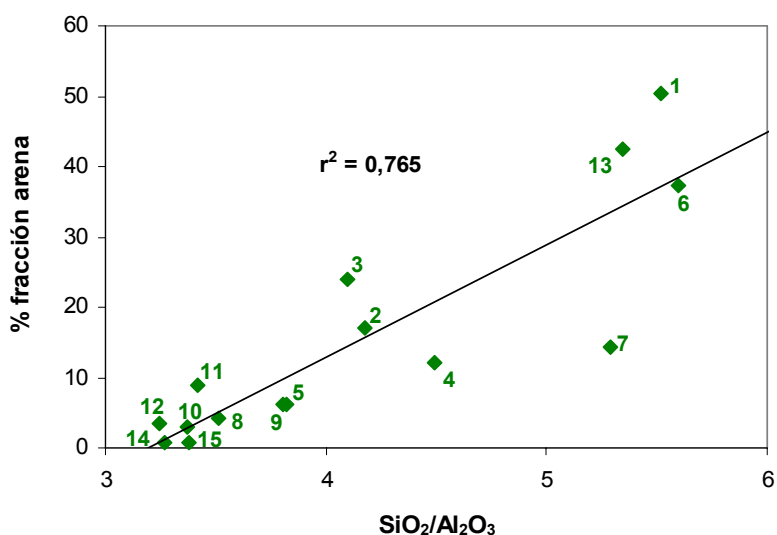


Figura 5.2.1.- Correlación la razón $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ con la proporción de fracción arena de los sedimentos.

El Ca, y en mucha menor medida el Mg, se encuentra en los medios marinos formando parte de caparzones carbonatados (Brumsack, 2006) relacionados con restos faunísticos de organismos secretores (foraminíferos planctónicos, coccolitofóridos, pterópodos, etc.; Chester, 2000), de modo que no resulta extraño que los sedimentos estudiados presenten contenidos de CaO (1,73-14,38 g/100 g) superiores a los publicados para la corteza terrestre o el *average shale* (2,20-3,11 g/100 g, Tabla 5.2.1). Sin embargo, la presencia de estos minerales también puede estar relacionada con procesos de lavado y disolución de los carbonatos de las rocas expuestas en las cuencas de drenaje de los ríos contribuyentes (Galán *et al.*, 1999), como las fases de dolomías, margas y calizas dolomíticas atravesadas por el Guadiana en las proximidades a su desembocadura (Fig. 3.2). Los análisis de DRX indican presencia de calcita, dolomita y aragonito, como componentes principales y secundarios en algunos sedimentos (Tabla 5.2.5), en los que se detectan los mayores contenidos de CaO (Tabla 5.2.2), relacionados con restos de conchas marinas.

La buena correlación ($r^2=0,85$) observada entre el CaO y el CIT (Fig. 5.2.2), justifica la asociación del contenido de carbonatos y el CaO medido por FRX. Además,

el punto de corte de la recta de regresión (eje Y=0,28 g/100 g) refleja la escasa presencia de CaO en los sedimentos, que no corresponda a la fracción de carbonatos. Por otro lado, se observa que los mayores contenidos de CIT y CaO se encuentra en las muestras más alejadas de la costa (S-7, S-8, S-9, S-13, S-14, S-15), sugiriendo un origen relacionado con fuentes biogénicas. De forma similar, el MgO también guarda buena correlación con el CIT (0,745, > 99%; Tabla 5.2.4), señalando una procedencia común de ambos elementos. El contenido medio de MgO en los sedimentos (1,85 g/100 g) apenas difiere de los de la corteza terrestre (2,47 g/100 g) o del *average shale* (2,60 g/100 g; Tabla 5.2.1).

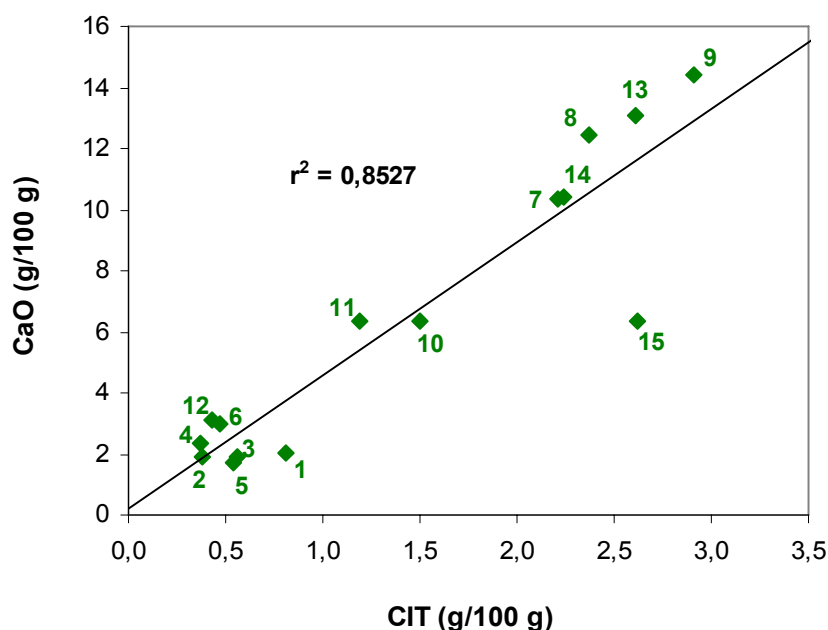


Figura 5.2.2.- Correlación entre el CaO y contenido total de C inorgánico, estimados por FRX y análisis elemental, respectivamente.

Los valores medidos de Fe_2O_3 , oscilan entre 4,89 y 6,86 g/100 g (Tabla 5.2.2). El Fe se encuentra presente en los sedimentos como componente estructural y como recubierta de óxido/hidróxido de granos minerales (Canfield *et al.*, 1992). Es sensible a filtraciones reductoras y puede incorporarse a los sedimentos como sulfuro de Fe, principalmente pirita. Sin embargo, la escasa correlación que guarda en este caso el Fe_2O_3 con el ST (0,425; Tabla 5.2.4) descarta su relación con precipitados de pirita. Por otro lado, los FE próximos a 1 (Tabla 5.2.3), sugieren que los sedimentos apenas contienen Fe de origen no natural, probablemente debido a la baja capacidad de dispersión de este elemento (Borrego *et al.*, 2002). Más bien, se podría considerar un origen detrítico para el Fe_2O_3 de los sedimentos, principalmente relacionado con los feldespatos y minerales de la arcilla que componen su fracción mineralógica (Tabla 5.2.5). De hecho, existe una buena correlación entre el Fe_2O_3 y el Al_2O_3 (0,872; Tabla

5.2.4), sugiriendo la asociación del Fe con componentes aluminosilicatados (Hoffmann *et al.*, 2001).

Los contenidos de MnO (0,05 y 0,10 g/100 g) son similares a los valores de referencia (Tabla 5.2.1). Al igual que el Fe, el Mn resulta sensible a las filtraciones reductoras, bajo las cuales se acumula en fase disuelta (Mn^{+2}), aunque no forma sulfuros estables, salvo en condiciones muy especiales (Böttcher y Huckriede, 1997). Los ambientes anóxicos actúan como trampas eficientes de Mn, que se introduce en estos sistemas fundamentalmente por vía fluvial, en forma disuelta o particulada, siendo abundante en las fases sedimentarias de plataformas subóxicas (Guieu *et al.*, 1998). Una vez en la zona reductora de la columna de agua, el único depósito para el Mn es la formación de carbonatos, puesto que el límite óxico/anóxico actúa como una barrera eficiente frente a la pérdida de este elemento (Brumsack, 2006). Sólo en aquellos sedimentos libres de carbonatos no se da enriquecimiento de Mn en los fondos anóxicos y su concentración está controlada únicamente por la fracción de aluminosilicatos (Calvert y Pedersen, 1996). En los sedimentos estudiados, sin embargo, la correlación negativa que presenta el MnO con el CIT (-0,757) y el CaO (-0,802), indican poca relación de este elemento con la formación de carbonatos. Contrariamente, la correlación positiva que presenta con el TiO_2 (0,739) y el SiO_2 (0,681), apuntan más bien hacia un origen del Mn de tipo detrítico (Wehausen y Brumsack., 2002).

Los contenidos de K_2O y Na_2O varían entre 1,70 y 2,55 y entre 1,78 y 2,88 g/100 g respectivamente (Tabla 5.2.2). El K, que se considera componente abundante de illitas y feldespatos potásicos (ortosa, sanidina, microclina; Wehausen y Brumsack, 2002), no registra ningún tipo de enriquecimiento respecto al *fondo geoquímico* H-2C (Tabla 5.2.3). El Na_2O , por su parte, presenta contenidos algo superiores a los de la corteza terrestre o el *average shale* (Tabla 5.2.1) pero similares a los del *fondo geoquímico* H-2C, por lo que los FE resultantes se encuentran próximos a la unidad en el conjunto de los sedimentos (Tabla 5.2.3). Tanto el K como el Na se consideran elementos asociados con fuentes litogénicas (illitas, albita, microclina, ortosa). De hecho, las significativas correlaciones positivas (>99%) de ambos elementos con el Al_2O_3 (Tabla 5.2.4) relacionan al K y Na con la presencia de feldespatos, minerales de la arcilla y otros aluminosilicatos de origen litogénico. En cualquier caso, las interpretaciones sobre el origen y procedencia del Na y K, deben hacerse con cierta precaución, debido al factor de corrección de la salinidad que se requiere en ciertos ambientes (Brumsack, 2006).

Entre la gran variedad de productos sólidos que son movilizados y transportados desde los continentes a los océanos por medio del desagüe de los ríos, la deposición atmosférica y el transporte glacial destacan cuantitativamente las proporciones de cuarzo, minerales de la arcilla y feldespatos (Chester, 2000). El predominio observado de estos minerales en los sedimentos (cuarzo, albita, moscovita, microclina, vermiculita, caolinita, moscovita, anfíbol; Tabla 5.2.5), y de forma especial en S-1, S-2, S-3, S-4, S-5, S-6, confirma la importancia de la componente litogénica de los mismos. La compleja clasificación estructural de los minerales de la arcilla y su ubicuidad en el medio ambiente dificultan la inferencia de orígenes precisos ya que, a pesar de que algunas de sus variedades se consideran fundamentalmente litogénicas (illita, clorita y caolinita), otras (e.g. montmorillonita) pueden provenir también de transformaciones de restos volcánicos (Chester, 2000). Sin embargo, la presencia dominante de los feldespatos y, sobre todo, del cuarzo, como componentes principales y secundarios de la fracción mineral de los sedimentos, refuerzan la idea de un origen detrítico.

En síntesis, se puede considerar que la composición mineral de los sedimentos está controlada, no sólo por los aportes biogénicos y los productos de reacciones químicas de disolución de las rocas lavadas en los cursos fluviales, sino también por las fuentes detríticas de los alrededores (Galán *et al.*, 2003). Existe un importante componente detrítico, con predominio del cuarzo como compuesto mayoritario, con especial incidencia en los sedimentos más cercanos a la desembocadura del Guadiana (de S-1 a S-6). De hecho, los componentes litogénicos se depositan preferentemente en los sedimentos próximos a la costa, aunque las fracciones más finas pueden llegar a alcanzar áreas de océano abierto (Chester, 2000). La moderada variabilidad (DER; Tabla 5.2.2) encontrada en los contenidos de elementos de origen litogénico (Si, Ti, Al, Na, K, Cr y Y) sugieren que el material sedimentario de tipo detrítico proviene básicamente de las mismas fuentes o que la proporción relativa de éstas es similar. A medida que nos vamos alejando de la costa van adquiriendo más representatividad los minerales carbonatados (calcita, dolomita, aragonito), presumiblemente asociados a un origen biogénico relacionado con conchas marinas. La gran variabilidad observada entre los sedimentos en el contenido de CaO (DER=72%, Tabla 5.2.2) señala fuentes de distinta procedencia de este elemento y variaciones de su concentración debido a factores de disolución o dilución (respecto a la acumulación de material detrítico) (Wehausen y Brumsack, 2002). De hecho, se observan elevados contenidos de CaO y mayor abundancia relativa de minerales carbonatados en los sedimentos más alejados de la costa, que reflejan un incremento en la contribución biogénica de los carbonatos, en detrimento de la litogénica.

El contenido medio de P_2O_5 en los sedimentos (0,12 g/100 g) se encuentra dentro de parámetros naturales (*average shale* y corteza: 0,16 g/100 g, Tabla 5.2.1). La muestra S-7 registra el valor máximo (0,16 g/100 g) y da lugar a un FE de 2,0 (Tabla 5.2.3), mientras que S-13 presenta un cierto enriquecimiento de P_2O_5 (FE=1,8) como consecuencia de su bajo contenido de Al_2O_3 (Tabla 5.2.2). El P pertenece al grupo de nutrientes esenciales y se incorpora a los sedimentos de distintas formas, unas de las más frecuentes en forma de granos individuales de apatita o de concreciones de fosforita (Brumsack, 2006). La moderada correlación que existe entre el P_2O_5 y el CaO (0,596, $p < 0,01$; Tabla 5.2.4), permite considerar esta posibilidad. Por otro lado, no pasa desapercibida la presencia de una planta de fertilizantes en la base central del sistema de estuario del Tinto y del Odiel (ciudad de Huelva), que generan grandes volúmenes de residuos de fosfoyeso (Fig. 3.3) y descargas de fluidos en el estuario del río Tinto (Borrego *et al.*, 2002; Davis *et al.*, 2000), constituyendo una fuente importante de fosfatos de origen antrópico. Davis *et al.*, (2000) determinaron que las elevadas concentraciones de fosfatos generadas en esta zona llegaban a alcanzar los límites del estuario, sugiriendo que esta industria de fertilizantes contaminaba el río Tinto a lo largo de todo el área del estuario y parte del litoral sometido a su influencia. De acuerdo con Borrego *et al.* (2002), la dirección de las contribuciones fluviales controlan, junto con las corrientes mareales y la localización de las descargas en el sistema estuarino, la distribución de los sedimentos, originando una variación espacial de sus características geoquímicas. La proximidad de la muestra S-7 al sistema de descarga de los ríos Tinto y Odiel y la dinámica de las corrientes en esa zona (Fig. 3.3) parecen estar relacionados con la composición geoquímica de este sedimento. Por otro lado, las fuertes correlaciones detectadas entre el P_2O_5 y ciertos metales pesados (As, Cu, Pb y Zn), refuerzan la hipótesis de una cierta asociación entre estos elementos, en relación a una fuente de contaminación de origen común, como se expone a continuación.

5.2.2. Elementos traza. Distribución y origen de especies contaminantes.

Entre los elementos traza (ET) analizados (Tabla 5.2.2), los que presentan mayores concentraciones entre los sedimentos son el Ba (291 $\mu\text{g/g}$) y el Zn (202 $\mu\text{g/g}$), destacando el contenido de este último en la muestra S-7 (379 $\mu\text{g/g}$). El Cu y el Pb también presentan altos contenidos (71 y 59 $\mu\text{g/g}$, respectivamente) si se comparan con los valores del *fondo geoquímico* H-2C (15 y 35 $\mu\text{g/g}$, respectivamente). Tanto el Cu como el Hg y el Zn presentan valores medios entre 2 y 5 veces superiores a los del

fondo geoquímico. El aspecto más interesante, sin embargo, resulta de la comparación normalizada de la concentración de los ET respecto al Al (Tabla 5.2.3), por conseguir eliminar el efecto de factores tales como la composición mineral o la distribución por tamaño de grano, permitiendo determinar tendencias en la distribución espacial, de estos elementos, distintas fuentes de contribución y enriquecimientos antropogénicos (Borrego *et al.*, 2002).

De esta forma, se observan coeficientes de enriquecimiento próximos o superiores a 2 en varios ET (Tabla 5.2.3), destacando los del Cu, Hg, Zn, Co, Pb y As. Mientras el Cu (FE=4,7), Hg (FE=4,5) y Zn (FE=2,3) presentan enriquecimientos significativos en general, el Co, Pb y As lo hacen a nivel más localizado. Borrego *et al.*, (2002) describieron composiciones geoquímicas ricas en P, Fe, Cu, Zn, Pb y Ba para sedimentos superficiales del sistema estuarino de los ríos Tinto y Odiel, en relación a las contribuciones de agua y sedimentos de ambos ríos, con incidencia de efluentes industriales a lo largo del sistema de márgenes fluviales. Éstos incluyen los vertidos de la industria de fertilizantes desarrollada en la zona, que genera grandes volúmenes de P y lleva asociados metales pesados como el As y el Hg (Elbaz-Poulitchez *et al.*, 1999b). Estos elementos se redistribuyen a lo largo del sistema de estuario y son transportados en suspensión por las corrientes mareales (Borrego *et al.*, 2002).

$$ET_{exc} = ET_{muestra} - Al_{muestra} (ET/Al)_{pizarra} \quad (II)$$

Se ha calculado el *exceso* o *contenido no-detrítico* de los ET (ET_{exc}) que reflejan enriquecimientos significativos en los sedimentos, a partir de la expresión (II) definida por Brumsack (2006). En la Fig. 5.2.3 se representan los valores ET_{exc} junto con los correspondientes contenidos reales del As, Co, Cu, Hg, Pb y Zn ($\mu\text{g/g}$), ilustrando qué proporción de éstos corresponde a un aporte distinto del detrítico-natural. Los mayores excesos se dan fundamentalmente entre las muestras S-7 y S-15, a excepción del Co, que presenta valores superiores entre los sedimentos S-1 y S-6. Concretamente el As y el Pb apenas presentan *exceso* entre S-1 y S-6, mientras que representan aproximadamente el 34% y 50% del contenido real de la muestra S-7 (Tabla 5.2.6). El Cu y el Hg registran los mayores porcentajes de *contenido no detrítico* en el conjunto de las muestras (71 y 73%, respectivamente). De forma local, la muestra S-7 representa el punto donde se localizan los máximos contenidos de metales, con excesos del 63% (As), 55% (Co), 95% (Cu), 89% (Hg), 75% (Pb) y 82% (Zn). Las escasas diferencias entre la concentración real y el exceso de estos metales,

especialmente el Cu (Fig. 5.2.3), indican que la mayor parte de sus aportes proceden de fuentes no naturales, presumiblemente relacionadas con las actividades industriales desarrolladas en la zona.

Efectivamente, se observa entre los sedimentos una cierta *geoacumulación* (Müller, 1979) de Cu, Hg y, en menor medida, Pb y Co, en función de sus índices de geoacumulación, I_{geo} (Tabla 5.2.6). Este parámetro (III), definido por Müller (1979), compara la concentración de un elemento en el sedimento (C_n) con su *fondo geoquímico* (B_n), para evaluar si existe enriquecimiento por acción de factores externos, tales como fuentes antrópicas. Teniendo en cuenta que la medida cuantitativa de este índice oscila en un rango de 0-6 y que el máximo valor refleja un enriquecimiento 100 veces sobre el valor del *fondo geoquímico* (Förstner y Wittman, 1983), podemos considerar que existe *geoacumulación* de Cu, Hg y Zn (I_{geo} superiores a 1,4), con especial incidencia en el caso de la muestra S-7 ($I_{geo}=3,3$ y 2,2 para el Cu y Hg, respectivamente).

$$I_{geo} = \log_2 C_n / 1,5 B_n \quad (III)$$

Tabla 5.2.6.- Proporción del exceso o *contenido no detrítico* (Brumsack, 2006) y valores del Índice de Geoacumulación (I_{geo} , Müller, 1979) de los elementos traza que presentan un enriquecimiento importante en los sedimentos.

	Contenido no detrítico (%)						Índice de Geoacumulación Müller					
	As	Co	Cu	Hg	Pb	Zn	As	Co	Cu	Hg	Pb	Zn
S-1	n.e.	46	42	50	n.e.	31	-1,1	0,3	0,2	0,4	-1,6	-0,1
S-2	6	48	58	76	n.e.	53	-0,2	0,6	0,9	1,7	-0,9	0,8
S-3	n.e.	46	63	60	n.e.	38	-0,7	0,6	1,1	1,0	-0,9	0,4
S-4	n.e.	49	64	72	n.e.	40	-0,7	0,6	1,1	1,4	-0,9	0,3
S-5	n.e.	45	62	68	n.e.	33	-0,4	0,6	1,1	1,4	-0,7	0,3
S-6	n.e.	51	73	84	7	58	-0,8	0,4	1,3	2,0	-0,5	0,6
S-7	63	55	95	89	75	82	0,5	0,2	3,3	2,2	1,1	1,6
S-8	20	44	76	67	43	65	-0,3	0,2	1,4	1,0	0,2	0,9
S-9	n.e.	44	62	55	28	56	-0,8	0,1	0,7	0,4	-0,3	0,4
S-10	35	29	80	80	59	56	0,3	0,2	2,0	2,0	0,9	0,8
S-11	15	33	80	80	50	54	-0,1	0,2	2,0	2,0	0,7	0,8
S-12	28	34	76	74	27	41	0,3	0,4	1,9	1,7	0,3	0,6
S-13	50	24	84	87	67	66	0,0	-0,6	1,6	2,0	0,6	0,6
S-14	31	25	74	78	48	56	0,1	-0,1	1,5	1,7	0,5	0,7
S-15	29	11	79	80	53	57	0,1	-0,2	1,9	2,0	0,7	0,9

n.e.: no hay exceso

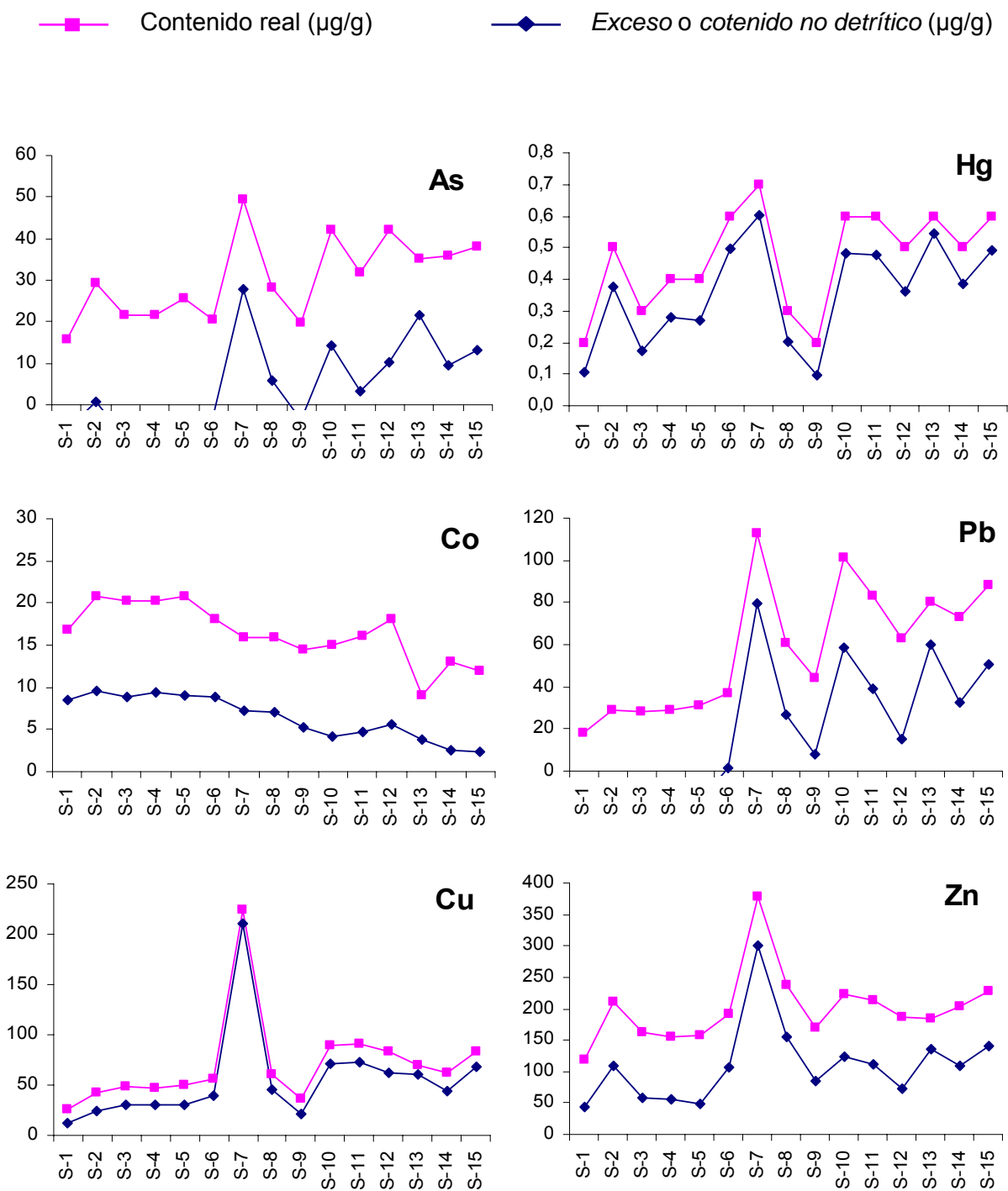


Figura 5.2.3.- Representación del exceso o contenido no detrítico de los elementos traza que presentan un enriquecimiento importante entre los sedimentos, en comparación con su contenido real.

5.2.3. Análisis estadístico y significado ambiental.

Las significativas correlaciones de Pearson (nivel confianza >99%) del P₂O₅ con el As, Cu, Pb, Zn ($r^2 > 0,7$) y del Hg con el As, Pb, Cu y Zn ($r^2 > 0,60$) (Tabla 5.2.4) sugieren una asociación de todos estos elementos, que pueden interpretarse como consecuencia de la influencia que ejerce el sistema fluvial Tinto-Odiel sobre la composición de los sedimentos más próximos a él, poniendo de manifiesto el importante grado de dispersión de estos metales desde sus aguas ácidas (Borrego *et al.*, 2002). Aunque la mayor descarga de metales pesados por parte de las actividades mineras e industriales de la zona se depositan en los sedimentos del sistema estuarino Tinto-Odiel, el alto grado de dispersión descrito para algunos de estos metales (especialmente el Cu y Zn) explicaría sus anómalas concentraciones en los sedimentos estudiados, de forma similar a las descritas por Borrego *et al.* (1990) en sedimentos costeros de tipo fangoso, adyacentes al estuario del río Piedras, o por Elbaz-Poulichet y Leblanc (1996) y van Geen *et al.* (1997) en sedimentos marinos de tipo limoso, localizados en la plataforma continental del Golfo de Cádiz. Los mayores enriquecimientos de P₂O₅, As, Cu, Pb, Zn y Hg (Tabla 5.2.3) se encuentran en las muestras S-13 y S-7, donde se produce la mayor contribución de los vertidos fluviales por parte de los ríos Tinto y Odiel. La falta de correlación de estos metales con el Fe y el ST (Tabla 5.2.4), descarta su asociación en forma de óxidos/hidróxidos de Fe o depósitos de sulfuros polimetálicos, característicos de la zona de captación del río Odiel (Leblanc *et al.*, 2000). Por otro lado, la misma ausencia de correlación entre el Fe y el P (0,111; >95%), excluye la asociación entre ambos elementos en forma de livianita, como la descrita en el estuario Tinto-Odiel (Galán *et al.*, 2003), como consecuencia de la reacción de las aguas ricas en Fe de estos ríos con el ácido fosfórico derivado de los vertidos de fosfoyesos de la industria de fertilizantes (Elbaz-Poulichet *et al.*, 1999 b).

Tabla 5.2.7.- Matriz de los 3 componentes principales (PCA) que explican el 87,6 % de la varianza de los factores (elementos traza enriquecidos en los sedimentos).

	PCA 1	PCA 2	PCA 3
As	0,464332	0,0701498	0,130145
Co	-0,245741	-0,157746	0,781916
Cr	0,238058	0,609182	-0,144119
Cu	0,412266	-0,349233	0,134840
Hg	0,385586	-0,008423	0,125423
Ni	0,139239	0,561013	0,534065
P (P ₂ O ₅)	0,415832	0,028119	-0,137441
Zn	0,395465	-0,401910	0,113450
% varianza ^a	53,560	20,760	13,275

^a- Varianza asociada a cada factor o componente.

El análisis de componentes principales (PCA) de estos elementos (As, Co, Cr, Cu, Hg, Pb, Zn y P₂O₅) queda descrito por 3 componentes, los cuales representan conjuntamente el 86,76% de la varianza de los factores. En la Fig. 5.2.4 se representan los dos componentes que recogen la mayor variabilidad (PCA 1 y 2) y en ella se observa la siguiente agrupación de las variables: (i) As, P, Hg, Cu y Zn, (ii) Cr y Ni, (iii) Co. De este modo, el primer componente (PCA 1) explica el 54% de la variabilidad (Tabla 5.2.7) y puede etiquetarse como “influencia del Tinto y Odiel”, puesto que recoge el peso principal de las variables que caracterizan los aportes ácidos y contaminantes de este sistema fluvial (As, Hg, P, Cu y Zn). El segundo componente (PCA 2) explica el 21% de la variabilidad y parece relacionado con “efectos del Cr y Ni”, por representar el mayor peso relativo de estos dos metales, presentando además valores negativos para el Co, Cu, Hg y Zn. El tercer componente (PCA 3) explica el 13% de la variabilidad y puede describirse como “influencia del Guadiana”, por estar representado por el Co que, como se aprecia en las Tablas 5.2.2 y 5.2.3, es especialmente abundante en las muestras más cercanas a la desembocadura de este río. Los sedimentos, por su parte, se distribuyen con similares patrones de geoacumulación en torno a los tres grupos de variables descritas: Co (S-8, S-9 y sedimentos próximos al Guadiana); As, Hg, P, Cu y Zn (S-7); Cr y Ni (sedimentos de situación intermedia).

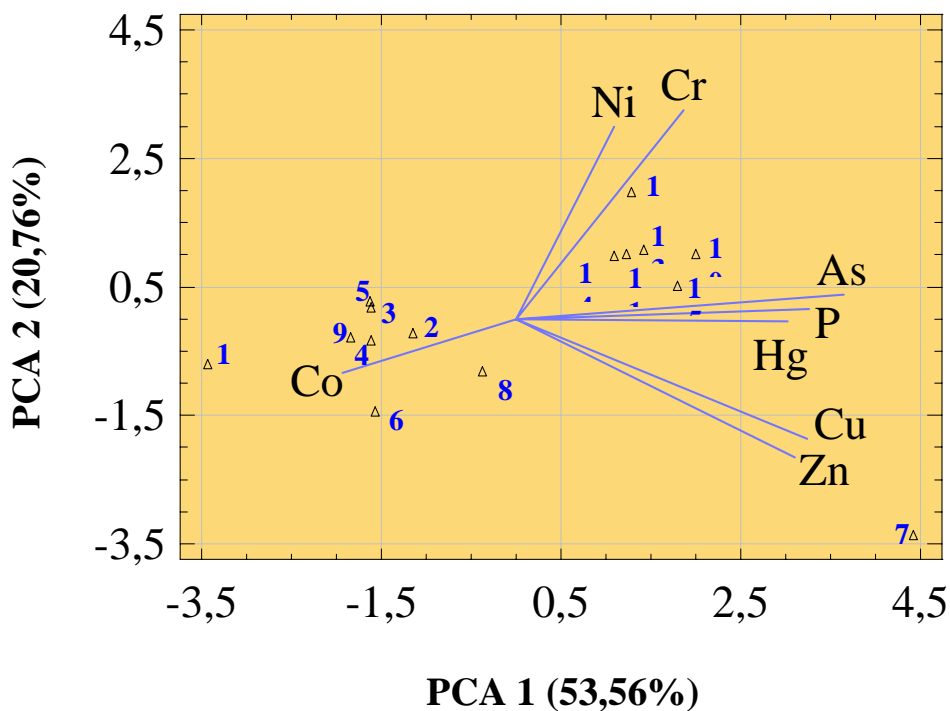


Figura 5.2.4.- Análisis de Componentes Principales (PCA) de los contenidos de As, Co, Cr, Cu, Hg, Zn y P₂O₅ (P) de los 15 sedimentos estudiados.

De acuerdo con todo lo anterior, se pueden establecer ciertas asociaciones entre los sedimentos, según sus composiciones geoquímicas (elementos mayoritarios, ET, COT, CIT, ST, $\delta^{13}\text{C}$) y características granulométricas (fracciones arena, limo, arcilla). Para ello, se ha realizado un análisis de *clúster*, que recoge la distribución espacial de los sedimentos en forma de dendograma (Fig. 5.2.5), agrupando muestras afines, en función de sus distancias euclídeas. En él se puede apreciar la constitución de cuatro grupos diferentes de muestras:

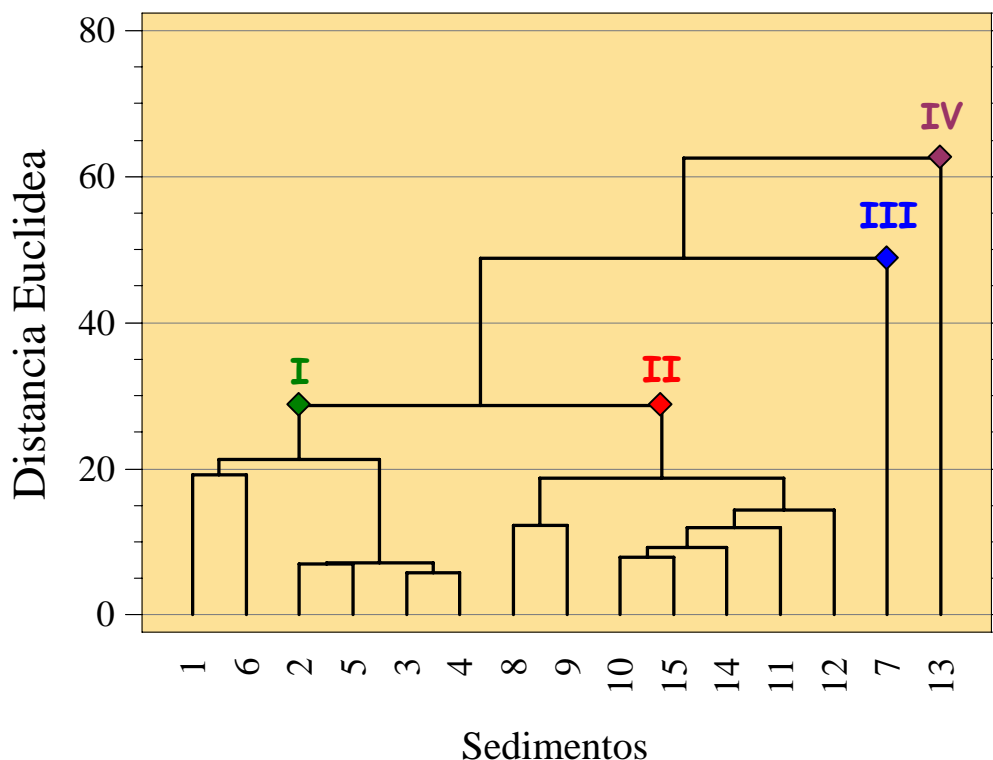


Figura 5.2.5.- Dendograma de representación del análisis de proximidad de grupos afines de sedimentos, a partir de su composición geoquímica y granulométrica.

- I. Sedimentos S-1, S-2, S-3, S-4, S-5 y S-6: presentan el mayor contenido de arenas (25% de media), los mayores FE para el TiO_2 , MnO y Co, coincidiendo con una composición mineralógica dominada por el cuarzo, la albita y la moscovita. Constituyen un grupo de importante carácter detrítico.
- II. Sedimentos S-8, S-9, S-10, S-11, S-12, S-14 y S-15: presentan los mayores contenidos de la fracción fina (promedio fracción limo+arcilla = 96%), altos FE de Cu, Hg, Pb y Zn e importante participación de calcita y dolomita en su composición mineralógica. Este grupo representa el incremento de la contribución carbonato-biogénica, en detrimento de la influencia terrígeno-detrítica.

- III. Sedimento S-7: representa el punto más cercano al sistema fluvial Tinto-Odiel. Con un 86% de fracción fina, presenta FE próximos o superiores a 2 para el Cu, Hg, Zn, Pb, As, Co, P₂O₅, MnO y Ba, poniendo de manifiesto la significativa influencia del drenaje ácido y rico en metales pesados de los ríos Tinto y Odiel.
- IV. Sedimento S-13: se caracteriza por presentar un elevado contenido de arenas (43%), una composición mineralógica con predominio del cuarzo, la calcita y las plagioclasas y un destacado enriquecimiento de Hg, Cu, Pb, Zn, Cr y As. Este sedimento, en el que se dan los mínimos contenidos de Al₂O₃ (9,25 g/100 g) y uno de los mayores de CaO (13,08 g/100 g), combina la influencia detrítica del río Piedras y el sistema fluvial Tinto-Odiel, con una importante contribución biogénica en forma de carbonatos.

Los metales estudiados comparten entre sí similares patrones de transporte y sedimentación, respondiendo, en general, a la existencia de una fuente geoquímica común relacionada con el drenaje de la Faja Pirítica por parte de todos los ríos de la zona y, en algunos casos, a la influencia específica del sistema fluvial Tinto-Odiel, que altera las características geoquímicas de los sedimentos más próximos a su desembocadura. La falta de correlación general entre el COT y los ET (Tabla 5.2.4), unida a asociación observada entre algunos pares de metales, indica la ausencia de procesos de formación de complejos organometálicos y sugiere más bien la existencia de asociaciones de metales entre sí y con la matriz mineral, relacionadas con fuentes externas de origen antrópico.

En estudios realizados en sedimentos próximos y distantes a depósitos masivos de metales sulfurosos y sedimentos marinos hidrotermales, se ha observado que existe cierta relación entre los elementos de origen hidrotermal y aquellos asociados con los materiales clásticos (Peter y Goodfellow, 1996), de tal forma que la relación Fe/Ti (hidrotermal/detrítico) aumenta con la contribución hidrotermal, mientras que $Al/(Al+Fe+Mn)$ (detrítico/[detrítico+hidrotermal+acuático]) lo hace con la contribución detrítica. En la Fig. 5.2.6 se representan los valores obtenidos de ambas razones para los 15 sedimentos, junto con los de distintas muestras de referencia: rocas volcánicas y volcanoclásticas del sur de la Península Ibérica (Leistel *et al*, 1998), valores medios de sedimentos terrígenos (Boström, 1973), sedimentos metalíferos (Cook y Pass, 2000; Mihalynuk y Peter, 2001) y sedimentos de un sondeo de 53 m de profundidad recogido en la zona intermareal del río Guadiana (CM-5; Polvillo, 2003). Además, se representan las hipotéticas curvas de tendencia entre los diferentes materiales. La relación Fe/Ti de los sedimentos oscilan entre valores de 4 y 8,6 y la de $Al/(Al+Fe+Mn)$ entre 0,651 y 0,714 (Tabla 5.2.8). Estos valores se encuentran dentro

del área representada para las volcanitas del sur de la Península Ibérica (Fig. 5.2.6), correspondiendo a valores cercanos a los de los sedimentos terrígenos y los del sondeo CM-5.

Tabla 5.2.8.- Distribución de componentes hidromorfos (a) y detríticos (b) en los sedimentos marinos. Índice de acumulación de los metales sensibles al potencial redox del medio (c).

Muestra	Fe/Ti ^(a)	Al / (Al+Fe+Mn) ^(b)	V+Cr+Ni+Cu+Zn ^(c)
S-1	4,23	0,706	298,4
S-2	5,58	0,708	456,3
S-3	5,54	0,708	418,1
S-4	4,69	0,708	392,6
S-5	5,44	0,714	416,8
S-6	4,00	0,707	406,8
S-7	6,85	0,656	769,3
S-8	8,61	0,680	485,8
S-9	8,46	0,685	385,6
S-10	7,50	0,686	553,0
S-11	7,52	0,687	548,0
S-12	6,83	0,700	539,0
S-13	7,52	0,651	450,0
S-14	8,51	0,682	493,0
S-15	7,51	0,685	529,0
Mínimo	4,00	0,651	298,4
Promedio	6,59	0,691	463,5
Máximo	8,61	0,714	769,3
D.E.	1,56	0,019	108,1

Finalmente, se produce una ligera acumulación de elementos sensibles al potencial de redox del medio (V, Cr, Ni, Cu, Zn), que se depositan en los sedimentos bajo condiciones reductoras (Polvillo, 2003). Estas concentraciones, que oscilan entre 298 y 769 µg/g (Tabla 5.2.8), describen una curva de distribución muy similar a la del Cu o el Zn (Fig. 5.2.7), que poniendo de manifiesto el efecto dominante de ambos metales en el parámetro de acumulación. Estos depósitos pueden deberse tanto a la presencia de condiciones reductoras en el medio de sedimentación, tales como las planteadas en la sección 5.1, como al aporte anómalo de metales pesados y otros elementos contaminantes, derivado de las actividades mineras e industriales desarrolladas en la zona.

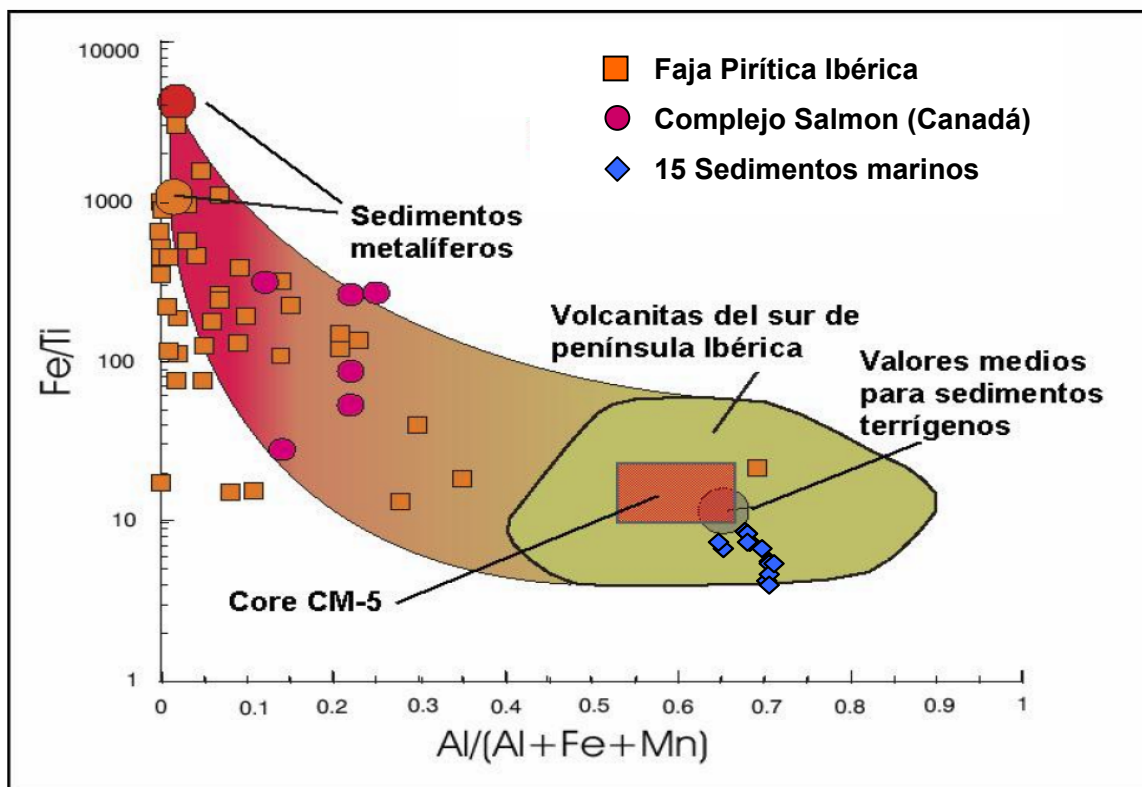


Figura 5.2.6.- Gráfico de distribución de las relaciones detrítica e hidrotermal (Fe/Ti frente a $Al/[Al+Fe+Mn]$) de los 15 sedimentos estudiados y de diferentes muestras de referencia: rocas volcánicas y volcanoclásticas del sur de la Península Ibérica (Leistel *et al.*, 1998), valores medios de sedimentos terrígenos (Boström, 1973), sedimentos metalíferos (Cook y Pass, 2000; Mihalynuk y Peter, 2001) y sedimentos del sondeo CM-5 (Polvillo, 2003), así como las hipotéticas curvas de tendencia entre los diferentes materiales.

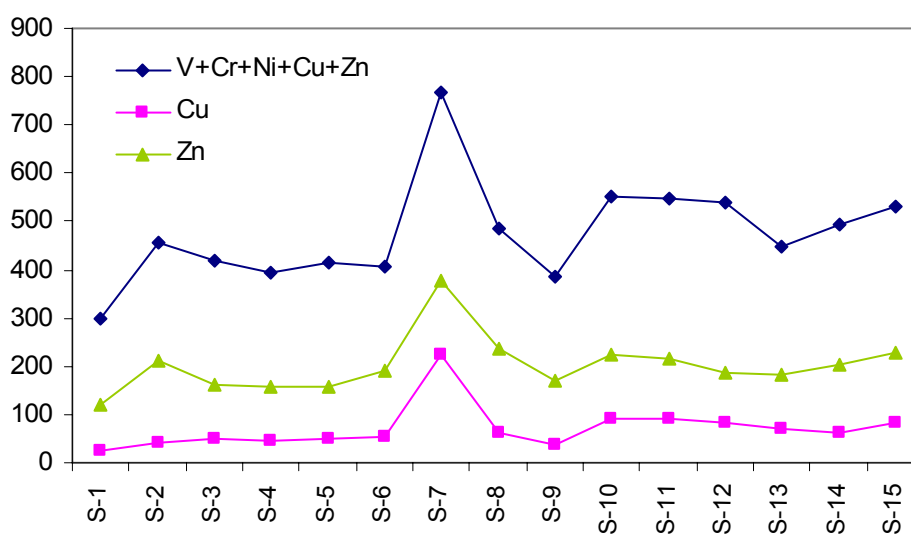


Figura 5.2.7.- Distribución del parámetro de acumulación de elementos sensibles al potencial redox del medio (V+Cr+Ni+Cu+Zn) y de los contenidos individuales de Cu y Zn ($\mu\text{g/g}$).

5.3. DISTRIBUCIÓN DE LAS PRINCIPALES FAMILIAS DE MARCADORES MOLECULARES LIPÍDICOS

A través del estudio de los lípidos y la distribución de sus principales familias, se obtiene información sobre las diferentes fuentes biológicas del material orgánico y los procesos biológicos ocurridos en el medio marino sedimentario, puesto que la presencia y origen de estos compuestos orgánicos en los sedimentos es altamente dependiente del medio ambiente de sedimentación y de la historia térmica del sedimento. De esta forma, la identificación de estos compuestos y el estudio de sus distribuciones y relaciones, permiten aproximarse al ambiente de sedimentación y al conocimiento de la extensión y naturaleza de las alteraciones sufridas por la MOS.

En este sentido, se ha abordado el estudio cualitativo y semicuantitativo de los lípidos presentes en los 15 sedimentos, con el fin de conocer el origen de los compuestos, la distribución observada en las muestras y su significado geoquímico. Por medio del análisis cualitativo con GC/MS se ha detectado un gran número de compuestos, entre los que se encuentran variedad de marcadores moleculares de diversos orígenes. La concentración de lípidos en forma de C orgánico (0,03-0,30 g/100 g COT), la semicuantificación de las familias de marcadores moleculares identificadas y los principales indicadores de origen se recogen en la Tabla 5.3.1. Aunque no se dispone de valores absolutos de concentración, el contenido relativo de cada familia (g/100 g lípidos) aporta información sobre las características ambientales, las diferencias cualitativas locales entre los puntos de muestreo y las tendencias específicas de la composición orgánica de cada sedimento, a partir de la distribución diferencial entre muestras.

Las principales familias de biomarcadores moleculares (fracción neutra: *n*-alcanos, *n*-alcan-2-onas, *n*-aldehídos e isoprenoides; fracción ácida: ácidos alcanóicos, alcanodioicos y resínicos) se identificaron por comparación de espectros de masa e índices de retención con datos publicados (Cranwell, 1982; González-Vila *et al.*, 2003, Bai *et al.*, 2006) y librerías (NIST, Wiley). En la Tabla 5.3.1 se describen detalladamente los grupos más importantes y representativos encontrados en los sedimentos objeto de estudio, dada su conocida utilidad como marcadores geoquímicos.

Tabla 5.3.1.- Composición de las principales familias de lípidos y sus biomarcadores. Concentración de lípidos en forma de C orgánico (g C/100 g COT); a.r.: abundancia relativa (g/100 g lípidos); IPC: Índice de preferencia del C; TAR: *terrigenous/aquatic ratio*; C₃₁/C₁₇: relación entre los alcanos de 31 y 17 unidades; Pr/Ph: relación entre las unidades isoprenoides pristano y fitano; Pr/C₁₇: relación entre el pristano y el alcano C₁₇; Ph/C₁₈: relación entre el fitano y el alcano C₁₈; C₂₅/C₂₇: relación entre las alcan-2-onas de 25 y 27 unidades; C_{n,1}/C_{n,0}: relación entre el ácido monoinsaturado de *n* unidades y su homólogo saturado.

Código muestra	Lípidos g/100 g	<i>n</i> -alcanos				isoprenoides				<i>n</i> -aldehídos		<i>n</i> -alcan-2-onas			<i>n</i> -ácidos grasos				
		a.r.	IPC _{alc}	TAR _{alc}	C ₃₁ /C ₁₇	a.r.	Pr/Ph	Pr/C ₁₇	Ph/C ₁₈	a.r.	IPC _{ald}	a.r.	IPC _{cet}	C ₂₅ /C ₂₇	a.r.	IPC _{ag}	TAR _{ag}	C _{16:1} /C _{16:0}	C _{18:1} /C _{18:0}
S-1	0,3	24	1,6	9,4	5,5	0	n.d.	n.d.	n.d.	1	1,1	2	1,7	0,7	72	10,4	0,0	n.d.	0,13
S-2	0,2	70	2,0	2,0	2,0	0	n.d.	n.d.	n.d.	5	0,7	13	3,0	0,7	4	8,3	0,4	0,02	0,20
S-3	0,1	46	4,2	1670,9	525,7	0	n.d.	n.d.	n.d.	2	0,4	7	2,9	0,7	43	6,2	0,5	0,01	0,13
S-4	0,1	33	1,8	0,2	0,0	4	n.p.	n.p.	0,6	7	0,7	6	1,5	0,4	41	6,8	0,0	0,01	0,14
S-5	0,2	22	2,6	0,3	0,1	3	n.p.	n.p.	0,6	4	0,4	4	1,8	1,5	61	8,0	0,0	0,02	0,19
S-6	0,1	19	1,5	3,4	1,4	<1	n.p.	n.p.	0,4	2	3,6	3	1,7	0,7	75	7,9	0,2	0,02	0,29
S-7	0,0	9	1,9	1,0	0,6	1	n.p.	n.p.	0,5	2	0,4	1	1,8	1,1	86	7,3	0,0	0,03	0,15
S-8	0,0	89	1,0	2,0	n.p.	0	n.d.	n.d.	n.d.	8	1,0	n.d.	n.d.	n.d.	0	4,7	9,9	0,00	0,00
S-9	0,0	56	1,1	0,3	0,2	6	n.p.	n.p.	0,7	4	1,4	3	2,0	1,1	27	7,9	0,0	0,02	0,42
S-10	0,1	25	3,6	0,3	0,1	2	0,3	0,2	0,4	4	0,7	4	1,6	1,0	59	11,3	0,0	0,04	0,19
S-11	0,1	11	1,7	0,9	0,7	1	n.p.	n.p.	0,6	1	1,4	1	2,3	1,0	86	7,3	0,2	0,02	0,29
S-12	0,2	69	2,6	0,6	0,7	5	n.p.	n.p.	0,4	6	1,4	8	0,7	0,5	5	6,8	1,9	0,01	0,28
S-13	0,1	20	1,9	0,2	0,1	3	n.p.	n.p.	1,0	15	0,3	3	2,2	1,5	54	6,5	0,1	0,01	0,15
S-14	0,0	53	1,0	1,8	0,7	0	n.d.	n.d.	n.d.	4	0,9	n.d.	n.d.	n.d.	41	7,9	0,6	0,02	0,06
S-15	0,1	30	2,4	0,0	0,0	3	n.p.	n.p.	0,5	7	0,2	4	1,8	1,0	51	9,7	0,0	0,03	0,19

n.d.: no detectado; n.p.: no procede (numerador o denominador cero)

5.3.1. *n*-Alcanos

A pesar de su estructura molecular simple, la familia de *n*-alcanos se ha utilizado satisfactoriamente como marcadora biológica, debido a su abundancia y fácil detección por cromatografía de gases. Los *n*-alcanos son fácilmente identificables por espectrometría de masas, ya que todos presentan el mismo tipo de rotura, con un pico base a m/z 57 y picos característicos a m/z $57 + 14n$, siendo $n = 1, 2, \text{etc.}$ El ión molecular se detecta fácilmente, aunque presenta una abundancia relativamente pequeña (Rodríguez, 2006).

A partir de la distribución de *n*-alcanos se puede obtener información sobre la naturaleza de la MOS. Así, la MO de origen terrestre (MOT), por ejemplo, se caracteriza por presentar distribuciones de *n*-alcanos de elevado peso molecular (C_{27} - C_{31}) y notable predominio de homólogos con número impar de C. Se considera que estos alcanos provienen de ceras epicuticulares de plantas superiores, particularmente de angiospermas, aunque la presencia de alcanos de mayor peso molecular puede indicar también contribuciones de plantas fanerógamas marinas (Eglinton y Hamilton, 1963; Simoneit y Mazurek, 1982; Jaffé *et al.*, 1995). Las series de *n*-alcanos con máximo comprendido entre C_{23} - C_{27} se relacionan con vegetación asociada a marismas, mientras que las distribuciones con máximos entre 29 y 31 unidades de C (C_{29} - C_{31}) usualmente corresponden a MO procedente de vegetación de prados y pantanos (Nishimoto, 1974; Simoneit *et al.*, 1984) y aquellas de 33 unidades (C_{33}) son dominantes en la familia de las Crasuláceas (Eglinton y Hamilton, 1967; Tulloch *et al.*, 1976).

Por otra parte, en la MO de origen marino (MOM) hay predominio de moléculas de *n*-alcanos de menor longitud de cadena, los cuales son menos resistentes a la degradación en los primeros estadios de la diagénesis. La presencia de series menos de C_{20} unidades en sedimentos se considera indicativa de síntesis microbiana, relacionándose con membranas de microorganismos, habitualmente algas o bacterias. Sin embargo, mientras las algas marinas se caracterizan por producir alcanos con máximos a C_{17} y sin preferencia en la paridad (Albro, 1976; Weete, 1976), las bacterias muestran una marcada preferencia por el número par de C (Grimalt y Albaigés, 1987). Por otro lado, el predominio de *n*-alcanos de bajo peso molecular en el rango C_{21} - C_{25} se puede relacionar tanto con ambientes de marisma, como con aportes de MO de macrofitas y microalgas acuáticas (Ficken *et al.*, 2000).

La distribución de *n*-alcanos observada en los extractos de los sedimentos oscila en un rango de 15 a 33 unidades de C (C_{15} - C_{33}), llegando incluso hasta C_{14} (S-15), por un lado, y C_{35} (S-1), por otro. La preferencia general por el número impar de átomos de C ($IPC_{alc} > 1$, Tabla 5.3.1) sugiere que el material no ha sufrido una diagénesis drástica, ya que a lo largo del proceso diagenético se va perdiendo la preferencia por la paridad tal y como se explica más adelante. Las Fig. 5.3.1 y 5.3.2 representan las distribuciones de la traza más representativa del ión simple (*Single Ion Monitorization*, SIM), característica de los alcanos (m/z 85), y las representaciones normalizadas del contenido relativo de cada compuesto respecto al homólogo dominante en cada muestra, respectivamente. En ellas se pueden apreciar distintos comportamientos de los sedimentos respecto a los alcanos, que responden a tres tendencias:

- Predominio de homólogos de bajo peso molecular ($< C_{24}$), con dominante carácter impar, indicativo de origen marino.
- Distribución unimodal con dominio de homólogos de cadena larga ($> C_{24}$), con máximo a C_{29} y clara preferencia impar, asociada a fuentes terrestres.
- Contribución mixta de homólogos de bajo y alto peso molecular, con distribuciones bi- y trimodales, con máximos a C_{17} , C_{23} y C_{29} .

Predominio de homólogos de bajo peso molecular:

Las distribuciones de cadena corta, con apenas trazas de homólogos de mayor peso molecular, son indicativas de un origen predominantemente marino (Weete, 1976; Albro, 1976). Las composiciones unimodales, con máximos a C_{17} - C_{18} y preferencia impar se relacionan con la síntesis lipídica de fitoplancton y algas bénticas (Cranwell, 1982; Wakeham *et al.*, 1991; Canuel *et al.*, 1997). Estas distribuciones de compuestos ligeros se observan en mayor o menor medida en todos los sedimentos, como consecuencia de la producción autóctona recibida. Sin embargo, son dominantes en las muestras S-4, S-5, S-7, S-10, S-12, S-13 y S-15, mientras que en el resto de sedimentos presentan menor concentración, bien por la menor contribución del material marino en estos puntos, bien debido a una degradación preferencial durante las primeras fases de la diagénesis (González-Vila *et al.*, 2003), en comparación con las fracciones de mayor peso molecular más resistentes a la alteración. Cabe destacar la presencia de los homólogos impares de hasta C_{27} - C_{31}

unidades en la muestra S-12 los cuales, a pesar de encontrarse en pequeña concentración, resultan indicativos de un cierto aporte terrestre. Por el contrario, muestras como S-13 ó S-15 destacan por la presencia casi exclusiva de cadenas cortas, características de producción marina. Las muestras S-4 y S-5 llaman la atención por su evidente carácter marino, sin apenas contribución terrígena, a pesar de su proximidad al continente, que contrasta con la composición observada en muestras cercanas a ellas, como S-2, S-3 ó S-6.

Por otro lado, las muestras S-8 y S-14 presentan distribuciones con estructura unimodal, máximo a C_{23} y escasa contribución de homólogos pesados, que podría relacionarse con diferentes tipos de fuentes: vegetación de marismas (Nishimoto, 1974; Simoneit *et al.*, 1984), microalgas y macrofitas acuáticas (Ficken *et al.*, 2000) o bien praderas marinas (*seagrasses*; Jaffé *et al.*, 2001). Se han encontrado distribuciones de *n*-alcanos de rango similar al de las plantas terrestres, pero con máximos a C_{21} , C_{23} ó C_{25} en extractos de briznas de praderas marinas de *Thalassia testudinum*, *Halodule wrightii* y *Syringodium filiformis*, respectivamente (Jaffé *et al.*, 2001). La escasa contribución en S-8 y S-14 de componentes pesados, junto con los máximos observados en el rango C_{23} - C_{25} , hacen pensar en una fuente mayoritaria de praderas marinas, de acuerdo con la localización de estas dos muestras. Además, la distribución bimodal observada en S-9, con dos máximos relativos a C_{18} (principal) y C_{24} (secundario) sugiere una naturaleza marina mixta en este punto, con mezcla de aportes planctónicos y de praderas marinas, respectivamente.

Predominio de homólogos de mayor peso molecular:

El fuerte predominio de los homólogos impares de hasta C_{27} - C_{31} unidades, con máximos a C_{29} , está normalmente relacionada con la presencia de plantas superiores, especialmente angiospermas (Jaffé *et al.*, 1995). A pesar de que también se han descrito alcanos de cadena larga en extractos de praderas marinas y diatomeas, la falta de detección de brassicaterol, que es un marcador típico de este tipo de organismos (Volkman, 1986), sugiere que en este caso no derivan de este tipo de fuentes. Se han identificado trazas de estos componentes terrígenos en diversas muestras (S-1, S-2, S-3, S-6, S-11 y S-12), aunque la contribución más evidente de material terrestre la presenta S-3, que es una de las muestras más cercanas a la desembocadura del río Guadiana (Fig. 3.1). Como se puede ver en las Fig. 5.3.1 y 5.3.2, los homólogos de cadena corta indicativos de naturaleza marina están prácticamente ausentes en este punto.

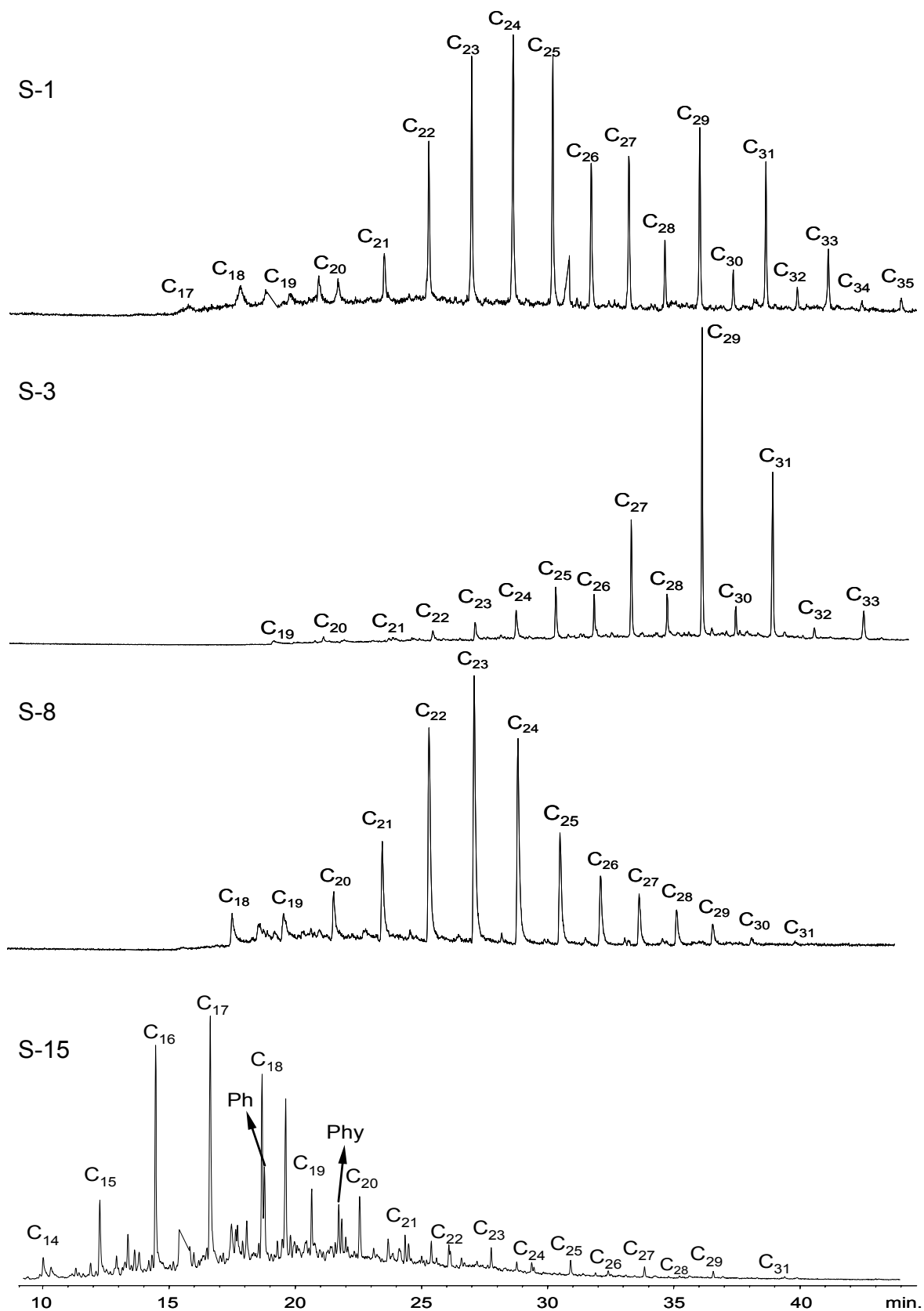


Figura 5.3.1.- Cromatogramas SIM de los sedimentos más representativos (S-1, S-3, S-8, S-15) de la traza m/z 85 de n -alcanos, junto con los isoprenoides lineales fitano (Ph) y fitol (Phy). Las referencias C_n sobre los picos representan las unidades de C que constituyen la cadena.

Distribuciones mixtas:

La mezcla de alcanos de bajo y alto peso molecular observada en el resto de los sedimentos constituye un grupo heterogéneo de muestras, con una contribución mixta de materiales marinos y terrestres. Mientras las muestras S-1 y S-6 parecen recibir aportes combinados de plantas superiores (C_{27} - C_{31}), microalgas y macrofitas acuáticas (C_{22} - C_{25}), propio de zonas pantanosas y marismas, la muestra S-11 representa una distribución similar, pero con una mayor influencia planctónica (C_{17}). Sin un origen dominante, la muestra S-2 refleja una triple contribución de aportes de praderas marinas, plancton y plantas superiores, de acuerdo con sus máximos relativos a C_{23} , C_{18} y C_{29} , respectivamente.

En líneas generales, existe coherencia entre las distribuciones de alcanos y la localización de las muestras en el área de estudio, de forma que se observa una mayor contribución de MO de origen terrestre en los puntos más cercanos a la línea de costa, que son a su vez los que presentan mayor tamaño de partícula (Tabla 5.1.1). Al alejarse del continente, se va produciendo una cierta dilución del aporte terrígeno, como consecuencia de la creciente contribución de producción autóctona (plancton, bentos, praderas marinas, cianobacterias), en detrimento de la alóctona (plantas superiores y vegetación asociada a pantanos y marismas). La presencia en algunas muestras de las unidades C_{22} - C_{25} podría reflejar fuentes de combustibles fósiles. Sin embargo, a pesar de que se han observado fitano e incluso pristano en algunas de las muestras, no se ha detectado la característica mezcla compleja de hidrocarburos (UCM, *unresolved complex mixture*), indicativa de MO derivada de combustibles fósiles (Jaffé *et al.*, 2001).

Por otro lado, las series de *n*-alcanos pueden provenir de ácidos grasos como resultado de procesos diagenéticos en el ambiente de deposición. El predominio general de cadenas impares de *n*-alcanos observado en los sedimentos se puede asociar con fases evaporíticas o medios marinos carbonatados (Moldowan *et al.*, 1992), donde las condiciones del medio de deposición son reductoras y puede producirse una reducción de ácidos grasos de número impar de C.

5.3. Distribución de las principales familias de marcadores moleculares lipídicos

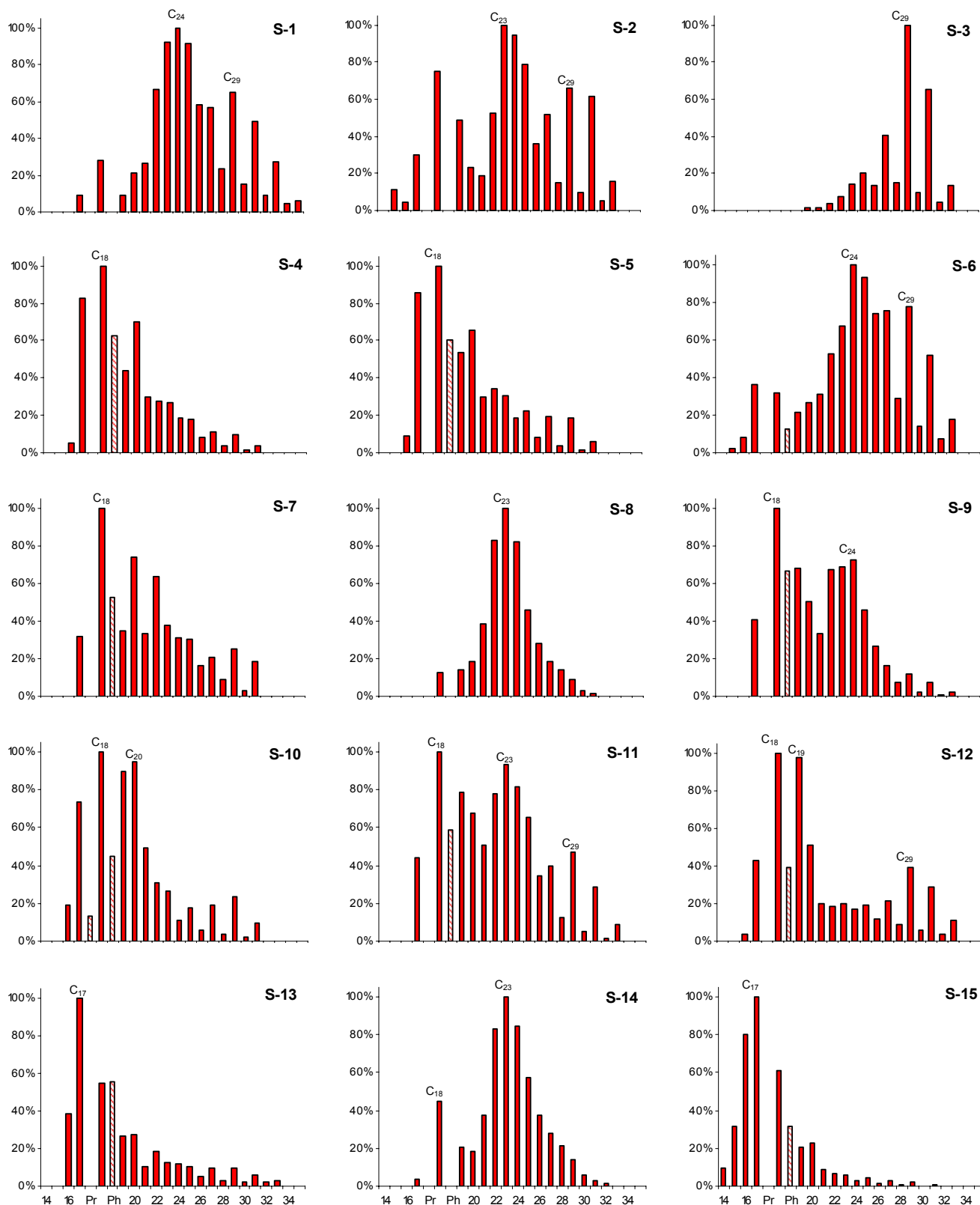


Figura 5.3.2.- Representación de la abundancia relativa (%) de los componentes de la familia de *n*-alcanos (barras llenas) y los isoprenoides lineales (barras rayadas: pristano, Pr y fitano, Ph). La abundancia de cada homólogo está normalizada respecto al compuesto más abundante en cada muestra. Los números en el eje horizontal indican el número de C de la cadena de *n*-alcanos, resaltando en la gráfica los picos más representativos (C_n).

Existen diversos parámetros indicadores y relaciones entre los componentes de los *n*-alcanos, que ayudan a interpretar la composición de esta familia y complementan la reconstrucción sobre el origen y la composición del material orgánico:

- El índice TAR_{alc} (*terrigenous/aquatic ratio*), empleado por Bourbonniere y Meyers (1996) (I), ayuda a identificar cambios en el origen de la MOS ya que representa la proporción de alcanos terrestres presentes frente a los de origen acuático. Valores altos de este parámetro, como los de las muestras S-1, S-3 y S-6 (9,4; 1.670,9 y 3,4 respectivamente) indican mayor contribución de lípidos de origen terrestre, mientras que valores menores (Tabla 5.3.1) son propios de orígenes acuáticos.

$$TAR_{alc} = (C_{27}+C_{29}+C_{31}) / (C_{15}+C_{17}+C_{19}) \quad (I)$$

- La relación entre los homólogos C_{31}/C_{17} se utiliza para estimar la contribución autóctona o alóctona de la MO, ya que los medios marinos sedimentarios presentan bajos valores de este índice (Lijmbach, 1975), por el dominio característico de unidades ligeras con máximo a C_{17} . Así, la mayoría de los sedimentos estudiados ofrecen relaciones C_{31}/C_{17} inferiores a la unidad, que indican un carácter predominantemente autóctono. Sin embargo, las muestras S-1, S-2, S-3, S-6 (Tabla 5.3.1) sugieren una importante contribución de fuentes no marinas, de acuerdo con lo observado para el TAR_{alc} .
- El Índice Preferencial del C (IPC) de los alcanos (II), indica el carácter par/impar de los átomos de C (Allan y Douglas, 1977) y se utiliza habitualmente como un indicador de madurez, que permite caracterizar la naturaleza del sedimento y el grado de evolución en que se encuentra.

$$IPC_{alc} = [\sum(C_{23} - C_{31})_{\text{impar}} + \sum(C_{25} - C_{33})_{\text{impar}}] / [2*\sum(C_{24} - C_{32})_{\text{par}}] \quad (II)$$

Los valores $IPC_{alc} > 1$ observados en los sedimentos (entre 1,0 y 4,2; Tabla 5.3.1), reflejan un predominio general impar, típico de estadios diagenéticos tempranos, con excepción de las muestras S-8 y S-14, que presentan un valor $IPC_{alc} = 1$. Estas muestras reflejan un grado de madurez más avanzado, ya que a medida que la diagénesis avanza, se

va produciendo la rotura de cadenas que equilibran la cantidad de homólogos pares e impares y dan lugar a valores IPC_{alc} cercanos a la unidad (Killops y Killops, 1993). Estos valores también podrían interpretarse como pertenecientes a muestras inmaduras, con un aporte poco significativo de plantas superiores (Hedges y Prahl, 1993), pero este no parece ser el caso, dado la presencia apreciable, aunque pequeña, de plantas terrestres en ambas muestras.

5.3.2. Fitol y compuestos isoprenoides

El fitol (Phy) (3,7,11,15-tetrametilhexadec-2(E)-en-1-ol) es el compuesto acíclico isoprenoide más abundante de la biosfera (Volkman y Maxwell, 1986). Es un alcohol C_{20} , que se encuentra habitualmente en forma esterificada formando parte de la mayoría de las clorofilas (clorofila-*a*, -*b* y bacterioclorofila), siendo por tanto indicador de organismos fototróficos (Oldenburg *et al.*, 2000). Es quizá el biomarcador más utilizado en medios acuáticos recientes, indicando la entrada de material vegetal de origen no específico (terrestre, algas, fanerógamas marinas; Jaffé *et al.*, 2001) y bacteriano fotosintético (Oldenburg *et al.*, 2000), aunque se considera especialmente indicativo de material algal (Ishiwatari *et al.*, 1999), dada la abundancia de clorofila-*a* en casi todas las especies de fitoplancton (Sun *et al.*, 1993). Su presencia en 10 de los 15 sedimentos estudiados representa el aporte vegetal fitoplanctónico en estos puntos e indica la importancia de esta entrada de material en el conjunto de sedimentos. Su falta de identificación en los sedimentos cercanos a tierra (S-1, S-2 y S-3) parece coherente con la relación establecida entre el fitol y el fitoplacton, mientras que su ausencia en puntos como S-8 y S-4, mucho más alejados de la línea de costa, vuelven a sugerir la posibilidad de que la contribución marina en estos dos sedimentos no sea tanto de tipo plactónica, como relacionada con otros tipo de organismos, tales como fanerógamas marinas.

A pesar de que el enlace éster entre el fitol y el macrociclo tetrapirrólico de la clorofila es relativamente resistente a la hidrólisis, existen cantidades significativas de fitol libre en sedimentos recientes (Grossi *et al.*, 1998), como consecuencia de procesos de digestión de copépodos (Grossi *et al.*, 1998), envejecimiento de diatomeas y diagénesis tempranas de los sedimentos (Johns *et al.*, 1980), como parte de procesos de degradación de tipo abiótico, dependientes de las condiciones ambientales (Rontani y Volkman, 2003). Numerosos estudios han tratado de establecer las vías diagenéticas del fitol libre en sedimentos marinos (Volkman y

Maxwell, 1986 y referencias) para un mejor entendimiento del destino del alcohol isoprenoide. Su degradación bacteriana se considera frecuentemente como una fuente importante de ácidos acíclicos isoprenoides en sedimentos marinos (Volkman y Maxwell, 1986), aunque aún quedan múltiples aspectos por elucidar (Rontani y Bonin, 2000).

La ubicuidad del hidrocarburo acíclico isoprenoide C₂₀ fitano en el ambiente marino y su similitud estructural con el fitol, han hecho pensar en éste último como su precursor principal (Didyk *et al.*, 1978; Volkman y Maxwell, 1986; Grimalt *et al.*, 1991), aunque esta relación no ha podido demostrarse plenamente y también se han propuesto precursores alternativos como éteres lipídicos de arqueobacterias (Rowland, 1990) o enlaces sulfuro-fitano (Koopmans *et al.*, 1996). Didyk *et al.* (1978) asociaron la transformación del fitol a fitano con ambientes sedimentarios anóxicos, asumiendo que el fitol sería deshidratado a fitadienos isoméricos o dihidrogenado a dihidrofitol y reducido a continuación a fitano, vía isómeros fiteno. Sin embargo, varios de los pasos de este esquema no han podido ser verificados y, aunque tanto el dihidrofitol como los isómeros fiteno están presentes en numerosos sedimentos (Grossi *et al.*, 1998 y referencias citadas), su papel en la diagénesis del fitol es incierta, puesto que tienen múltiples precursores (Navale, 1992).

El fitano (Ph) (2,6,10,14-tetrametilhexadecano) y el pristano (Pr) (2,6,10,14-tetrametilpentadecano) son isoprenoides acíclicos que aparecen en todo tipo de muestras geológicas y provienen de tejidos de plantas superiores y de las paredes de células bacterianas (Polvillo, 2003). Se forman por combinación de unidades isoprenoicas de cinco átomos de C (C₅) con estructura cabeza-cola. También existen isoprenoides con estructura cola-cola, como el perhydro-β-croteno, el licopano o el escualeno (2,6,10,15,19 pentameteicosano), que forman parte de los lípidos en bacterias metanogénicas y se han usado como marcadores biológicos de este tipo de organismos en sedimentos marinos. Estos últimos, a excepción del escualeno que se ha identificado en los extractos pirolíticos de los AH, no se han detectado en ninguno de los sedimentos estudiados. También existen homólogos C₃₂-C₄₀, con estructura cabeza-cabeza, derivados típicos de bacterias termófilas y otras arqueobacterias (Polvillo, 2003).

Junto con el fitol, se ha detectado la presencia de fitano y, en menor medida, pristano, en la misma traza de los *n*-alcanos (m/z 85), pero en menor concentración que éstos (Fig. 5.3.1). Como compuestos isoprenoides derivados fundamentalmente

del fitol, podemos considerar estos productos indicadores de la actividad fotosintética del fitoplancton (Ishiwatary *et al.*, 1999). Mientras el pristano sólo está presente en la muestra S-10, el fitano, al igual que el fitol, aparece en 10 de los 15 sedimentos (Fig. 5.3.2), dando en todo caso relaciones pristano/fitano (Pr/Ph) menores que 1, tanto en S-10 como en el resto de las muestras, como consecuencia de tener un numerador igual a cero (Tabla 5.3.1). Esta relación, junto con otras similares (Pr/C₁₇, Ph/C₁₈), son indicadoras de fuentes paleoambientales muy utilizadas para obtener información acerca del ambiente de deposición de los sedimentos (Didyk *et al.*, 1978)

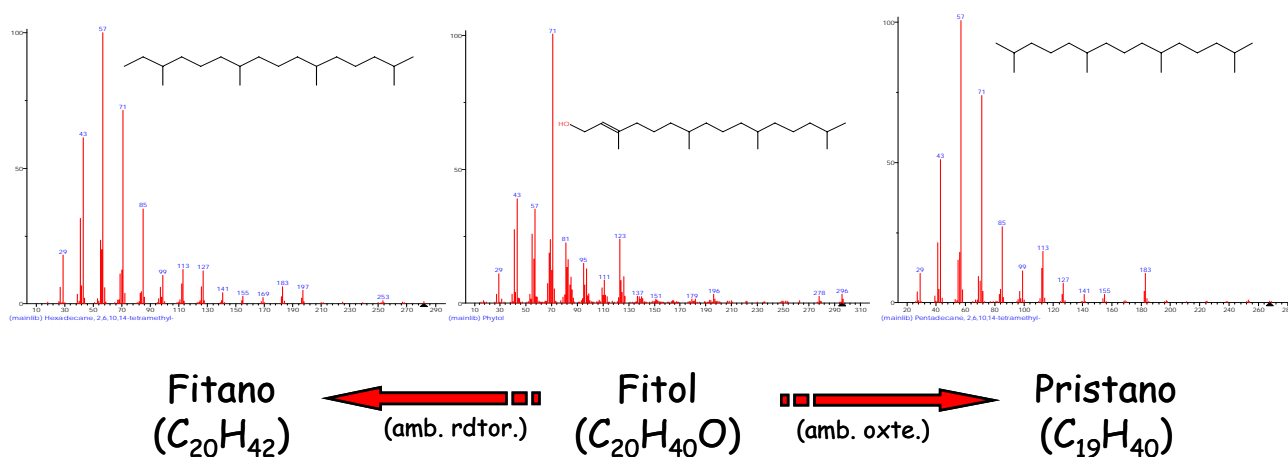


Figura 5.3.3.- Hidrocarburos isoprenoides alifáticos C₁₉ (pristano) y C₂₀ (fitano) derivados del fitol. *Amb. rdtor.*: ambiente reductor; *amb. oxe.*: ambiente oxidante.

Con cierta cautela debido a las incertidumbres citadas respecto a las vías diagenéticas del fitol, la relación Pr/Ph se utiliza de forma extendida para conocer las variaciones en el grado de oxidación de las primeras etapas de la diagénesis de la clorofila, asumiendo que el fitol en medios reductores se transforma últimamente en fitano, dando Pr/Ph < 1, mientras que en condiciones óxicas es el pristano el compuesto generado (Pr/Fi > 1), mediante descarboxilación de un ácido carboxílico intermedio del fitol (Ikan *et al.*, 1975; ten Haven *et al.*, 1987). De acuerdo con estos autores, la casi total ausencia de pristano y el dominio de valores mayores que uno de la relación Pr/Ph en los sedimentos (entre 0 y 0,3), indicaría la presencia de condiciones fundamentalmente anóxicas en la capa activa de los sedimentos en fases tempranas de la diagénesis (Volkman y Maxwell, 1986). Sin embargo, aunque este indicador se ha utilizado ampliamente en *Geoquímica Orgánica*, dada la ubicuidad de estos compuestos en el medio ambiente, conviene tener en cuenta las limitaciones

derivadas de la existencia de otros precursores del fitol, como el tocoferol, ampliamente distribuido en la naturaleza (Goossens *et al.*, 1984; Philp y Lewis, 1987; ten Haven *et al.*, 1987), el fosfatidilgliserofosfato, componente abundante en bacterias halófilas (Nissenbaum *et al.*, 1972), o la presencia del pristano en biomasa zooplanctónica (Blumer *et al.*, 1964).

Las relaciones Pr/C₁₇ y Ph/C₁₈ se han utilizado para medir la extensión de la biodegradación de los sedimentos (Didyk *et al.*, 1978). La escasa presencia de pristano en las muestras da lugar a relaciones Pr/C₁₇ próximas a cero (Tabla 5.3.1). Éstas, junto con los valores de Ph/C₁₈ inferiores a la unidad detectados en la mayoría de los sedimentos (entre 0,4 y 1,0), indican la existencia de actividad microbiana independientemente de la fuente principal de estos compuestos y de los factores de anoxia, que se traduce en la generación y liberación de hidrocarburos durante la maduración de la MO (ten Haven *et al.*, 1987). La presencia de estos isoprenoides irregulares, junto con la detección del escualeno en los análisis pirolíticos de los AH, sugieren la posible contribución de bacterias termófilas y/o metanogénicas a la MO de los sedimentos (Polvillo, 2003), de acuerdo con la amplia utilización en *Geoquímica Orgánica* de isoprenoides acíclicos C₂₀-C₄₀ como biomarcadores de *Archaeobacteria* (Wakeham, 1990; Grice *et al.*, 1998).

5.3.3. *n*-Aldehídos

A pesar de estar formados por un grupo funcional muy reactivo, que les confiere un carácter muy lábil, los *n*-aldehídos son compuestos fuertemente reductores, que sólo pueden sobrevivir en medios reductores (del Río-Andrade, 1989). Este hecho ha fomentado su estudio como importantes marcadores geoquímicos de los niveles de oxidación-reducción de los sedimentos y como indicadores de los diversos caminos de reacción que tienen lugar en la masa geológica (Costa Neto, 1983).

Estos compuestos se han identificado de forma poco habitual en sedimentos (Cardoso y Chicarelli, 1983; Costa Neto, 1983; Chicarelli *et al.*, 1984) y su origen es incierto. La correspondencia entre sus distribuciones y las de *n*-alcanos en algunos sedimentos ha propuesto una hipótesis de relación precursor-marcador entre ambos tipos de compuestos (Cardoso y Chicarelli, 1983), así como la posibilidad de que su formación proceda de la oxidación de ácidos grasos insaturados (Gschwend *et al.*, 1982) y de alcoholes de ceras epicuticulares de plantas superiores (Wils *et al.*, 1982).

Según ciertos autores (Albaigés *et al.*, 1984; Cranwell, 1985), los *n*-aldehídos podrían ser productos intermediarios de oxidación microbiana de *n*-alcoholes, de acuerdo con su identificación en sedimentos lacustres, con predominio del número par de átomos de C y distribuciones similares a las de *n*-alcoholes.

La identificación de *n*-aldehídos se ha realizado a partir de sus espectros de masas característicos, que presentan un pico base a m/z 82 (Fig. 5.3.4), proveniente de la rotura del grupo $[C_6H_{10}]^+$, y fragmentos característicos a m/z $82+14n$ y $[M-18]^+$. La series observadas en los sedimentos oscilan entre unidades C_{14} y C_{34} , con un predominio general por las cadenas impares, a juzgar por los valores $IPC_{ald} < 1$ (III) de la mayoría de las muestras (Tabla 5.3.1), que indican un estado diagenético poco avanzado.

$$IPC_{ald} = [2 * \sum(C_{22} - C_{28})_{par}] / [\sum(C_{21} - C_{27})_{impar} + \sum(C_{23} - C_{29})_{impar}] \quad (III)$$

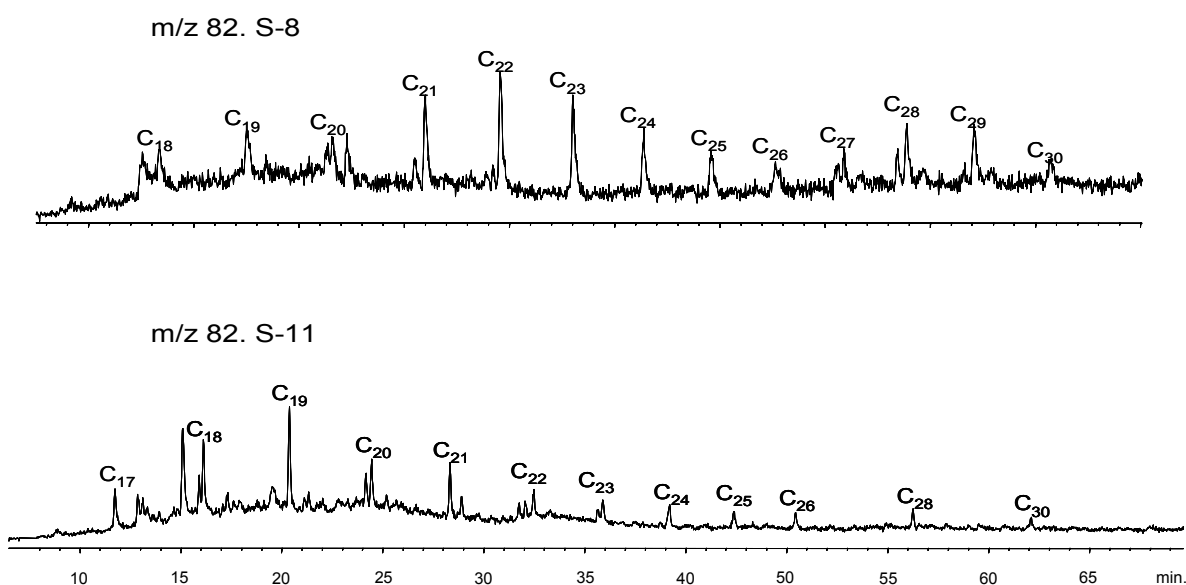


Figura 5.3.4.- Cromatogramas SIM de la traza m/z 82 (aldehídos), de los sedimentos S-8 y S-11.

Se observa un claro predominio de los homólogos de bajo peso molecular ($\leq C_{20}$), con máximos a C_{17} - C_{21} , ya sea en forma de distribuciones unimodales o bimodales compartiendo máximos relativos de mayor peso molecular. Existen pocas citas en la bibliografía sobre la identificación de *n*-aldehídos en sedimentos marinos y las pocas existentes son relativas a homólogos saturados de alto peso molecular (C_{20} -

C₃₂), encontrados en ambientes sedimentarios lacustres, estuarinos y marinos donde otros componentes alifáticos de ceras vegetales terrestres fueron identificados (Prahl y Pinto, 1987). A pesar de esta falta de información, la presencia de series *n*-aldehídos de bajo peso molecular en los sedimentos estudiados se relaciona con una producción de tipo autóctona, de forma análoga que en las familias de *n*-alcanos o *n*-alcan-2-onas.

De manera mucho más localizada, algunos sedimentos contienen *n*-aldehídos de alto peso molecular con entre 24 y 34 unidades de C (Fig. 5.3.5). Estos homólogos son dominantes en los sedimentos que presentan distribuciones unimodales y máximos a C₂₈ ó C₂₉ (S-3, S-6) o comparten contribución mixta en sedimentos con distribuciones bimodales y máximos relativos a C₂₈-C₃₁ y C₁₇-C₂₁ (S-1, S-2, S-11, S-12). Albaigés *et al.* (1984) y Cardoso y Chicarelli (1983) han documentado la presencia de series de *n*-aldehídos de más de C₂₀ en sedimentos recientes y del Terciario. Aunque la hipótesis no fue totalmente contrastada, estos autores sugirieron que estos *n*-aldehídos eran evidencia de la oxidación de diagénesis reciente de compuestos tales como *n*-alcanos procedentes de plantas superiores. Observando el paralelismo existente entre las distribuciones de *n*-aldehídos y *n*-alcanos de algunas muestras (S-4, S-5, S-7, S-9, S-10, S-11, S-12, S-13, S-15; Fig. 5.3.2) podría considerarse esta posibilidad. Sin embargo, no pasa desapercibido el hecho de que esta similitud se da de forma llamativa en aquellas muestras relacionadas con un origen fundamentalmente marino, y no tanto en las que existe una importante contribución terrestre.

Dada la escasez de referencias de *n*-aldehídos en registros sedimentarios, resulta difícil concluir si la menor concentración relativa de *n*-aldehídos en estos sedimentos, se debe a la escasez de su biosíntesis directa, ya sea de tipo autóctona o alóctona, o a que los *n*-aldehídos son productos de la alteración química de otras familias, como los *n*-alcanos, mucho más abundantes en estos sedimentos. En este último caso, las condiciones predominantemente anóxicas propuestas en la interfase sedimento-agua de la zona de estudio, podrían justificar la conservación de la pequeña cantidad de *n*-aldehídos presentes en los sedimentos, procedentes de la alteración por vía oxidativa de *n*-alcanos en procesos de diagénesis reciente.

En cualquier caso, del mismo modo que ocurría con los *n*-alcanos, los sedimentos se pueden clasificar en tres grupos, en función de la distribución de los *n*-aldehídos y según sus orígenes potenciales.

5.3. Distribución de las principales familias de marcadores moleculares lipídicos

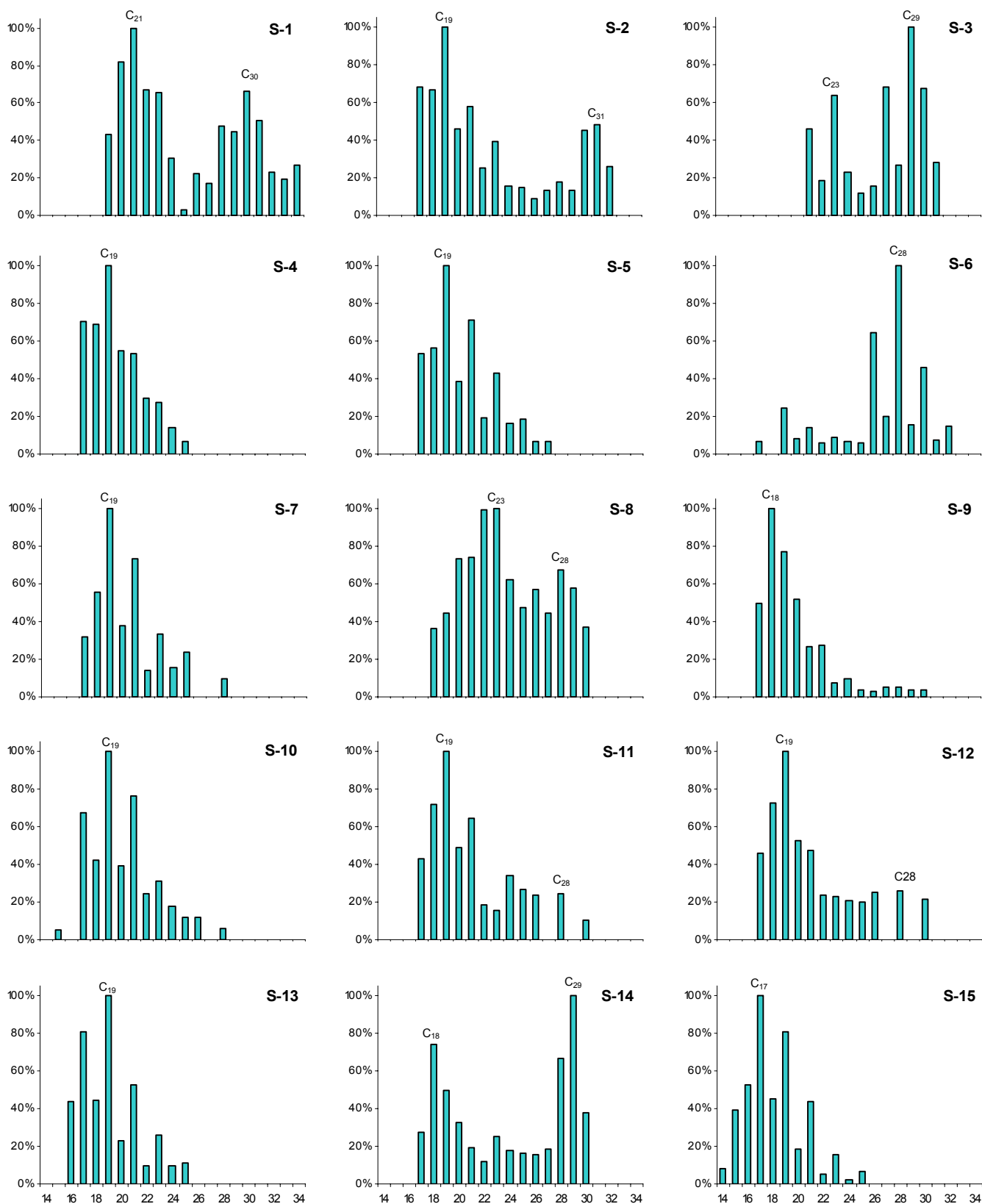


Figura 5.3.5.- Representación de la abundancia relativa (%) de los componentes de la familia de *n*-aldehídos. La abundancia de cada homólogo está normalizada respecto al compuesto más abundante en cada muestra. Los números en el eje horizontal indican el número de C de la cadena de *n*-aldehídos, resaltando en la gráfica los picos más representativos (C_n).

- Origen marino dominante, con distribución unimodal de homólogos de cadena corta y máximo principal a C₁₇-C₁₈: (S-4, S-5, S-7, S-9, S-10, S-13, S-15).
- Importante contribución terrestre, con predominio de componentes de alto peso molecular y máximos a C₂₈-C₂₉: (S-3, S-6).
- Contribución mixta de material autóctono y alóctono, con distribución bimodal y máximos relativos a C₁₇-C₂₁ y C₂₈-C₃₁: (S-1, S-2, S-8, S-11, S-12, S-14).

5.3.4. Cetonas alifáticas

Hasta hace algunos años no eran muy frecuentes los estudios sobre la presencia de este tipo de compuestos en suelos y sedimentos, probablemente debido a su escasa abundancia en ceras de plantas superiores y a su facilidad de alteración diagenética, por la degradación de las cetonas de mayor peso molecular a las de menor peso molecular (Moucawi *et al.*, 1981). Sin embargo, en los últimos años se han identificado *n*-alcan-2-onas lineales en gran variedad de ambientes deposicionales (sedimentos marinos y lacustres, suelos, turberas, hielos glaciales, paleosoles, estalagmitas, aerosoles, etc.; Bai *et al.*, 2006 y referencias citadas), entre los que destacan como medios comunes los ambientes acuáticos (Volkman *et al.*, 1983; Albaigés *et al.*, 1984; Cranwell *et al.*, 1987; Meyers e Ishiwatari, 1993; Jaffé *et al.*, 1993 y 1996; Hernández *et al.*, 2001). También se han descrito, aunque de forma mucho menos extensa, distribuciones de cetonas con el grupo carboxílico en posición C-3 (*n*-alcan-3-onas) en suelos (Bai *et al.*, 2006), kerógenos bituminosos (Derenne *et al.*, 1997; Riboulleau *et al.*, 2000), petróleos hidrotermales (Leif y Simoneit, 1995) y aerosoles (Zheng *et al.*, 1997).

La similitud encontrada entre distribuciones de *n*-alcanos de origen terrestre y *n*-alcan-2-onas ha llevado a algunos autores a proponer que las últimas podrían provenir de la oxidación sub-terminal microbiana de los correspondientes *n*-alcanos, con β -oxidación de *n*-ácidos grasos seguida de descarboxilación como vía alternativa (Cranwell *et al.*, 1987; Jaffé *et al.*, 1993; Hernández *et al.*, 2001). Sin embargo, aunque son diversos los estudios existentes que sugieren esta correspondencia, no siempre son suficientemente consistentes las similitudes encontradas para fundamentar una relación precursor-producto entre *n*-alcan-2-onas y *n*-alcanos y/o *n*-ácidos grasos (Volkman *et al.*, 1983; Hernández *et al.*, 2001). En este sentido, Jaffé *et al.*, (1993)

sugirieron la combinación de diferentes procesos diagenéticos, de asociación a sedimentos o biodegradación, como posible causa de dicha falta de correlación. Por otro lado, también se han descrito series de *n*-alcan-2-onas presentes en plantas, microalgas y fitoplancton (Rieley *et al.*, 1991; Qu *et al.*, 1999; Hernández *et al.*, 2001; González-Vila *et al.*, 2003), que sugieren la posibilidad de contribuciones biológicas directas de estas moléculas a los sedimentos.

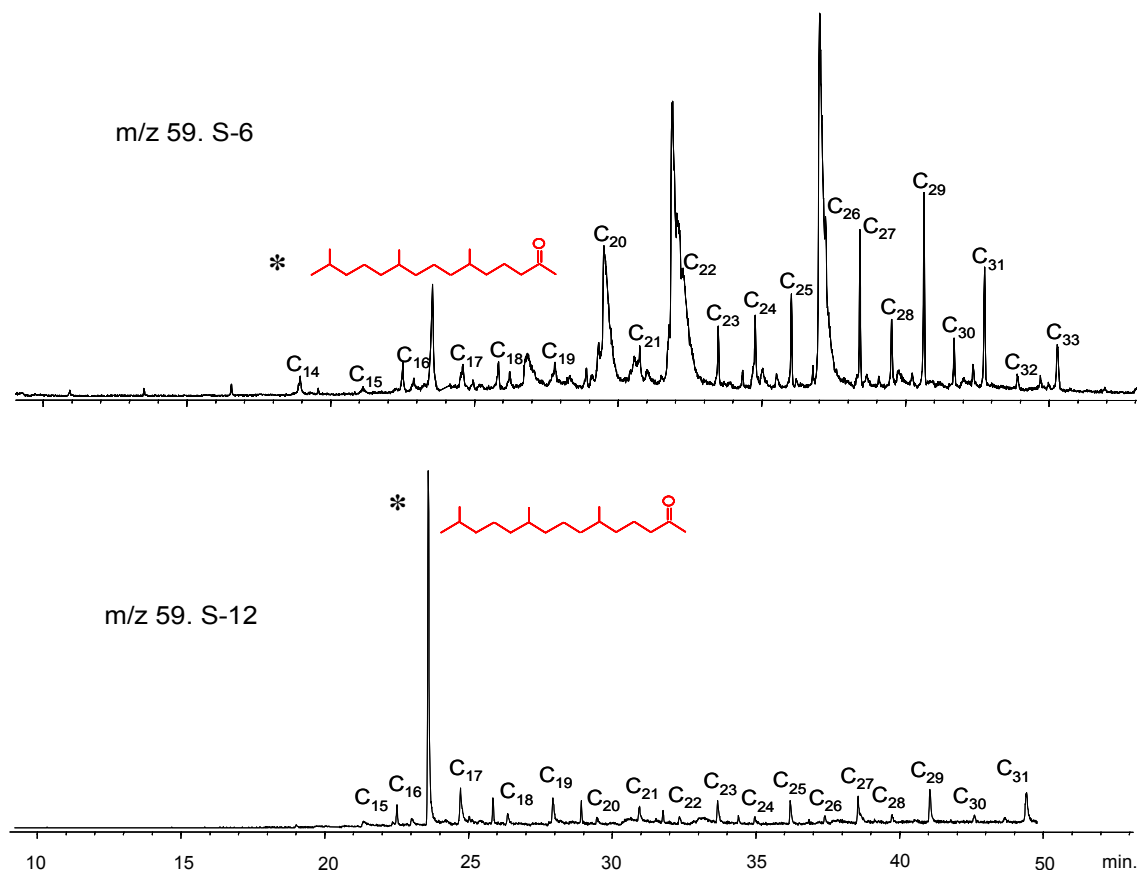


Figura 5.3.6.- Cromatogramas SIM de la traza m/z 59 (*n*-alcan-2-onas) de los sedimentos S-6 y S-12. (*) Cetona isoprenoica 6,10,14-trimetilpentadecan-2-ona.

La identificación de la serie de *n*-alcan-2-onas se ha realizado a través de su espectro de masas característico, con pico base a m/z 58 ó 59 (Fig. 5.3.6.) dependiendo de la longitud de la cadena y fragmentos a M-15, M-18, M-58 y M-60 (Cranwell, 1985). La fracción encontrada en los sedimentos está compuesta por *n*-alcan-2-onas de entre C₁₂ y C₃₃ unidades, con predominio de las cadenas impares, de acuerdo con los valores IPC_{cet} >1 (Tabla 5.3.1), calculados según la expresión IV:

$$IPC_{cet} = [2 * \sum (C_{19} - C_{31})_{\text{impar}}] / [\sum (C_{18} - C_{30})_{\text{par}} + \sum (C_{20} - C_{32})_{\text{par}}] \quad (IV)$$

5.3. Distribución de las principales familias de marcadores moleculares lipídicos

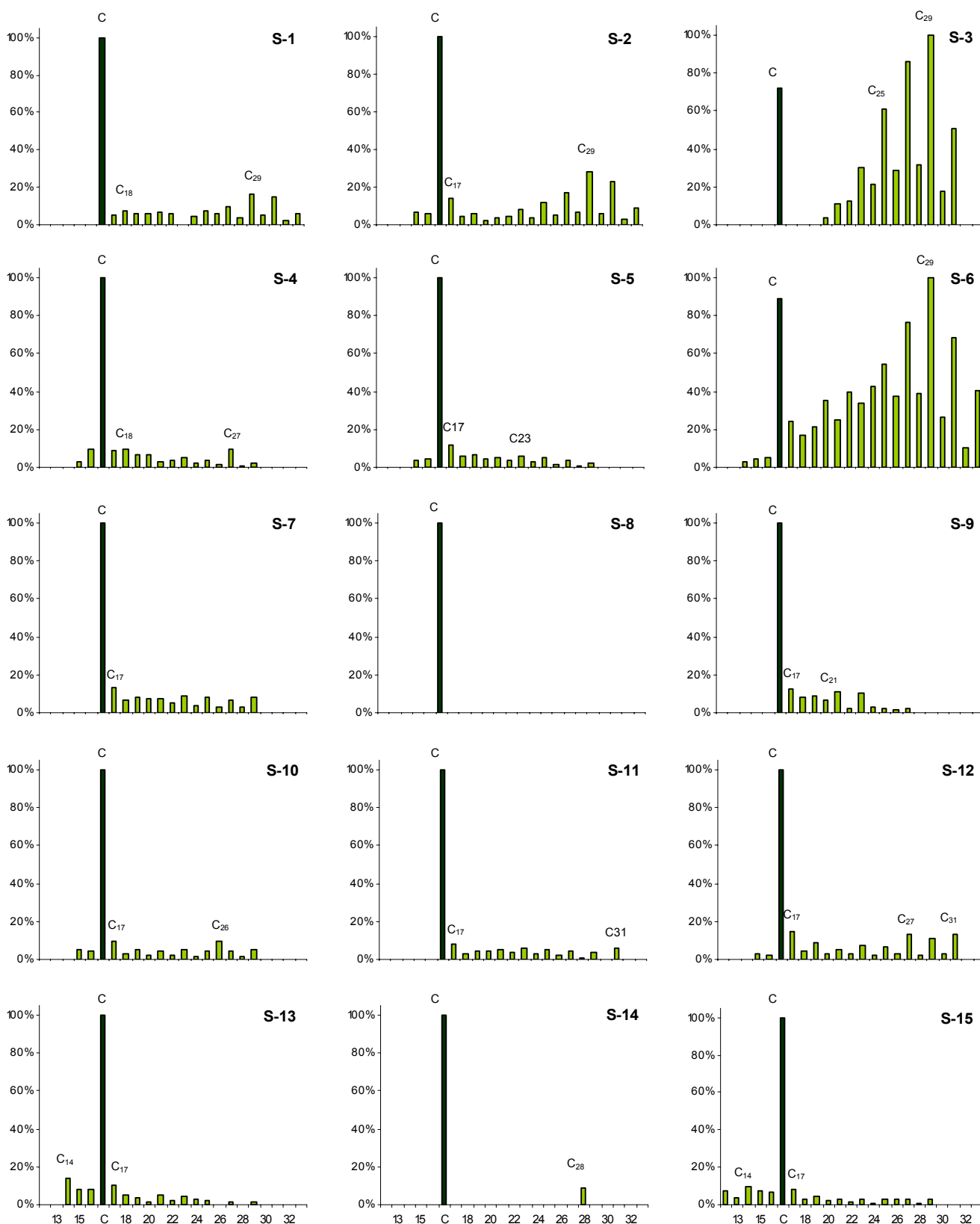


Figura 5.3.7.- Representación de la abundancia relativa (%) de los componentes de la familia de *n*-alcan-2-onas (barras verde claro). La abundancia de cada homólogo está normalizada respecto al compuesto más abundante en cada muestra. Los números en el eje horizontal indican el número de C de la cadena de *n*-alcan-2-onas, resaltando en la gráfica los picos más representativos (C_n); la barra verde oscura (C) se refiere a la cetona isoprélica C_{18} (6,10,14-trimetilpentadecan-2-ona).

En la Fig. 5.3.7 se representan estas distribuciones en forma de abundancia relativa respecto al homólogo más abundante en cada muestra. En ellas se aprecia la ausencia de un máximo dominante. Mientras que las muestras S-1, S-2, S-3, S-6 ó S-12 están compuestas por series homólogas de elevado peso molecular y C_{max} en torno a C_{27} - C_{29} , no se aprecia un máximo significativo en el resto de los sedimentos, destacando el homólogo C_{17} en algunos casos (S-5, S-7, S-13, S-15) o alternando este mismo con C_{14} , C_{27} ó C_{29} , en otros casos.

Aunque se han encontrado *n*-alcan-2-onas en gran variedad de ambientes de deposición, sus distribuciones resultan llamativamente similares, mostrando un máximo típico a C_{27} y C_{29} , ó C_{25} en algunos casos, (Rieley *et al.*, 1991; Ying y Fan, 1993; Qu *et al.*, 1999). Distribuciones de menor peso molecular pueden estar relacionadas con producción autóctona, algal o bacteriana. A pesar de que se han descrito diferentes valores de C_{max} en distribuciones de *n*-alcan-2-onas en sedimentos y biomasa de plantas, su distribución molecular suele estar caracterizada por series de alto peso molecular de homólogos con número impar de C y poca definición de un máximo particular (Hernández *et al.*, 2001). En este caso, la ausencia de un máximo dominante y la presencia generalizada de homólogos de hasta 29 unidades en casi todas los sedimentos estudiados, coincide con este patrón y establece similitudes con distribuciones encontradas en una amplia variedad de medios de deposición acuáticos y terrestres caracterizados por la entrada de MO de plantas superiores o microbiana (Jaffé *et al.*, 1995; Hernández *et al.*, 2001).

La ausencia de máximo dominante no se cumple, sin embargo, en muestras como S-1, S-2, S-3 o S-6, en las que los homólogos C_{27} , C_{29} y C_{31} dominan el perfil, con predominio del compuesto C_{29} . Se han identificado distribuciones de *n*-alcan-2-onas en muestras vegetales terrestres que presentan máximos entre C_{27} - C_{31} (e.g. Hernández *et al.*, 2001; Bai *et al.*, 2006), lo que parece reforzar la idea sobre una contribución significativa de carácter terrestre en la MOS de estos puntos, especialmente llamativa en el caso de la muestra S-3, que exhibe una distribución típica de plantas superiores. La presencia alternativa en el resto de muestras de los homólogos C_{14} , C_{17} y C_{27} - C_{31} pone de manifiesto la ausencia de un homólogo dominante y refleja la incidencia de MO de carácter autóctono, de manera significativa en algunos puntos (S-5, S-7, S-9, S-13, S-15), que exhiben cadenas centradas a C_{14} ó C_{17} , asociadas a un origen no terrestre (Simoneit *et al.*, 1979). En las muestras S-4, S-11 y S-12 se aprecia la contribución mixta de las dos poblaciones de compuestos

(autóctona y alóctona), con distribuciones bimodales de máximos a C_{16} - C_{18} y C_{27} - C_{31} , respectivamente.

Existe cierta similitud en las distribuciones de *n*-alcan-2-onas y *n*-alcanos de algunas muestras (S-3, S-5, S-7, S-9, S-12, S-13 y S-15; Fig. 5.3.2 y 5.3.7), que pueden llevar a considerar la posibilidad de que las primeras provengan de la oxidación microbiana de los últimos. La identificación de *n*-alcan-2-onas con máximos en torno a C_{17} y predominio impar poco acusado en carbones (Chaffe, 1981) que se caracterizan por sufrir importante actividad diagenética y microbiana, podrían recordar las distribuciones observadas en algunas de las presentes muestras. Sin embargo, la falta de consistencia anteriormente citada en la relación precursor-producto entre ambos compuestos dificulta la confirmación de esta teoría. Tampoco se observa en ninguna de las muestra con distribuciones *n*-alcan-2-onas típicamente centradas en el intervalo C_{27} - C_{31} , una imposición de la señal algal (series < C_{24}) sobre la de plantas terrestres en la distribución de *n*-alcanos, que sería potencialmente indicativa de esta actividad microbiana oxidativa (Volkman *et al.*, 1980) y apoyaría esta teoría.

El fuerte dominio del homólogo C_{25} , seguido de C_{23} , documentado por diversos autores para extractos de fanerógamas marinas (Rieley *et al.*, 1991; Ying y Fan, 1993; Qu *et al.*, 1999, Hernández *et al.*, 2001; Jaffé *et al.*, 2001) y de macrofitas y macroalgas acuáticas (*Utricularia* sp. y *Chara* sp., respectivamente), con distribuciones entre C_{23} y C_{27} con marcado carácter impar (Jaffé *et al.*, 2001), no se aprecia de forma significativa en este estudio. La presencia generalizada del homólogo C_{25} en las muestras indica que hay contribución de praderas marinas y otras fanerógamas marinas en los sedimentos, pero no parece que sean los componentes dominantes.

La relación descrita entre el homólogo C_{25} y las fanerógamas marinas ha llevado a proponer el uso de la razón C_{25}/C_{27} como indicadora de este tipo de MO en sedimentos costeros y estuarinos (Hernández *et al.*, 2001), de forma que valores altos de esta relación en lugares bajos de estuario se consideraron indicativos de entradas importantes de MO de fanerógamas marinas vs. MO terrestre o planctónica (Jaffé *et al.*, 2001). Así, las relaciones C_{25}/C_{27} próximas o ligeramente superiores a la unidad encontradas en las muestras S-5, S-7, S-10, S-13 y S-15 (Tabla 5.3.1), podrían indicar cierta contribución de este tipo de organismos, mientras que los valores inferiores a 1 de las demás sugieren i) mayor contribución terrestre por predominio del homólogo C_{27} (S-1, S-2, S-3, S-6, S-12) o ii) la participación otro tipo de producción marina distinta

de la de las fanerógamas marinas con el dominio de series $<C_{20}$ (planctónica, béntica, bacteriana, etc).

Por otro lado, se ha identificado en todos los sedimentos una cetona isoprénica C_{18} , denominada 6,10,14-trimetilpentadecan-2-ona (C), que representa el compuesto más abundante de la serie (Fig. 5.3.7). La presencia constante de este compuesto en todas las muestras y su abundancia relativa dentro de la familia de las cetonas (14-90%), señala la importancia del aporte de organismos fotosintéticos a la MO de los sedimentos, por considerarse procedente de la degradación de la cadena del fitol y por tanto derivado de la colorofila (Ikan *et al.*, 1973; de Leeuw *et al.*, 1980; Volkman y Maxwell, 1986).

5.3.5. *n*-Ácidos alcanoicos

Los *n*-ácidos alcanoicos constituyen uno de los bloques de construcción más importantes de los materiales celulares (Kaneda, 1991). Están ampliamente distribuidos en la naturaleza y se han encontrado tanto en muestras geológicas recientes como antiguas (Vandergrift *et al.*, 1980; Chaffee *et al.*, 1981; Ekman y Ketola, 1981; Smith *et al.*, 1983), utilizándose como marcadores biológicos en todo tipo de sedimentos para inferir la contribución de organismos específicos (Johns *et al.*, 1966; Cranwell, 1973; Perry *et al.*, 1979). Así, los ácidos alcanoicos de cadena larga ($>C_{22}$) derivan en gran parte de plantas superiores (Tulloch *et al.*, 1976; Nip *et al.*, 1986 a y b), mientras que los de cadena corta tienen un origen más universal, característicos de algas y microorganismos (Oró *et al.*, 1965; Park y Berger, 1967; Kolattukudy, 1976; Volkman *et al.*, 1980; Kawamura e Ishiwatari, 1984).

Los ácidos alcanoicos lineales se identifican fácilmente a partir de los espectros de masas característicos de sus correspondientes metil-ésteres, formados en el proceso de derivatización, que presentan un pico base a m/z 74 (Fig. 5.3.8) y fragmentos típicos a m/z 87, 101, 143, 199 y mediante su ión molecular, intenso y fácilmente apreciable. Cuando estos componentes presentan cadenas de más de 6 unidades de C se les puede denominar ácidos grasos.

La serie de *n*-ácidos grasos lineales encontradas en los sedimentos oscilan entre C_{12} y C_{32} unidades, con predominio de C pares, indicativo de un origen biogénico reciente (Simoneit y Mazurek, 1982). En la Fig. 5.3.9 se representan las abundancias

relativas de *n*-ácidos grasos, normalizadas con respecto al homólogo más abundante en cada muestra.

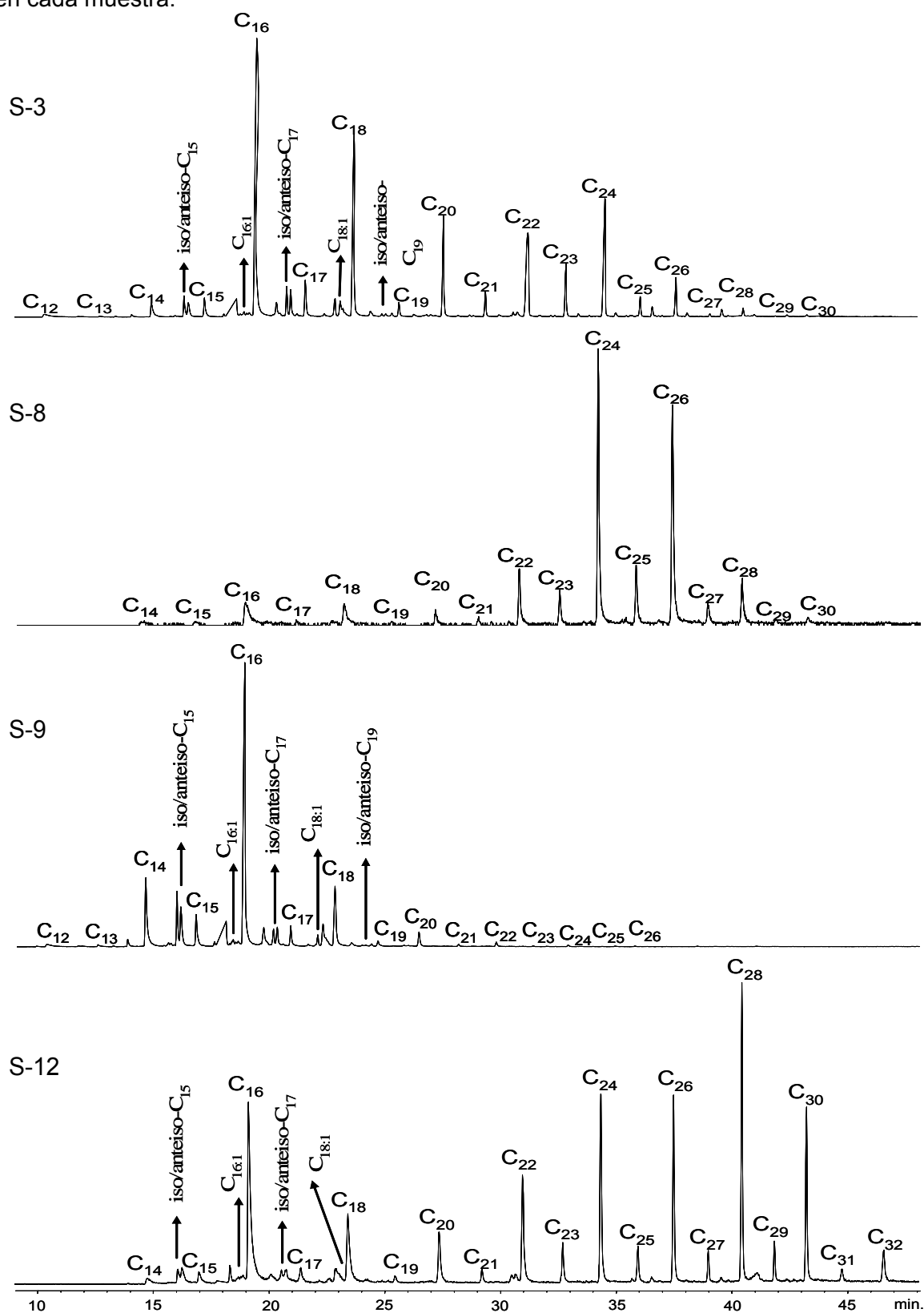


Figura 5.3.8.- Cromatogramas SIM de los sedimentos más representativos (S-1, S-3, S-8, S-15) de la traza m/z 74 (*n*-ácidos grasos). Iso/anteiso-C_{*n*}: par de isómeros ramificados del ácidos C_{*n*} correspondiente; C_{*n*:1}: ácido C_{*n*} monoinsaturado.

El carácter par de la serie se observa a partir de los valores $IPC_{AG} < 1$, calculados según la expresión (V) de Kvenvolden (1966):

$$IPC_{ag} = [2 * \sum(C_{12} - C_{28})_{par}] / [\sum(C_{11} - C_{27})_{impar} + \sum(C_{13} - C_{29})_{impar}] \quad (V)$$

Los valores obtenidos de IPC_{ag} se recogen en la Tabla 5.3.1, donde se puede apreciar que varían entre 4,7 y 11,3. Los mayores índices se encuentran en las muestras S-1, S-10 y S-15, indicando un menor estado de madurez de estos sedimentos, de acuerdo con la disminución del predominio par a medida que aumenta la edad de los mismos, debido a la progresiva alteración diagenética de la distribución de ácidos grasos originales (del Río Andrade, 1989).

La serie de *n*-ácidos grasos no refleja de forma tan evidente los distintos patrones de contribución autóctona-alóctona observados en las series de la fracción neutra (*n*-alcanos, *n*-aldehídos, *n*-alcan-2-onas), aunque se aprecian diferencias en el tipo de aporte, tal y como puede ver en la Fig. 5.3.8, que representa la distribución de la traza SIM *m/z* 74 de cuatro muestras representativas. La mayoría de los sedimentos presentan distribuciones con un máximo dominante a C_{16} (ácido palmítico) y otro secundario a C_{18} (ácido esteárico), con apenas variaciones entre unas muestras y otras. El ácido alcanoico C_{16} es ubicuo en la biosfera, pudiendo encontrarse en plantas superiores, algas acuáticas, bacterias u otros microorganismos (Meyers, 1997). Su predominio en todos los sedimentos, incluidos aquellos que registran mayor contribución terrestre según otros parámetros (S-1, S-2, S-3, S-6, S-11 ó S-12), sugiere la posibilidad de que se haya producido una utilización microbiana y resíntesis de los ácidos grasos más reactivos. La relativamente pequeña contribución de los ácidos grasos de cadena larga, más fácilmente preservables a priori, encontrada en las muestras indica una menor participación de los lípidos derivados de plantas superiores, en comparación con los derivados de algas (Meyers, 1997).

En cualquier caso, se observan repuntes de las fracciones más pesadas (C_{22} - C_{30}) en algunas muestras (S-2, S-3, S-6, S-8, S-11 ó S-12), donde adquieren importancia los máximos relativos a C_{22} , C_{24} ó C_{28} , que se atribuyen a fuentes alóctonas de MO (Cranwell, 1978). Almendros *et al.*, (1996) describieron series de ácidos grasos procedentes de las ceras de plantas superiores con distribuciones similares a las encontradas en estos sedimentos, con un máximo dominante a C_{16} y contribuciones importantes entre C_{22} - C_{24} . Además de los homólogos de cadena superior a C_{22} , estas muestras presentan IPC_{ag} algo menores que el resto de los sedimentos (Tabla 5.3.1) y

similares a los descritos por Cranwell (1978) en lípidos extraídos de plantas vasculares ($IPC_{ag}=7,7$). Aunque existen pequeñas cantidades de lípidos libres en ceras superficiales de plantas superiores (Tulloch *et al.*, 1976), son abundantes en la biosfera derivados tales como ésteres de ceras y glicéridos, que producen ácidos por hidrólisis. La presencia en estas muestras de los ácidos C_{16} y C_{18} saturados y monoinsaturados (descritos más adelante), relacionados con glicéridos (Cranwell, 1978), refuerza la hipótesis de participación de fuentes alóctonas en estos sedimentos.

Las series de menor peso molecular ($<C_{22}$), centradas en C_{16} , que se observan en el resto de las muestras se relacionan con aportes autóctonos. Éstas son similares a las encontradas previamente por otros autores en sedimentos y otros materiales ricos en restos de MO de origen marino (plancton, algas, diatomeas y cultivos de diatomeas; Venkatesan, 1988; Volkman *et al.*, 1989) y difieren, en general, de las encontradas en suelos ricos en ácidos grasos de cadena larga procedentes de las ceras de plantas superiores (Almendros *et al.*, 1996). Tampoco es despreciable la contribución más o menos constante (c.a. 10%) del homólogo C_{14} en la mayoría de los sedimentos.

De acuerdo con Bourbonniere y Meyers (1996), el índice biogeoquímico TAR (*terrigenous/aquatic ratio*) de los ácidos grasos se calcula según la expresión VI. Este parámetro, utilizado para diferenciar las aportaciones de origen terrestre y marino en material sedimentario, aportan poca información en el caso de los *n*-ácidos grasos, ya que se han determinado índices inferiores a la unidad en todas las muestras, con excepción de S-8 y S-12 (Tabla 5.3.1). En general, valores bajos de este parámetro indican mayor contribución de ácidos grasos de origen marino, mientras que valores altos se consideran indicativos de aportes terrestres. Sin embargo, estos últimos también pueden significar una degradación preferencial de los ácidos grasos de origen acuático frente a los de cadena larga, como podría ser el caso de la muestra S-8, cuyo dominio de los homólogos C_{24} y C_{26} y menor concentración de C_{16} difiere de los resultados descritos para otros parámetros (*n*-alcanos, isoprenoides, C/N, $\delta^{13}C$), que sugieren un carácter predominantemente marino de este sedimento, de acuerdo con su situación alejada de costa. Por otro lado, el valor $TAR_{ag} > 1$ encontrado en S-12, coincide con la propuesta de cierta influencia terrestre planteada en el análisis de *n*-alcanos. Los valores del resto de las muestras (< 1), con máximo a C_{16} , no permiten distinguir contribuciones de tipo terrestre, sugiriendo un origen predominantemente autóctono.

$$TAR_{ag} = [(C_{24} + C_{26} + C_{28}) / (C_{12} + C_{14} + C_{16})] \quad (VI)$$

5.3. Distribución de las principales familias de marcadores moleculares lipídicos

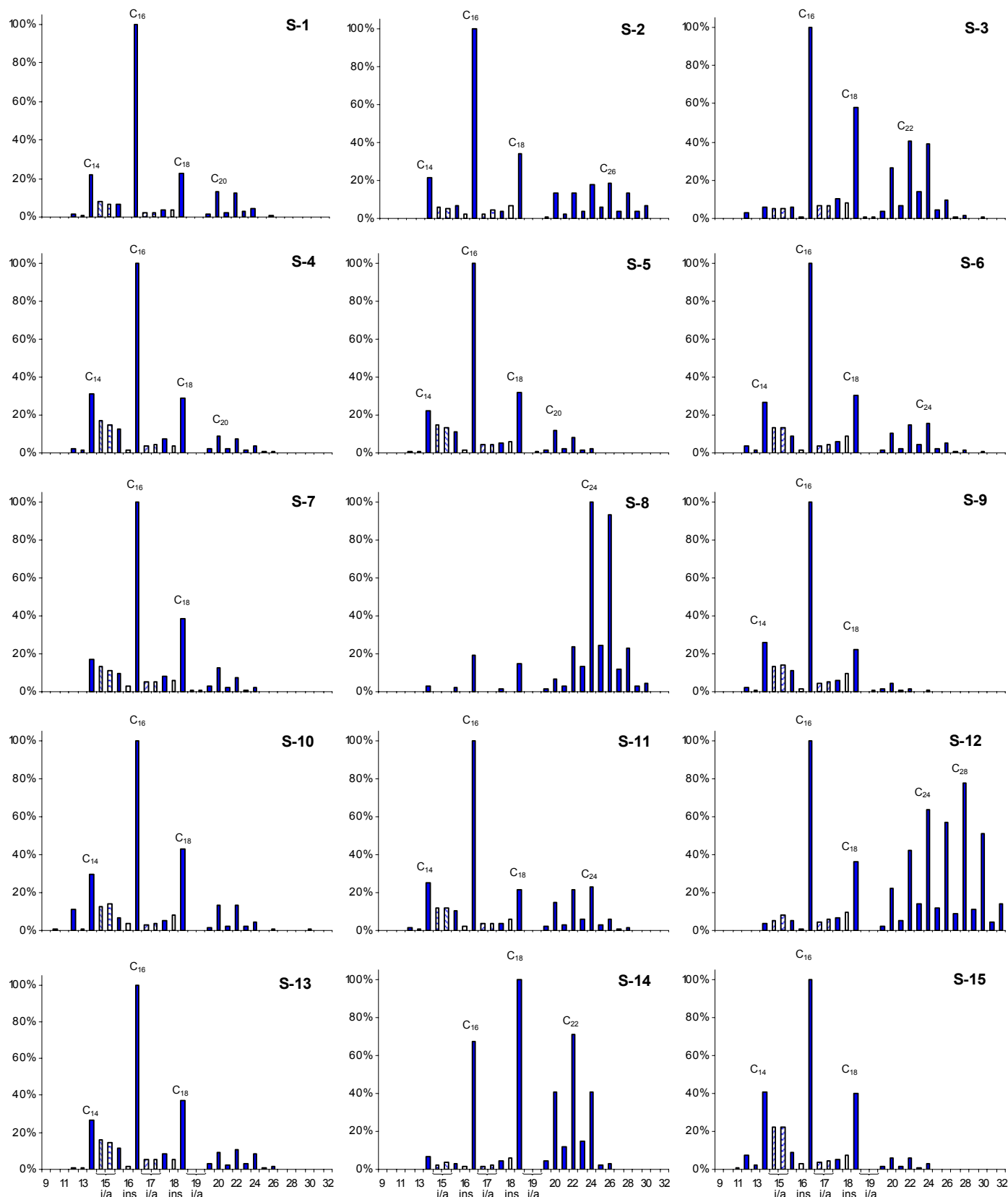


Figura 5.3.9.- Representación de la abundancia relativa (%) de los componentes de la familia de *n*-ácidos alcanoicos: homólogos saturados (barras llenas), par de isómeros iso/anteiso (*i/a*, barras rayadas) y homólogos insaturados (barra blanca). La abundancia de cada homólogo está normalizada respecto al compuesto más abundante en cada muestra. Los números en el eje horizontal indican el número de C de la cadena de *n*-ácidos alcanoicos, resaltando en la gráfica los picos más representativos (C_n).

Junto con los ácidos grasos lineales, se han encontrado series de ácidos grasos ramificados (*iso-/anteiso-*, Fig. 5.3.10) característicos de actividad microbiana (Almendros *et al.*, 1996). Las cadenas de C ramificadas en posición *iso-/anteiso-* constituyen bloques de construcción muy extendidos entre los lípidos de bacterias (Thiel *et al.*, 1999). Los ácidos grasos terminalmente ramificados se encuentran de forma ubicua en sedimentos fósiles y modernos, siendo bien aceptados como marcadores moleculares de MO derivada de bacterias, particularmente sulfato-reductoras (Boon *et al.*, 1977 a; Edlund *et al.*, 1985). Son isómeros de ácidos lineales, que presentan su mismo peso molecular (M) y se diferencian de éstos en la detección de los picos M-15, M-43, M-57, correspondientes a la pérdida de los grupos metilo, isopropilo o isobutilo respectivamente, en los espectros de masa de la traza m/z 74. La presencia constante de derivados *iso-/anteiso-* C₁₅, C₁₇ y, en menor medida, C₁₉ en los sedimentos (Fig. 5.3.9) se atribuye a la entrada de material microbiano, que es producido por microorganismos y no se encuentra fácilmente en plantas superiores (Tulloch *et al.*, 1976; Harwood y Russell, 1984; Perry *et al.*, 1979; Kaneda, 1991).



Figura 5.3.10.- Ilustración del par de isómeros ramificados *iso-* y *anteiso-* del ácido graso pentadecanoico (C₁₅).

Por otro lado, se han encontrado restos de ácidos grasos monoinsaturados (C_{16:1}: ácido palmítico y C_{18:1}: ácido oleico) en casi todas las muestras, procedentes principalmente de algas (Cranwell *et al.*, 1987). Aunque se encuentran en pequeñas proporciones, estos ácidos se pueden considerar indicadores de biogénesis recientes, por ser muy reactivos y degradarse o condensarse fácilmente, siendo además susceptibles al ataque bacteriano durante las primeras etapas de sedimentación y diagénesis (Rhead *et al.*, 1971). Jaffé *et al.*, (2001) describieron fracciones ácidas con contenido exclusivo de ácidos de cadena corta en macrofitas y microalgas (*Utricularia* sp. y *Chara* sp.), con abundancia de ácidos grasos insaturados como C_{16:1}, C_{18:1} ó C_{18:2}. La detección de estos compuestos en los sedimentos estudiados, sugiere que se han producido pocas alteraciones diagenéticas drásticas (Cranwell *et al.*, 1987).

Además de la asociación entre ácidos C₁₆ y C₁₈ con derivados glicéricos de plantas superiores citado anteriormente (Cranwell, 1978), la combinación de estudios palinológicos y geoquímicos ha mostrado cierta correlación de los homólogos insaturados y saturados de estos ácidos, con las condiciones paleoclimáticas de deposición (Kawamura e Ishiwatari, 1981). En la Tabla 5.3.1 se recogen las relaciones entre los ácidos monoinsaturados identificados en los sedimentos y sus correspondientes homólogos saturados (C_{16:1}/C_{16:0} y C_{18:1}/C_{18:0}), mostrando valores más o menos constantes (<1) en toda la serie. Cambios considerables en estas relaciones pueden asociarse con alteraciones de las condiciones climáticas (Kawamura e Ishiwatari, 1981) y/o cambios producidos en las primeras etapas de diagénesis (Kawamura *et al.*, 1980). Una bajada de temperatura podría causar un aumento del zooplancton, que supondría un mayor aporte de ácidos grasos insaturados (Jefferies, 1970), aunque, por otra parte, la baja temperatura podría ralentizar a su vez la degradación de los ácidos insaturados, menos estables que sus homólogos saturados. En ambos casos se vería alterada la relación entre el ácido insaturado y el saturado. Aunque la detección de alteraciones climáticas no tiene mucho sentido en una área tan limitada, las escasas variaciones observadas en estas relaciones C_{16:1}/C_{16:0} y C_{18:1}/C_{18:0} de los sedimentos indican que tampoco se han producido grandes alteraciones diagenéticas a lo largo de la zona de estudio.

5.3.6. *n*-Ácidos alcanodioicos

Se han encontrado, junto con los *n*-ácidos grasos, series de ácidos alcanodioicos en la fracción ácida de los sedimentos, identificadas por medio de su ión característico *m/z* 98. A pesar de la escasa abundancia relativa de esta familia en los sedimentos, se puede distinguir el predominio de homólogos pares entre 16 y 26 unidades de C (Fig. 5.3.11).

Los ácidos alcanodioicos se han descrito en ambientes diversos (Boon *et al.*, 1977 b; Volkman *et al.*, 1980; ten Haven, 1986), siendo la distribución más común la representada por homólogos de entre 12 y 34 átomos de C, con fuerte predominio de los de índice par. Estos compuestos pueden provenir de la oxidación microbiana de los ácidos alcanóicos (Kusunose *et al.*, 1964; Ishiwatari y Hanya, 1975) o de los hidroxiácidos de cutinas y suberinas (Cranwell, 1978), propias del medio terrestre.

La series aisladas en este trabajo presentan distribuciones entre C₉ y C₂₆, aunque los homólogos <C₁₆ son escasos, habiéndose detectado únicamente en la

muestra S-1. Además, ningún compuesto de la familia de ácidos *n*-alcanodioicos fue detectado en las muestras S-2, S-8 y S-14. La preferencia por las cadenas pares y el máximo dominante a C₂₂ (Fig. 5.3.12), seguido de los homólogos C₁₆ y C₂₄, son características generales del conjunto de los sedimentos estudiados. Sin embargo, el mayor peso relativo del homólogo C₂₄ sólo se observa de manera evidente en algunas muestras (S-3, S-6, S-11, S-12), representativas de un mayor componente terrestre. La presencia de estos compuestos en los sedimentos se relaciona con una contribución directa de plantas superiores (Polvillo, 2003).

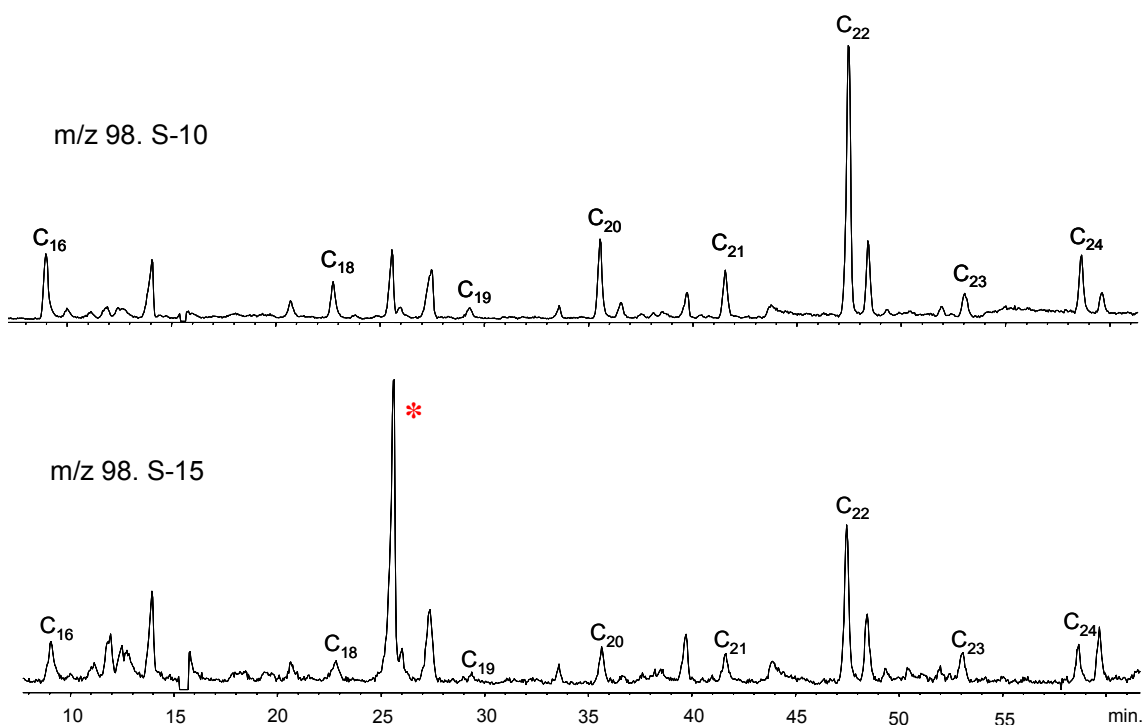


Figura 5.3.11.- Cromatogramas SIM de la traza m/z 98 (ácidos alcanodioicos), de los sedimentos S-10 y S-15. * Pico correspondiente al ácido *n*-docosenoico metil éster.

5.3. Distribución de las principales familias de marcadores moleculares lipídicos

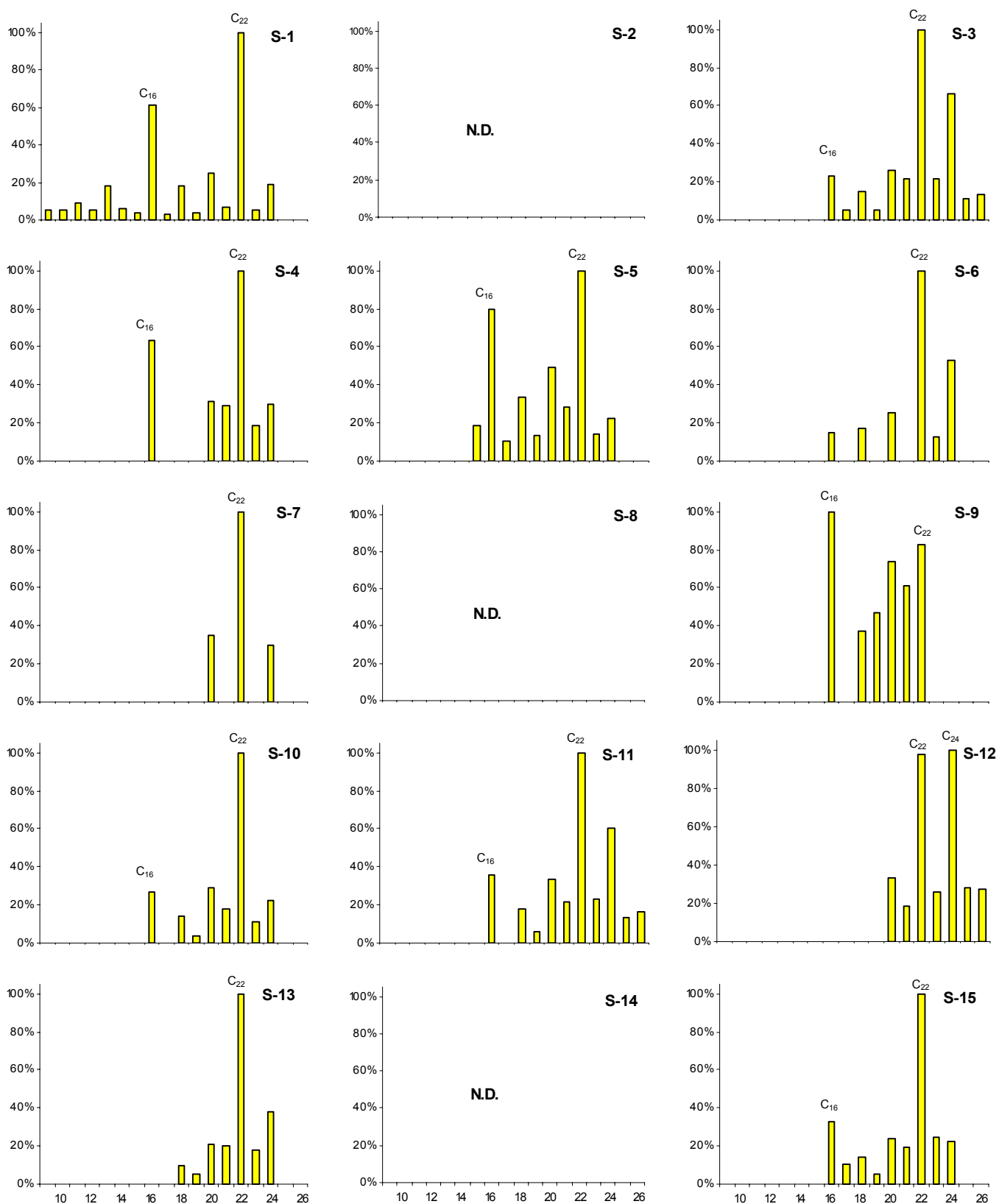


Figura 5.3.12.- Representación de la abundancia relativa (%) de los componentes de la familia de *n*-ácidos alcanodioicos. La abundancia de cada homólogo está normalizada respecto al compuesto más abundante en cada muestra. Los números en el eje horizontal indican el número de C de la cadena de *n*-ácidos alcanodioicos, resaltando en la gráfica los picos más representativos (C_n). N.D.: no detectado.

5.3.7. Ácidos resínicos

Los ácidos resínicos son biomarcadores ampliamente estudiados, que tienen estructura terpenoica y proceden de precursores biógenos de las familias de pimaranos, abietanos, labdanos, etc. (Gough, 1964; Thomas, 1970). Son compuestos muy abundantes en resinas de plantas superiores, especialmente coníferas (abietanos y pimaranos), por lo que se pueden usar como marcadores genéricos de origen terrestre. Algunos compuestos, sin embargo, son indicadores exclusivos de ciertas familias, como es el caso del fenol derivado del ácido abietico (ferruginol), que aparece en coníferas de la familia de los cipreses (*Cupressaceae*), o los ácidos dehidroabiético, abiético y derivados, que son compuestos mayoritarios en la familia de los pinos (*Pinaceae*), pero no contienen derivados fenólicos del ácido abiético, ni ningún compuesto derivado de los totaranos. La presencia de estos derivados diterpenoicos en algunos medios puede deberse a un transporte eólico (Simoneit, 1977; Otto y Simoneit, 2001 y referencias citadas).

Aunque el principal origen de los diterpenoides es de tipo terrestre, particularmente relacionado con resinas, aceites, rocas y carbones (Philp, 1985), también se les considera componentes minoritarios de ciertos organismos marinos, asociados a material algal (Philp *et al.*, 1981; Philp *et al.*, 1982).

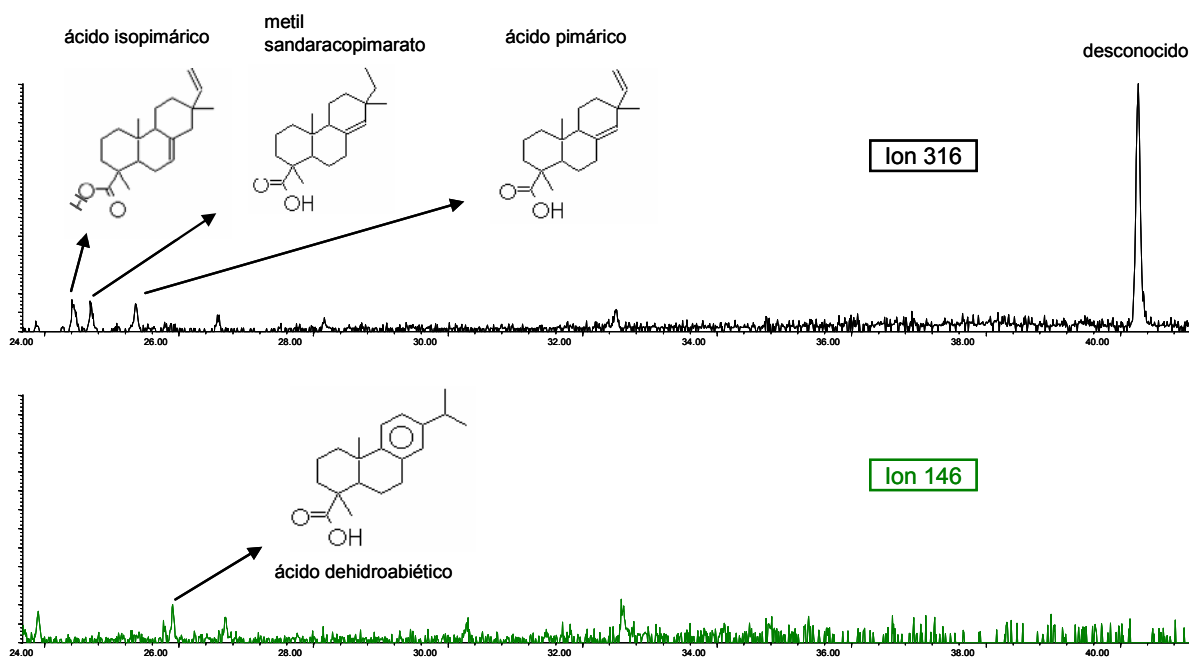


Figura 5.3.13.- Cromatogramas SIM de las trazas m/z 316 y 146 correspondientes a los ácidos resínicos de la muestra S-10.

Se han encontrado restos de ácidos resínicos a nivel de traza en la mayoría de los sedimentos. En la Fig. 5.3.13 se representa el espectro cromatográfico de los iones 146 y 316 de la muestra S-10, donde se distinguen ligeramente los picos correspondientes a los compuestos diterpenoides identificados. El ácido dehidroabietico (m/z 146) se ha detectado a nivel meramente presencial en la mayoría de las muestras. Este es el compuesto diterpenoico más abundante de la geosfera, ya que puede permanecer inalterado durante periodos de tiempo geológicos, y proviene de la conversión rápida de los ácidos abiéticos presentes en las resinas de plantas superiores (Chang y Mead, 1971; Ekman, 1979). Su presencia en los sedimentos, aunque escasa, refleja la contribución de componentes de detritus de resinas terrestres en el medio sedimentario.

Junto con el ácido dehidroabiético y en concentraciones similares, se han detectado isómeros del ácido isopimárico, pimárico y sandaracopimárico en la traza m/z 316, así como un compuesto no identificado, que es el de mayor abundancia relativa (Fig. 5.3.13). No se ha detectado, sin embargo, restos de los ácidos palústrico y levopimárico, presentes en muestras de sedimentos del área estuarina del Guadiana descritos por Polvillo (2003), más afectada por la influencia terrestre. Los diterpenos identificados son particularmente abundantes en las resinas de las coníferas, provenientes probablemente de masas vegetales que se habrían enterrado rápidamente preservándose así de la oxidación y la biodegradación, bajo las condiciones de formación de este depósito.

5.4. CARACTERIZACIÓN GEOQUÍMICA DE LOS ÁCIDOS HÚMICOS.

Las SH se forman comúnmente durante la descomposición de residuos de plantas y microorganismos, por preservación selectiva y transformación de los constituyentes más resistentes a la biodegradación, como la lignina (teoría de la lignina; Waksman, 1932) y los polímeros alifáticos, o por condensación de productos de degradación de bajo peso molecular, como fenoles, ácidos fenólicos (teoría de los polifenoles; Flaig *et al.*, 1975), azúcares y aminoácidos (teoría de los azúcares y aminoácidos; Ikan *et al.*, 1986). A las citadas vías de formación de SH en suelos, se añaden distintos posibles mecanismos de formación, que incluyen la degradación de organismos acuáticos y sedimentos. La materia húmica acuática constituye una matriz especialmente compleja, por implicar la condensación de biopolímeros derivados de productos de descomposición de plantas, animales y biomasa bacteriana (Debyser y Gadel, 1977), de origen tanto autóctono, como alóctono, por lavado y lixiviación de la MO de los suelos (Gadel y Bruchet, 1987).

Dentro de una serie de limitaciones derivadas de la inherente complejidad química de las SH (Stevenson, 1994), el estudio de su composición elemental proporciona información genérica sobre la naturaleza y el origen de los AH. Según Hayes y Swift (1978), para extraer conclusiones de tipo estructural de los análisis elementales de las SH es necesario comparar sustancias que contengan un porcentaje similar de los mismos grupos funcionales, una distribución similar de fracciones de igual peso molecular y estructuras terciarias comparables, requisitos difíciles de encontrar en materiales tan complejos.

5.4.1. Análisis elemental de los ácidos húmicos

En la Tabla 5.4.1 se recogen los resultados del análisis elemental de los AH libres de cenizas y sus relaciones atómicas (C/N, H/C, O/C y S/C). Además, se presenta también la composición elemental de otros materiales descritos en la bibliografía, interesantes desde el punto de vista comparativo de caracterización geoquímica, tales como MO de turba (Preston *et al.*, 1984), lignito (Cubero, 1985), suelo (Stevenson, 1994), sedimento (Polvillo, 2003) o AH acuáticos (Thurman, 1985). El elemento mayoritario de los AH es el C y oscila entre 42% y 53% en los sedimentos estudiados. De acuerdo con Thurman (1985), el contenido medio de los AH acuáticos varía entre 45% y 55%, con un valor medio de 52%. Las diferencias que existen con los valores obtenidos para las muestras de lignito, turba o suelo pueden estar relacionadas con el mayor contenido en carbohidratos de estas muestras terrestres,

que resultan en proporciones mayores de C (53-60 %; Tabla 5.4.1). Los contenidos de H, sin embargo, son muy homogéneos en el conjunto de los AH estudiados (4,4-5,2 %) y los materiales de referencia (4-6%). Un incremento en el contenido de H refleja un aumento del carácter alifático, con respecto al aromático, aunque donde verdaderamente se aprecian estas variaciones es en la relación H/C, que informa sobre el grado de saturación de los átomos de C. Los valores de S (0,72-1,34 %), ligeramente superiores a los de las muestras terrestres (lignito, turba, suelo) y sustancialmente inferiores al del sedimento, se encuentran dentro del rango típico de los AH acuáticos (0,6-1 %). Esto puede deberse a que el S se incorpora fácilmente a las SH en aquellos ambientes reductores con presencia de H₂S, mercaptanos u otros compuestos orgánicos sulfurosos (Thurman, 1985).

Los valores obtenidos de N (3,6-5,2 %) son más elevados que los observados en la mayoría de las muestras terrestres y los AH acuáticos de referencia. La acumulación de N en sedimentos acuáticos está relacionada con numerosos mecanismos, que incluyen la adsorción de MO marina rica en N en los minerales de la arcilla, por medio de puentes de H o simple intercambio catiónico, la precipitación de MO que contiene N o la mineralización de N orgánico disuelto por acción de bacterias heterotróficas (Thurman, 1985). Finalmente, el contenido de O de los AH estudiados varía en un rango muy similar (36,8-47,1 %) al los de los materiales terrestres y se encuentra dentro del intervalo típico de los AH acuáticos (30-40 %). En general, se aprecia una relativa homogeneidad en la distribución del contenido de los cinco elementos en el conjunto de los sedimentos, sin que exista tendencia alguna en la distribución espacial de los sedimentos.

Las relaciones atómicas de los elementos aportan información acerca del origen y grado de evolución de los AH. El carácter predominantemente autóctono de la MOS da lugar a AH con relaciones C/N (9,38-15,97) similares a los valores típicos de sedimentos marinos (Thurman, 1985) e inferiores a los de las muestras de referencia, particularmente la del lignito (62,4; Tabla 5.4.1). En AH de la laguna mediterránea de Sigean (C/N=10,4) se encontraron relaciones C/N próximas a las de los AH estudiados, que se interpretaron como derivadas de la contribución mixta de algas y fanerógamas en los procesos de sedimentación (Gadel y Bruchet, 1987). Los valores presentados por la relación H/C (1,04-1,35) se encuentran en el rango típico de los AH acuáticos (1-1,1) y los sedimentos de referencia (1,37), indicando un grado de saturación similar en todos ellos, relacionado con los dobles enlaces C=C, C=O o C=N y con la formación de estructuras cíclicas. La relación atómica H/C está relacionada de forma inversa con el grado de condensación y/o aromaticidad o grado de

diagénesis y se considera un índice de humificación (Schnitzer y Khan, 1972). Así, los mayores valores de la relación H/C presentadas por los AH estudiados, indican un menor grado de condensación y humificación que las muestras de suelo y lignito.

Tabla 5.4.1.- Composición química elemental de los ácidos húmicos (libres de cenizas)

	Composición elemental (%)					Relaciones atómicas			
	C	H	N	S	O	C/N	H/C	O/C	S/C
AH1	52,2	4,8	4,0	1,02	38,0	15,18	1,10	0,55	0,007
AH2	48,0	4,4	3,6	0,80	43,2	15,45	1,11	0,67	0,006
AH3	41,9	4,7	5,2	1,08	47,1	9,38	1,35	0,84	0,010
AH4	50,0	5,1	5,1	1,34	38,5	11,49	1,22	0,58	0,010
AH5	52,4	4,8	4,1	1,08	37,6	14,91	1,10	0,54	0,008
AH6	52,1	5,0	4,7	0,96	37,2	12,98	1,16	0,53	0,007
AH7	51,4	4,9	4,7	1,01	37,9	12,66	1,15	0,55	0,007
AH8	51,5	5,1	4,4	0,97	38,0	13,52	1,18	0,55	0,007
AH9	52,9	5,0	4,4	0,91	36,8	14,14	1,14	0,52	0,006
AH10	51,7	5,2	5,0	1,16	37,0	12,17	1,20	0,54	0,008
AH11	52,2	4,7	4,0	0,96	38,1	15,12	1,07	0,55	0,007
AH12	52,2	4,5	3,8	0,72	38,8	15,97	1,04	0,56	0,005
AH13	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
AH14	51,4	5,1	4,4	0,92	38,2	13,54	1,18	0,56	0,007
AH15	47,4	4,8	4,3	1,01	42,6	12,92	1,20	0,67	0,008
Min.	41,9	4,4	3,6	0,72	36,8	9,38	1,04	0,52	0,005
Prom.	50,5	4,9	4,4	0,99	39,2	13,53	1,16	0,59	0,007
Max.	52,9	5,2	5,2	1,34	47,1	15,97	1,35	0,84	0,010
DE	3,0	0,2	0,5	0,15	3,0	1,79	0,08	0,09	0,001
Turba ⁽¹⁾	53,3	5,6	4,0	n.m.	37,1	16,66	1,26	0,52	n.m.
Lignito ⁽²⁾	59,9	4,3	1,2	n.m.	34,6	62,40	0,86	0,43	n.m.
Suelo ⁽³⁾	56	4,5	1,6	0,3	37	35	0,08	0,66	0,005
AH _{acuatico} ⁽⁴⁾	45-55	4-5	0,6-3,2	0,6-1	30-40	18-30	1-1,1	—	—
Sedimento ⁽⁵⁾	42,7	4,9	3,3	7,2	49,1	16,14	1,37	0,86	0,08

n.m.: no medido; Min.: mínimo; Max: máximo; Prom.: promedio; DE: desviación estándar; ⁽¹⁾ Preston *et al.*, (1984), ⁽²⁾ Cubero (1985), ⁽³⁾ Schnitzer y Khan (1978), ⁽⁴⁾ Thurman (1985), ⁽⁵⁾ Polvillo (2003).

Por otro lado, la razón O/C de los AH extraídos varía entre valores bajos (0,52), como los medidos en la muestra de turba y valores superiores (0,84), como los registrados por la muestra de sedimento. Puesto que la relación O/C está relacionada con el grado de oxidación de los AH y el contenido de grupos oxigenados tales como los hidroxilos, carboxilos, carbonilos, ésteres y éteres, se relaciona con el estado de evolución de los AH. Así, una disminución en O/C puede asociarse con un estado de evolución más avanzado, especialmente si va acompañado de un incremento del carácter aromático (Senesi y Loffredo, 1999). De esta forma, los valores registrados por los AH de este estudio indican un grado de evolución heterogéneo, que varía desde estados más maduros (O/C=0,52-0,59), similares a los de la muestra de turba,

hasta estados menos evolucionados ($O/C=0,59-0,84$), como el de la muestra de lignito, en relación con el mayor contenido de grupos oxigenados de carbohidratos y polisacáridos de los AH (Gadel y Bruchet, 1987).

Van Krevelen (1950) desarrolló un sistema para el estudio de las transformaciones que tienen lugar durante la formación de los carbones, que ha sido ampliamente utilizado posteriormente en el estudio de caracterización de las SH (Visser, 1983). A partir de un diagrama en el que se representan comparativamente las relaciones atómicas H/C y O/C, se puede obtener información sobre los diferentes grados de descarboxilación, desmetilación, deshidratación, deshidrogenación y oxidación de los AH. Las diferencias en la distribución de los AH a lo largo del diagrama indican procesos de reducción, deshidratación y descarboxilación.

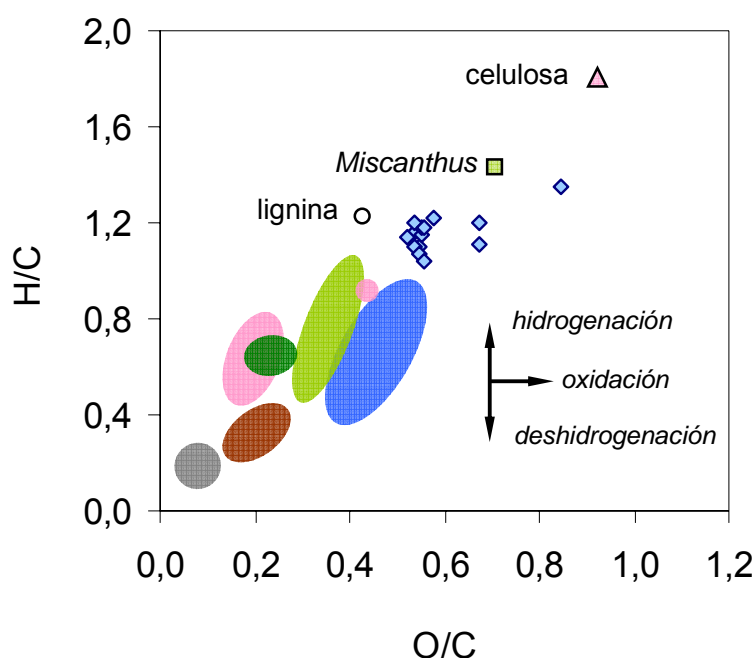


Figura 5.4.1.- Diagrama de la relación H/C vs. O/C de los ácidos húmicos de este estudio (rombos azules), otros publicados (nube azul; Haumaier y Zech, 1995) y otros materiales de referencia: lignina (van Krevelen, 1950); celulosa y carbonizados de celulosa (nubes rosas) a distintas temperaturas (Sekiguchi *et al.*, 1983), *Miscanthus sinensis* y biomasa carbonizada a 250° C (nube verde clara) durante distintos tiempos de combustión (Shindo, 1991), partículas carbonizadas de biomasa de praderas (nube marrón; Shindo, 1991), hollín-hexano (nube gris; Akhter *et al.*, 1985) y muestras de BC vegetal (nube verde oscura; Haumaier y Zech, 1995).

La Fig. 5.4.1 ilustra las relaciones atómicas de los AH estudiados, junto con las de otros componentes vegetales y derivados de BC de diferentes fuentes. En este trabajo los AH presentan una distribución intermedia entre la composición característica de la lignina y la de los AH descritos por Haumaier y Zech (1995), mostrando una firma atómica más oxidada que la primera y un menor grado de condensación que los últimos. Además, las relaciones H/C y O/C de los AH estudiados reflejan un mayor grado de condensación y un estado de evolución mayor que el de

los materiales vegetales nativos (celulosa o biomasa vegetal de *Miscanthus sinensis*), que se relaciona con procesos de deshidratación para alcanzar la composición elemental altamente aromática típica de los AH (Haumaier y Zech, 1995). Con respecto a los materiales carbonizados y residuos de BC, los AH estudiados reflejan un estado de evolución menos avanzado y un grado de aromatización menor, relacionado con la incorporación de H y O en la estructura húmica.

5.4.2. Análisis por pirólisis de los ácidos húmicos

A pesar de los esfuerzos dedicados a la caracterización analítica de las SH, que han dado lugar a varios modelos estructurales (Schulten y Schnitzer, 1997), la estructura química específica de los AH resulta aún prácticamente desconocida (Sutton y Sposito, 2005; Schaumann, 2006 a y b). Operacionalmente, se considera que las SH son aquellas sustancias orgánicas extraídas mediante disolución alcalina, donde la fracción que precipita a valores de pH entre 1 y 2 corresponde a los AH y la que permanece en disolución a los AF (Senessi y Loffredo, 1999). Debido a la alta polaridad y carácter polimérico de las SH, las técnicas químicas y cromatográficas habituales son incapaces de resolver adecuadamente los constituyentes de las fracciones húmicas y fúlvicas de la MO, de forma que a menudo hay que recurrir a procesos de degradación (Gadel y Bruchet, 1987), como la descomposición térmica (pirólisis), seguida del análisis CG/MS de los fragmentos generados. Las técnicas pirolíticas tienen una larga historia en geoquímica orgánica y una reconocida validez en la caracterización a nivel molecular de matrices complejas de MO en aguas (Bruchet, 1985), suelos (e.g. Saiz-Jimenez *et al.*, 1979) y sedimentos (e.g. Polvillo, 2003).

La técnica de Py-flash en combinación con la CG/MS ha sido ampliamente utilizada para la caracterización estructural de SH de diverso origen. Aunque la complejidad de la mezcla de productos de pirólisis dificulta la separación completa por GC/MS de todos los productos generados y su cuantificación, permite una buena caracterización cualitativa del material húmico de los sedimentos. Así, la distribución de los compuestos identificados es muy similar en todas las muestras analizadas de AH de forma que, dado el carácter cualitativo de este análisis, se describen de forma general los grupos de compuestos identificados en el conjunto de los sedimentos. En la Figura 5.4.2 se presenta el pirograma correspondiente a la muestra AH-1. Los picos del cromatograma se han etiquetado con números y la relación detallada de los compuestos identificados se recoge en la Tabla 5.4.2, junto con sus orígenes y pesos moleculares.

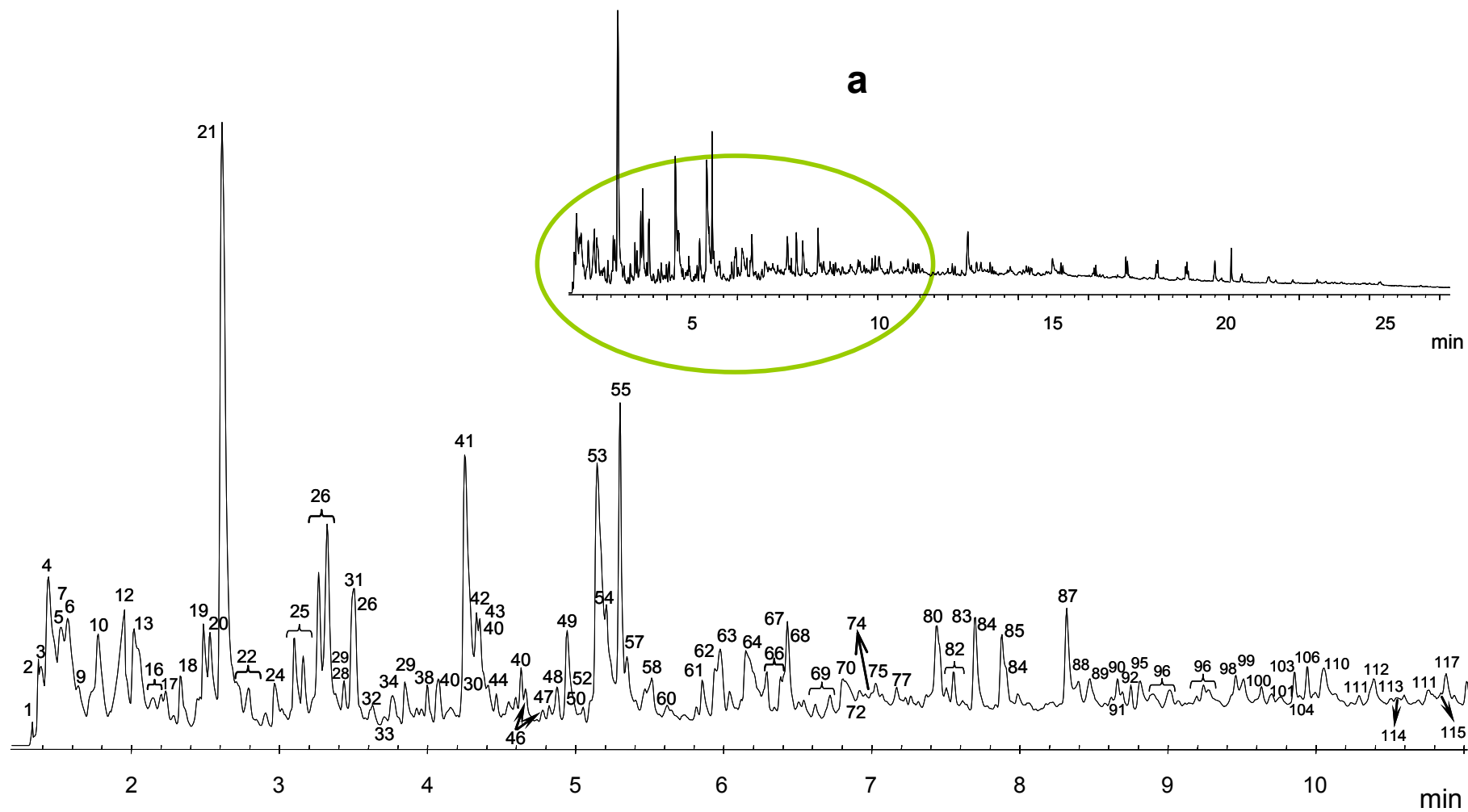


Figura 5.4.2.a- Pirograma de punto de Curie (610° C) correspondiente al tiempo de elusión 0-11 min de los productos de pirólisis de la muestra AH-1. Los números sobre cada pico corresponden a los compuestos identificados en la Tabla 5.4.2.

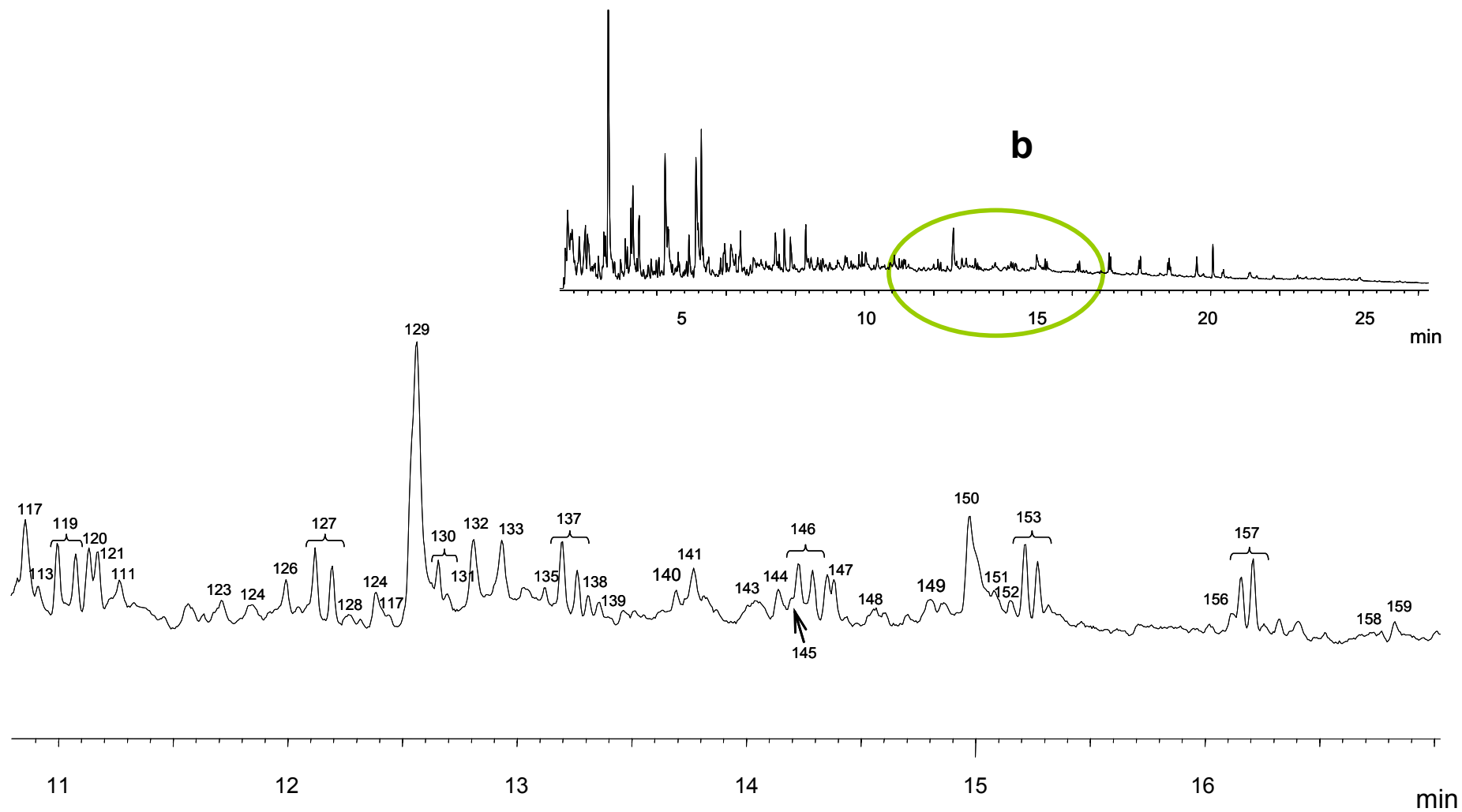


Figura 5.4.2.b- Pirograma de punto de Curie (610° C) correspondiente al tiempo de elusión 11-17 min de los productos de pirólisis de la muestra AH-1. Los números sobre cada pico corresponden a los compuestos identificados en la Tabla 5.4.2.

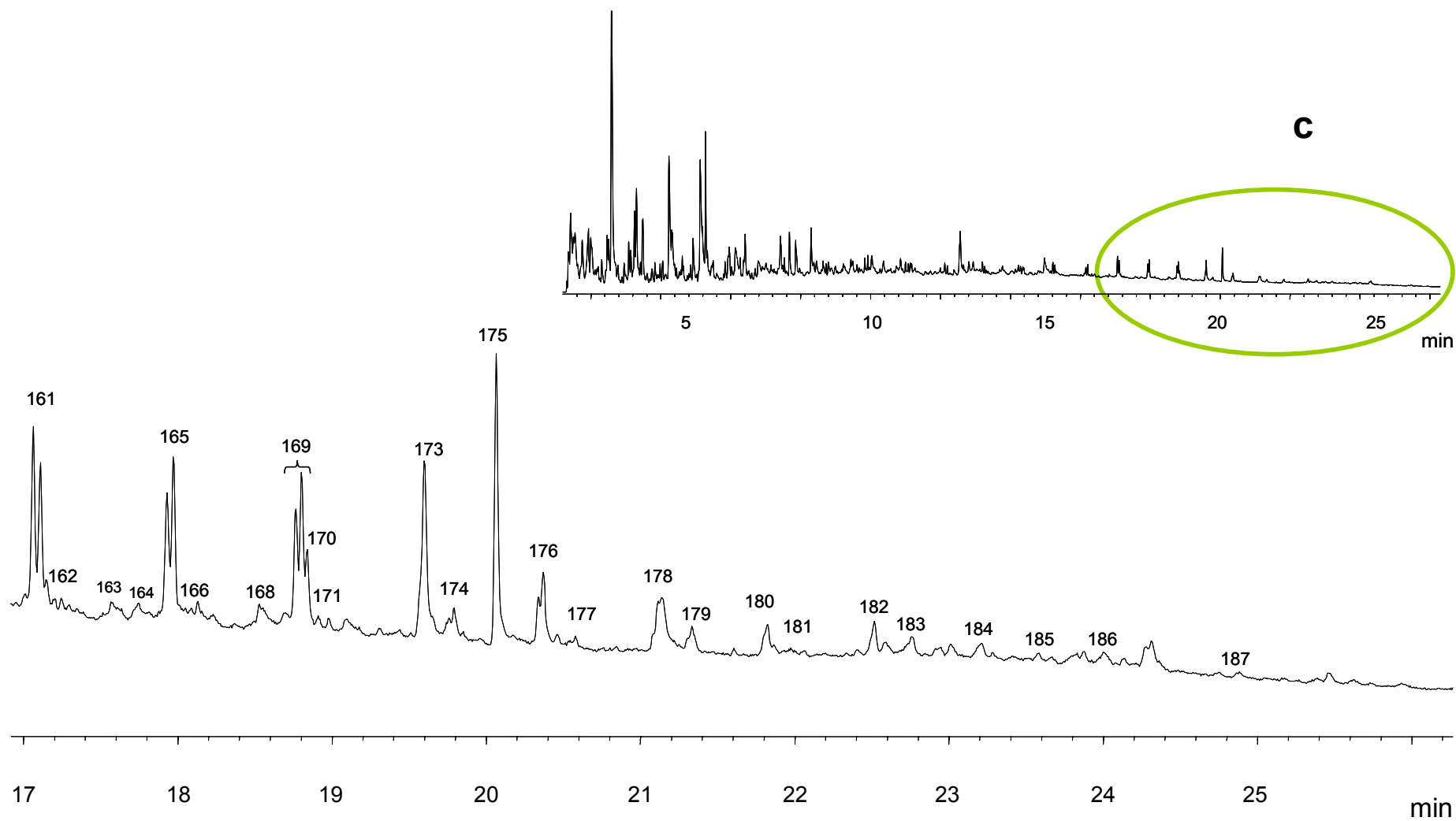


Figura 5.4.2.c- Pirograma de punto de Curie (610° C) correspondiente al tiempo de elución 17-26 min de los productos de pirólisis de la muestra AH-1. Los números sobre cada pico corresponden a los compuestos identificados en la Tabla 5.4.2.

Tabla 5.4.2.- Productos de pirólisis de los ácidos húmicos (punto de Curie, 610° C) identificados por CG/MS y posibles precursores.

Pico	Nombre compuesto	Origen	Pico	Nombre compuesto	Origen
1	dimetiléter	—	49	2-metilfenol	Pr
2	dióxido de azufre	S	50	alquilbenceno C ₄	Ab
3	ácido etanoico	Ps	51	1 <i>H</i> -pirrol, <i>n</i> -ácido etanoico	Pr
4	metanotiol	S	52	<i>n</i> -feniletanona	Lg
5	derivado de azufre	S	53	4-metilfenol	Pr
6	furano	Ps	54	3-metilfenol	Pr
7	<i>n</i> -penteno	Lp	55	2-metoxifenol	Lg
8	desconocido	—	56	par alcano-alqueno C ₁₁	Lp
9	butanal	Lp	57	fenilacetitrilo	Pr
10	2-metilfurano	Ps	58	<i>n</i> -metilbenzofurano	Ps
11	<i>n,m</i> -ciclohexadieno	Lp	59	<i>n</i> -acetoxipiridina	Pr
12	<i>n</i> -metilbutanal	Lp	60	<i>n</i> -metilbenzoxazol	Pr
13	benceno	Lg,Pr,Ps	61	fenilacetitrilo	Pr
14	ácido propanoico	Lp	62	<i>n,m</i> -dimetil fenol	Lg, Pr
15	alquilciclopentano C ₂	Lp	63	<i>n</i> -metil 1 <i>H</i> indeno	HAP
16	par alcano-alqueno C ₇	Lp	64	<i>n</i> -etilfenol	Pr
17	<i>n</i> -dimetilfurano	Ps	65	alquilbenceno C ₅	Ab
18	etilisonitrilo	Pr	66	par alcano-alqueno C ₁₂	Lp
19	piridina	Pr	67	naftaleno	HAP
20	pirrol	Pr	68	4-metil-2-metoxifenol	Lg
21	tolueno	Pr,Lg	69	<i>n,m</i> -dimetilbenzofurano	Ps
22	par alcano-alqueno C ₈	Lp	70	<i>n</i> -etenilfenol	Pr
23	furan-2-ona	Ps	71	<i>n</i> -fenilpropenal	Pr
24	<i>n</i> -metilpiridina	Pr	72	<i>n</i> -etil- <i>m</i> -metilfenol	Pp, Pr
25	<i>n</i> -metilpirrol	Pr	73	2(3 <i>H</i>)-benzofuranona	Ps
26	alquilbenceno C ₂	Ab	74	1, 2-bencenodiol	Ps
27	ciclopent-1-eno, <i>n,m</i> -diona	Ps	75	fenilpropanonitrilo	Pr
28	alqueno C ₉	Lp	76	quinolina	Pr
29	<i>n,m</i> -dimetilpiridina	Pr	77	alquilbenceno C ₆	Ab
30	furancarboxaldehído	Ps	78	3-metoxi-1, 2-bencenodiol	Lg
31	etenilbenceno	Pr	79	alquilindeno C ₂	HAP
32	2-metil,2-ciclopenten-1-ona	Ps	80	4-etil-2-metoxifenol	Lg
33	<i>n</i> -acetilfurano	Ps	81	2, 3-dihidro-1 <i>H</i> -iden-1-ona	HAP
34	<i>n,m</i> -dimetil 1 <i>H</i> -pirrol	Pr	82	par alcano-alqueno C ₁₃	Lp
35	<i>n</i> -etilpirrol	Pr	83	indol	Pr
36	2,3-dihidr-5-metilfuran-2-ona	Ps	84	metilnaftaleno	HAP
37	2-metoxitolueno	Lg	85	4-etetil-2-metoxifenol	Lg
38	alquilbenceno C ₃	Ab	86	alquilbenzaldehído C ₂	Lp
39	<i>n</i> -metil- <i>m</i> -furfuraldehído	Ps	87	2, 6-dimetoxifenol	Lg
40	alquilbenceno C ₃	Ab	88	alquilbenceno C ₇	Ab
41	fenol	Lg, Pr	89	2-metoxi-4-propilfenol	Lg
42	benzonitrilo	Pr	90	alqueno C ₁₄	Lp
43	alcano C ₁₀	Lp	91	bifenilo	HAP
44	benzofurano	Ps	92	alcano C ₁₄	Lp
45	1 <i>H</i> -pirrol, <i>n</i> -carboxaldehído	Pr	93	2-hidroxi-3-metoxi-benzaldehído	Lg
46	alquilbenceno C ₃	Ab	94	<i>n</i> -metilbenzotiofenol	HAP
47	<i>n,m</i> -dimetilciclopenten-1-ona	Ps	95	<i>n</i> -metil 1 <i>H</i> -indol.	Pr
48	indeno	HAP	96	C ₂ -alquilnaftaleno	HAP

Pico	Nombre compuesto	Origen	Pico	Nombre compuesto	Origen
97	4-metil 3,4-dihidro-1-isoquinona	Pr	142	2,6,10,14-tetrametilhexadecano	Lp
98	2, 6-dimetoxi-4-metilfenol	Lg	143	<i>cis/trans</i> alcohol sinapílico	Lg
99	2-metoxi-4-(1-propenil)-fenol	Lg	144	Fita- <i>n,m</i> -dieno	Lp
100	alquilbenceno C ₈	Ab	145	alquilbenceno C ₁₂	Ab
101	<i>n</i> -fenilpiridina	Pr	146	par alcano-alqueno C ₁₉	Lp
102	1 <i>H</i> -isoindol-1, 3(2 <i>H</i>)-diona	Pr	147	1,2-dioctilciclopropeno	Lp
103	alqueno C ₁₅	Lp	148	1-(3,5-dimetoxi-4-hidroxifenil)propino	Lg
104	1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)alqueno	Lg	149	desconocido	—
105	C ₃ -alquilfenol	Pr	150	ácido hexadecanoico	Lp
106	C ₁₅ -alcano	Lp	151	alcan-2-ona C ₁₇	Lp
107	<i>n</i> -metil <i>m</i> -isobutil 1 <i>H</i> -pirrol 2,5-diona	Pr	152	alquilbenceno C ₁₃	Ab
108	ácido 4-hidroxi-3-metoxibenzoico metil-éster	Lg	153	par alcano-alqueno C ₂₀	Lp
109	<i>n</i> -naftalenol	HAP	154	ácido tridecanodioico	Lp
110	1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-etanona	Lg	155	alcan-2-ona C ₁₈ -	Lp
111	1-hidroxi-2(1 <i>H</i>)-quinolinona	Pr	156	alquilbenceno C ₁₄	Ab
112	4-etil-2, 6-dimetoxifenol	Lg	157	C ₂₁ par alcano-alqueno	Lp
113	alquilnaftaleno C ₃	HAP	158	ácido tetradecanodioico	Lp
114	1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-2-propanona	Lg	159	ácido octadecanoico	Lp
115	alquilbenceno C ₉	Ab	160	alcan-2-ona C ₁₉	Lp
116	ácido dodecanoico	Lp	161	par alcano-alqueno C ₂₂	Lp
117	4-etenil-2,6-dimetoxifenol	Lg	162	alquilbenceno C ₁₅	Ab
118	ácido 4-hidroxi-3-metoxibenzoico	Lg	163	ácido pentadecanodioico	Lp
119	par alcano-alqueno C ₁₆	Lp	164	alcan-2-ona C ₂₀	Lp
120	fluoreno	HAP	165	par alcano-alqueno C ₂₃	Lp
121	1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-propanona	Lg	166	alquilbenceno C ₁₆	Ab
122	ftalato de dietilo	Otros	167	alcan-2-ona C ₂₁	Lp
123	4-hidroxi-3, 5-dimetoxi-benzaldehído	Lg	168	ácido hexadecanodioico	Lp
124	<i>cis</i> 2,3-dimetoxi-4-propenilfenol	Lg	169	par alcano-alqueno C ₂₄	Lp
125	alquilfenol C ₅	Pr	170	ácido hexanodioico, dioctil-éster	Lp
126	alquilbenceno C ₁₀	Ab	171	alquilbenceno C ₁₇	Ab
127	par alcano-alqueno C ₁₇	Lp	172	ácido heptadecanodioico	Lp
128	alquilnaftaleno C ₄	HAP	173	par alcano-alqueno C ₂₅	Lp
129	bifenil <i>n,m</i> -diol	Pr	174	alquilbenceno C ₁₈	Ab
130	prist- <i>n</i> -eno	Lp	175	bis (2-etilhexil) ftalato	Otros
131	alquilazuleno C ₄	HAP	176	par alcano-alqueno C ₂₆	Lp
132	1-(4-hidroxi-3,5-metoxifenil)-etanona	Lg	177	alquilbenceno C ₁₉	Ab
133	ácido tetradecanoico	Lp	178	par alcano-alqueno C ₂₇	Lp
134	1-(4-hidroxi-3, 5-dimetoxi)-etanona	Lg	179	alquilbenceno C ₂₀	Ab
135	alquilbenceno C ₁₁	Ab	180	par alcano-alqueno C ₂₈	Lp
136	alquilfenol C ₆	Pr	181	alquilbenceno C ₂₁	Ab
137	par alcano-alqueno C ₁₈	Lp	182	par alcano-alqueno C ₂₉	Lp
138	derivado alqueno	Lp	183	alquilbenceno C ₂₂	Ab
139	fenantreno	HAP	184	par alcano-alqueno C ₃₀	Lp

Pico	Nombre compuesto	Origen
185	alquilbenceno C ₂₃	Ab
186	par alcano-alqueno C ₃₁	Lp
187	par alcano-alqueno C ₃₂	Lp

Ab: derivados alquilbencenos; HAP: hidrocarburos aromáticos policíclicos; Lg: derivados de la lignina; Lp: derivados de lípidos; Pr: derivados de proteínas; Ps: derivados de polisacáridos; S: derivados del azufre; -: desconocido

De forma general se pueden distinguir los siguientes grupos de compuestos:

Derivados de polisacáridos (Ps): engloba compuestos como el furano, furfural, metil furfural, etc. (Simmonds *et al.*, 1969; Saiz-Jiménez y de Leeuw, 1984), que se han descrito como formas carbonosas susceptibles de biodegradación en las primeras etapas de la diagénesis. La presencia de estos compuestos decrece rápidamente como consecuencia del enterramiento (Saiz-Jiménez y de Leeuw, 1987), así como durante el proceso de formación de la turba, siendo indicativos de estados de poca evolución diagenética.

Derivados de proteínas y péptidos (Pr): piridinas, indoles, pirroles, nitrilos y benzonitrilos (Wilson *et al.*, 1983). Al igual que los polisacáridos, estos compuestos orgánicos simples de N son las primeras estructuras en degradarse durante el proceso de enterramiento de la materia vegetal y se consideran productos de pirólisis característicos de proteínas (Bracewell y Robertson, 1984) y material peptídico degradado en sedimentos (Zang y Hatcher, 2002), que indican la presencia de MO algal y/o bacteriana (Kruge y Permanyer, 2004). Aunque comúnmente los compuestos de pirroles, indoles y nitrilos se describen como derivados de materiales proteínicos, hay que ser cauto a la hora de interpretar estos compuestos nitrogenados heterocíclicos como marcadores de proteínas, ya que durante el proceso de pirólisis se produce la rotura térmica de macromoléculas naturales en pequeños fragmentos volátiles, pudiendo alterar las estructuras de los productos respecto de sus moléculas originales (Zang y Hatcher, 2002). Así, otros compuestos con N, como las melanoidinas, pueden también producir pirroles e indoles a través de mecanismos pirolíticos (Hayase y Kato, 1981). Sin embargo, la mera presencia de estos biopolímeros, representantes de contribución biogénica sin alterar (Martín y González-Vila, 1983), podrían indicar condiciones geoquímicas poco agresivas, con cierta protección de estos componentes susceptibles a la degradación por parte de estructuras húmicas ante la acción microbiana y enzimática. Gadel y Bruchet (1987) relacionaron la detección de indol (pico 83; Tabla 5.4.2) en los AH de sedimentos de

las islas Kerguelen con la presencia de condiciones frías y reductoras, favorables para la preservación de moléculas simples de N.

Como derivados de proteínas, los compuestos identificados podrían haber sido secuestrados dentro de las estructuras más refractarias de la MOS, quedando protegidos de la hidrólisis química propia de las primeras etapas de la diagénesis (Zang y Hatcher, 2002). Por otro lado, la estabilización podría venir de la interacción del sustrato con la matriz mineral (Mayer, 1994), dando lugar a encapsulamientos altamente resistentes a la alteración, que habrían permitido una preservación selectiva de los componentes. Del mismo modo, el material proteínico podría haber quedado encapsulado físicamente en un entramado de biopolímeros alifáticos químicamente resistentes, resultando inaccesible a hidrólisis químicas y enzimáticas (Mongenot *et al.*, 2001). La detección de estructuras parafínicas/olefínicas en forma de pares alcano/alqueno a lo largo de todo el espectro pirolítico (Fig. 5.4.2 y Tabla 5.4.2) puede deberse a la presencia de biopolímeros insolubles, no hidrolizables y altamente alifáticos, descritos en diversas algas y plantas superiores (Nip *et al.*, 1986 a y b; Tagelaar *et al.*, 1989; de Leeuw *et al.*, 1991). Es probable que parte del material proteínico de carácter intrínsecamente lábil haya sido físicamente incorporado a estructuras más refractarias de este tipo, sobreviviendo así selectivamente a la degradación biogeoquímica de los primeros estadios de la diagénesis.

Derivados de lípidos (Lp): incluyen compuestos alifáticos (alcanos, alquenos, aldehídos, alcan-2-onas, isoprenoides, ácidos alcanóicos, etc) de diversos orígenes que, tal y como se exponía en la sección 5.3, han sido comúnmente encontrados en plantas terrestres, bacterias y materiales algales (Alvarez-Cobelas y Zarco-Lechado, 1989; Ishida *et al.*, 1998). Así se han encontrado:

- Hidrocarburos isoprénicos acíclicos (fitano, fitadieno y prist-*n*-eno). Mientras el fitano y fitadieno provienen mayoritariamente del fitol, componente de la clorofila (sección 5.3.2), el prist-*n*-eno es un derivado de los tocoferoles (Goossens *et al.*, 1984), que son formas activas de la vitamina E.
- Ácidos alcanóicos de cadena corta (C₁₂-C₁₈), con cierto predominio del número par de átomos de C, relacionadas con MO de origen algal o bacteriano (Venkatesan, 1988; Volkman *et al.*, 1989; Kruge y Permanyer, 2004). Estos ácidos grasos pueden considerarse productos de termovaporación, provenientes del material lipídico atrapado en la matriz

molecular del polímero (Schnitzer y Khan, 1978), que se habrían liberado durante la pirólisis (Martín y González-Vila, 1983).

- Alcan-2-onas de cadena corta (C₁₇-C₂₁), relacionadas fundamentalmente con producción autóctona, algal o bacteriana (Simoneit *et al.*, 1979).
- Series homólogas de *n*-alcanos y *n*-alqu-1-enos, en cadenas de hasta C₂₇-C₃₁ unidades, distribuidas de forma constante en el espectro pirolítico de todas las muestras, cuya presencia señala el marcado carácter alifático de los AH estudiados. Éste puede deberse a la presencia en la MOS de biopolímeros no saponificables y altamente alifáticos, descubiertos anteriormente en cutículas de plantas y fósiles (Nip *et al.*, 1986 a y b) y en paredes celulares de algunas especies de algas (Largeau *et al.*, 1986). La pirólisis de estos biopolímeros produce series de alcanos/alqu-1-enos que, aun siendo constituyentes minoritarios de la biomasa original, se pueden concentrar en los sedimentos durante las primeras etapas de la diagénesis, por estar menos afectados por la biodegradación que otros componentes vegetales mayoritarios. Son estructuras inherentemente resistentes a hidrólisis enzimáticas y químicas, que pueden verse selectivamente enriquecidas durante etapas diagenéticas tempranas, resultando en una abundancia relativa superior a la de proteínas y carbohidratos (Zang y Hatcher, 2002). Estas series también han sido descritas como componentes mayoritarios en pirolizados de turbas y carbones (Kotra y Hatcher, 1988; Nip *et al.*, 1988).

Productos fenólicos: este grupo de compuestos engloba tanto fenoles y alquilfenoles relacionados con material proteínico (**Pr**), como metoxifenoles derivados característicos de la lignina (**Lg**) (Martín *et al.*, 1979; Saiz-Jiménez y de Leeuw, 1986), que también han sido descritos como productos minoritarios de la pirólisis de proteínas (Simmonds *et al.*, 1969), ácidos policarboxílicos (Bracewell *et al.*, 1988) y carbohidratos (Wilson *et al.*, 1983). La intensidad de los picos del tolueno y el fenol (21 y 41, respectivamente; Tabla 5.4.2) refleja el marcado carácter aromático de los AH, tal y como lo describieron Gadel y Bruchet (1987) en sedimentos del Cuaternario, ricos en restos de *Poseidonia*. La elevada resistencia a la biodegradación de los derivados de la lignina hace que sean compuestos útiles como biomarcadores de la influencia terrestre en medios acuáticos, lo que permite diferenciar tipos y orígenes de la MO derivada de la lignina en muestras geológicas (Saiz-Jiménez y De Leeuw, 1986). La distribución de metoxifenoles, variable entre los diferentes tipos de lignina, puede

ayudar a inferir la naturaleza del material vegetal terrestre (angiospermas vs. gimnospermas o leñosas vs. no leñosas; ver sección 5.5). Los principales derivados de la lignina identificados entre los productos de pirólisis (Tabla 5.4.2) son el guaiacol (55), metilguaiacol (68), etilguaiacol (80), vinilguaiacol (85) o acetovainillona (110); siringol (87), metilsiringol (98), etilsiringol (112), etenilsiringol (117), acetosiringona (132) o propilsiringona (141); y, en cantidades menores, trans-iso Eugenol (98) o cis/trans-alcohol sinápico (143). Mientras el guaiacol y sus derivados son indicativos de la presencia de material de coníferas, el siringol y sus derivados se relacionan con la influencia de angiospermas (Saiz Jiménez y de Leeuw, 1986). De acuerdo con los productos de pirólisis obtenidos, los AH estudiados participan de ambos tipos de contribuciones. Sin embargo, tal y como se expone más adelante (sección 5.5), existe un predominio de la influencia de tejidos no leñosos de angiospermas. Además, la escasa presencia del trans-iso Eugenol (99, Tabla 5.4.2) y la ausencia de coniferol y coniferilaldehído parecen ser evidencias de la oxidación de la cadena alquílica C₃ característica de la lignina degradada (Saiz-Jiménez y de Leeuw, 1984). Por otra parte, la ausencia de fenoles oxidados refleja un estado de degradación poco avanzado, coherente con las condiciones de enterramiento anóxico o subanóxico planteadas.

Derivados alquilbencenos (Ab): aunque de origen poco definido por su gran ubicuidad en la MOS, los compuestos *n*-C_n alquilbencenos, *n*-C_n alquiltoluenos y *n*-alquilxilenos se relacionan en general con la entrada de material biológico (Vella y Holzer, 1992). Por un lado, se sabe que estos compuestos pueden proceder de la rotura pirolítica de kerógenos y macerados carbonosos (Larter *et al.*, 1978), en sedimentos suficientemente maduros térmicamente (Vella y Holzer, 1992). Por otra parte, los alquilbencenos lineales de entre 10-14 unidades de C se utilizan como material de síntesis para detergentes alquilbencenosulfonados, pudiendo ser utilizados como trazadores moleculares de aguas de desecho y, más concretamente, de procesos de contaminación por detergentes domésticos (Takada e Ishiwatari, 1987). Sin embargo, de forma genérica, estos compuestos se han relacionado con entradas biológicas a través de distintas vías (Fig. 5.4.3):

- I. Degradación de carotenoides (Byers y Erdman, 1983), que son pigmentos ampliamente distribuidos en la biosfera en plantas continentales, algas y bacterias (Liaanen-Jensen, 1978; Summons y Powell, 1987) y que están presentes en ambientes tanto lacustres como marinos.

- II. Oxidación y reducción diagenética de ácidos de síntesis bacteriana (ácido 11-ciclohexil undecanoico y ácido 13-ciclohexil tridecanoico) (Dong *et al.*, 1993);
- III. Reacciones de ciclación y aromatización de *n*-ácidos grasos, *n*-alcoholes e incluso *n*-cetonas (Dong *et al.*, 1993), presentes en plantas terrestres y acuáticas, animales y microorganismos.

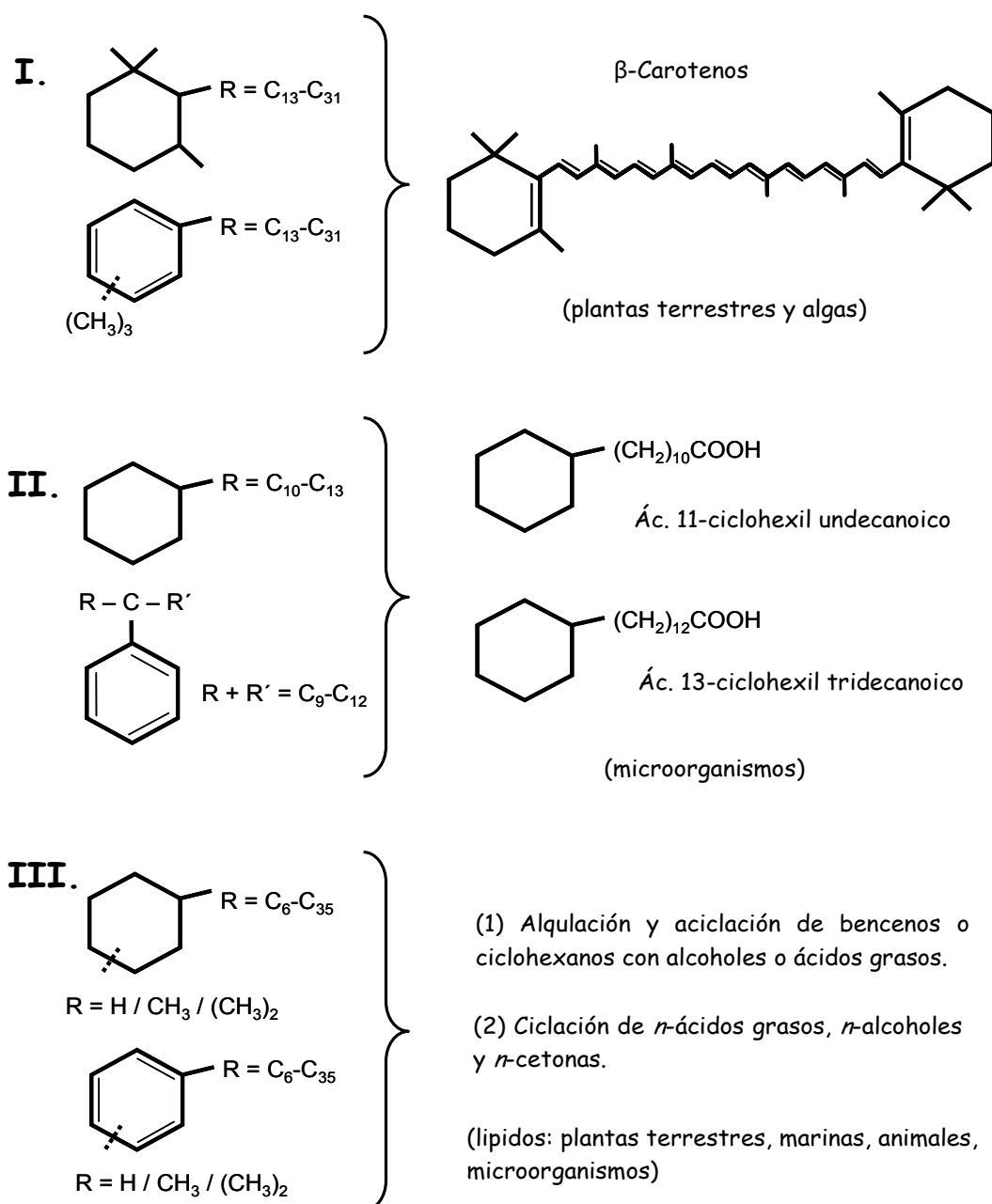
MARCADORES BIOLÓGICOS**PRECURSORES**

Figura 5.4.3.- Ejemplos de tipos de alquilociclohexanos y alquibencenos y sus supuestos precursores (Dong *et al.*, 1993).

Entre los productos de pirólisis obtenidos (Tabla 5.4.2), se han identificado series continuas de alquilbencenos, con cadenas alifáticas que van desde 1 a 23 átomos de C (C_1 - C_{23}) (Fig. 5.4.4). Los más abundantes son los de menor longitud de cadena alquílica (C_2 - C_7 unidades), que se presentan con distintas distribuciones isoméricas, de forma que no es fácil distinguir si se trata de una única cadena lateral C_3 -propil o de varias cadenas con diversas estructuras (trimetil-, metil-etil-, etc.), correspondientes al subgrupo de los *n*-alquiltoluenos (m/z 105-106) o *n*-alquilxilenos (m/z 119-120). En este caso, la presencia de *n*-alquilbencenos C_2 y C_3 sugiere una degradación parcial de la lignina. Según Schulten *et al.* (1991), la existencia de estos compuestos aromáticos en los productos de pirólisis apoyaría el modelo estructural de los AH formados por una red de enlaces C-C (mayoritariamente anillos aromáticos) unidos por largas cadenas alquílicas, delimitando espacios intramoleculares de diferentes dimensiones en los que podrían incorporarse compuestos orgánicos (carbohidratos, proteínas, lípidos) e inorgánicos.

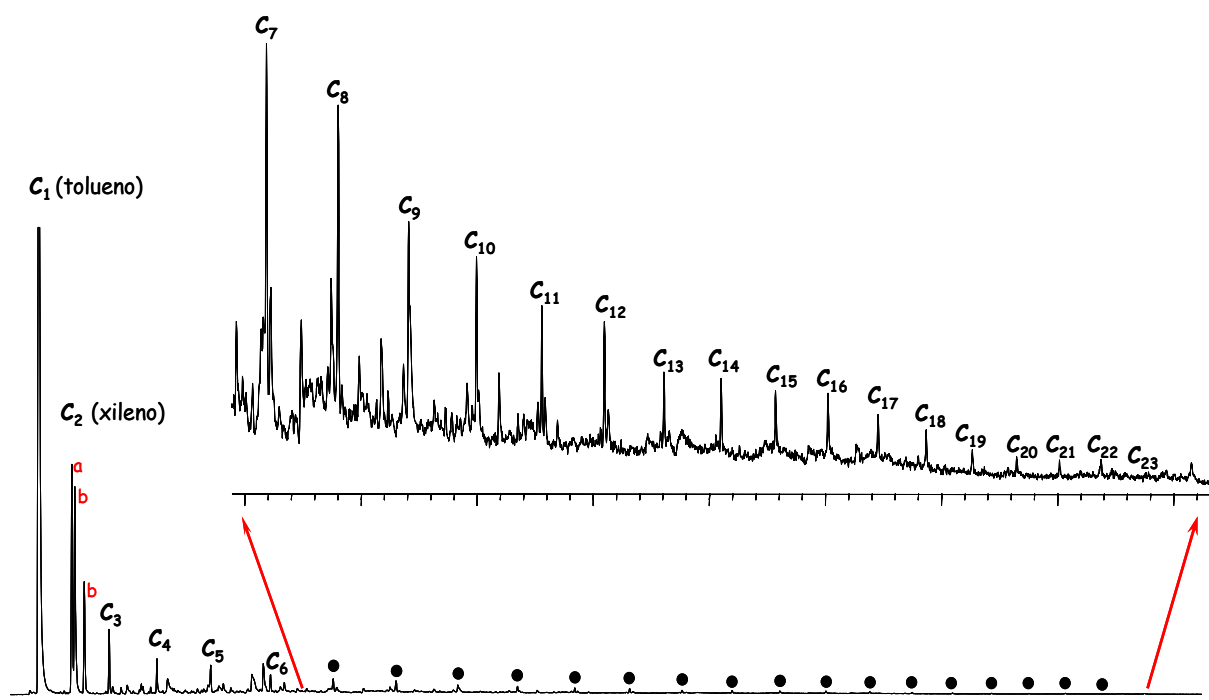


Figura 5.4.4- Cromatogramas SIM de la traza m/z 91, correspondiente a los derivados *n*-alquilbencenos, de la muestra AH-1. La referencia C_n señala el número de átomos de C de la cadena alifática; a y b definen distintos isómeros del etil- y dimetil-benceno, respectivamente.

La ubicuidad de los alquilbencenos y los fenoles simples (fenol y metil-fenol), que son compuestos comunes en los productos de pirólisis de la mayor parte de la MOS reciente, unido a la escasa especificidad de su procedencia, hace que estos

componentes tengan un limitado potencial como marcadores biológicos asociados a ambientes deposicionales específicos (Larter *et al.*, 1978; Kruge y Permanyer, 2004). La moderada madurez observada en los sedimentos y el amplio espectro encontrado de unidades alquil (C_1 - C_{23}) sugieren más bien una procedencia de tipo biológica, por medio de reacciones de ciclación, aromatización y evolución de ácidos y/o alcoholes biogénicos.

Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP): constituyen una familia de compuestos relacionados con múltiples orígenes, que contienen en su estructura química dos o más anillos bencénicos dispuestos de forma lineal, angular o de clúster. En la Fig. 5.4.5 se recogen algunos de los HAP más importantes, incluidos en las listas de contaminantes publicadas por las Naciones Unidas y la Agencia de Protección del Medio Ambiente de Estados Unidos. Los HAP se forman generalmente durante la combustión incompleta al aire (600 - 900° C) de la MO, proceso que puede darse tanto de forma natural (incendios forestales, erupciones volcánicas, etc.) como por actividad antrópica (vertidos de petróleo, crudo, aceites, combustibles, diesel, etc). Otras fuentes naturales de HAP en el medio ambiente están relacionadas con las aportaciones por filtraciones marinas o síntesis bacteriana y los procesos geoquímicos naturales de diagénesis de la MOS. El hecho de que la pirólisis sea un proceso tan extendido y ampliamente presente en la naturaleza hace que los HAP se encuentren en todo tipo de ambientes como suelos, sedimentos, aire, aguas, atmósfera, tejidos biológicos o alimentos.

Algunos de los HAP que aparecen entre los productos de pirólisis (Fig. 5.4.2. y Tabla 5.4.2) provienen del proceso de termo-desorción previo a la propia descomposición térmica. Otros, en particular el antraceno y el fenantreno, son verdaderos productos de pirólisis, generados por la rotura térmica de enlaces covalentes de las macromoléculas orgánicas (Krugue y Permanyer, 2004), que pueden producirse por la pirólisis de ligninas y celulosas presentes de forma natural en la MOS. Las distintas fuentes de generación de HAP proporcionan una distribución característica que permite evaluar la aportación o el porcentaje relativo de contribución de cada tipo de fuente a la muestra analizada:

- Los HAP resultantes de la combustión incompleta de la MO (pirogénicos) son principalmente compuestos que no tienen sustituyentes alquílicos y predominan sobre sus alquilhomólogos. La proporción entre alquil sustituidos y

no sustituidos disminuyen con la temperatura y el tiempo de combustión (Lee *et al.*, 1977; Sporstol *et al.*, 1983).

- Los procesos diagenéticos dan lugar a descarboxilaciones, aromatización y desfuncionalización de determinados productos naturales cíclicos, esteroides y terpenoides. Los compuestos formados están relacionados directamente de forma específica con las estructuras hidrocarbonadas de sus precursores (Wakeham *et al.*, 1980).
- Los derivados petrogénicos están formados por mezclas complejas de compuestos con cadenas alquiladas de 5-6 átomos de C que predominan sobre los homólogos no sustituidos.

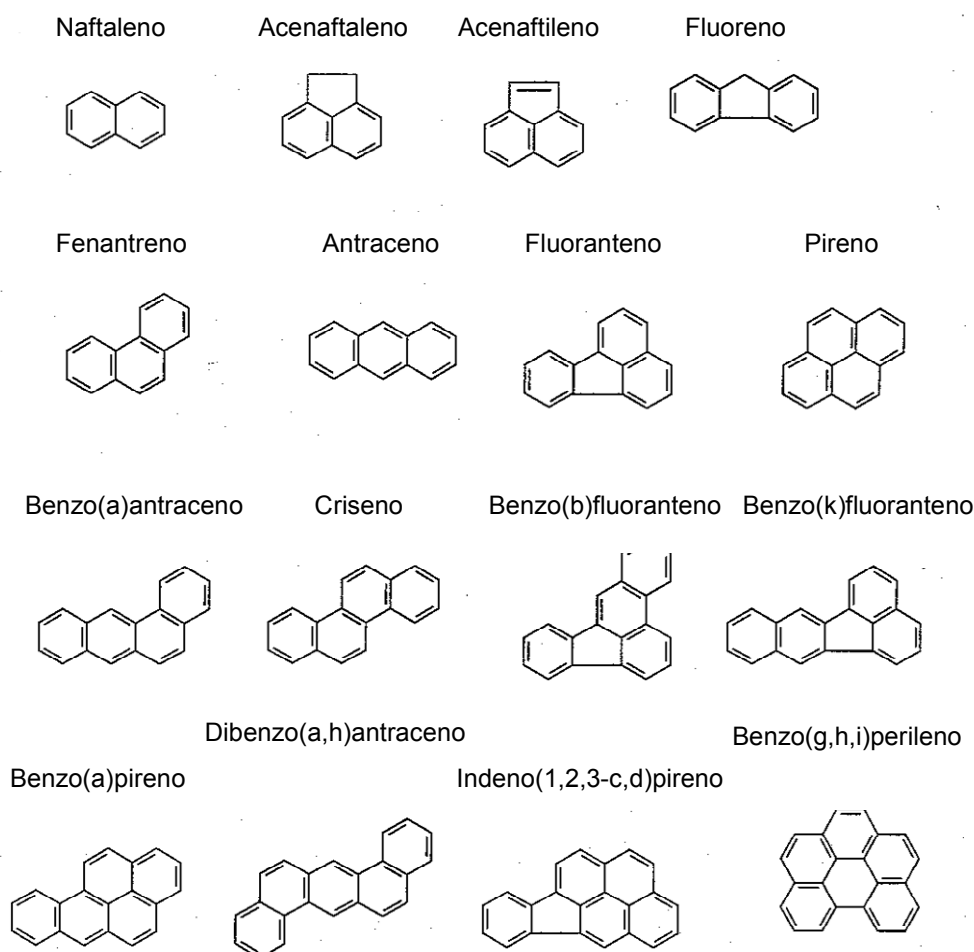


Figura 5.4.5.- Estructura química de los HAP más importantes, incluidos en las listas de contaminantes elaboradas por Naciones Unidas y la Agencia de Protección del Medio Ambiente de Estados Unidos.

Entre los productos identificados en los AH (Tabla 5.4.2), se encuentran algunos derivados alquílicos del indeno (63), naftaleno (96, 113 y 128) o azuleno (131), entre los cuales, los C₁-C₄ alquilnaftalenos (m/z 141) podrían ser indicativos de procesos de diagénesis del carbón (Wakeham *et al.*, 1980) o de la erosión de pizarras maduras. Sin embargo, el predominio de HAP no sustituidos, tales como el indeno, naftaleno, bifenilo, fenantreno o fluoreno, indica un origen pirogénico más probable, cuyos productos habrían sido transportados desde el continente. El predominio de estructuras catacondensadas, donde los átomos de C terciario son centro de dos anillos unidos, sobre las pericondensadas, en las que algunos átomos de C terciario son centro de tres anillos unidos, sugiere un origen pirolítico a altas temperaturas (Simoneit, 1985). Dicha distribución de HAP se ha descrito en sedimentos marinos superficiales situados lejos de fuentes de polución y de las entradas de contaminantes orgánicos (Tolosa, 1993), estando relacionada principalmente con el transporte atmosférico y deposición. Por otro lado, la uniformidad encontrada en la distribución de estos HAP en el conjunto de las muestras, hace pensar más bien en procesos de combustión naturales, como incendios de bosques y praderas continentales, con distribuciones diferentes a las observadas en sedimentos encontrados en áreas adyacentes a zonas urbanas (Venkatesan, 1988). La presencia del mencionado ácido dehidroabiético (sección 5.3.7), considerado como marcador terrestre, apoyaría la hipótesis de la entrada de productos de combustión natural vía aérea (Kruge y Permanyer, 2004).

Productos azufrados (S): la presencia de restos de S y productos derivados (tiofenos, benzotiofenos, metanotiol, etc.) es más o menos constante en el conjunto de los AH. Estos compuestos no pueden asociarse a ningún biopolímero específico, aunque se han detectado como productos de pirólisis de carbones (Nip *et al.*, 1988). En cualquier caso, la presencia de compuestos azufrados indica incorporación de azufre en las etapas tempranas de la diagénesis, que podría estar relacionada con un ambiente de deposición ligeramente anóxico (Hadas *et al.*, 2001).

Otros compuestos: junto con los mencionados productos de pirólisis, se ha identificado una serie de compuestos considerados como contaminantes. Entre ellos, los más abundantes son los ftalatos, dialquiltalatos y derivados. Su origen puede ser muy diverso e incluso, en el caso de los ftalatos, han sido descritos como constituyentes naturales de algunas plantas y microorganismos (Peakall, 1975). Sin embargo, su extensa utilización como plastificantes y su extremada persistencia, que les hace interaccionar fácilmente con la MO tanto en el suelo o sedimento, como en

procesos de transporte, almacenamiento y posterior manipulación de las muestras, hace pensar en un origen fundamentalmente contaminante.

Tabla 5.4.3.- Abundancia relativa de los principales tipos de compuestos identificados entre los productos de pirólisis de los ácidos.

Grupos de compuestos		Abundancia relativa ^a
Lípidos (Lp)	Alcano/alqueno	+++
	Alc./Alq. Ramificado	+/-
	Alcan-2-onas	+
	Ácidos alcanóicos	+
	Ácidos alcanodioicos	+/-
Proteínas (Pr)	Compuestos nitrogenados	++
	Fenoles	++
Lignina (Lg)	Metoxifenoles	++
Polisacáridos (Ps)	Derivados de carbohidratos	+
Otros	Alquilbencenos (Ab)	+++
	Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP)	+
	Compuestos azufrados (S)	+/-
	Contaminantes	+/-

^a +++ alto contenido, ++ abundante, + presente, +/- traza, - ausente

La complejidad de la matriz húmica dificulta el análisis cuantitativo de los productos de pirólisis. Sin embargo, la estimación de su abundancia relativa permite una caracterización cualitativa completa de los AH. En la Tabla 5.4.3 se recogen las abundancias relativas de los principales productos de pirólisis y en la Fig. 5.4.6 se ilustra su distribución general en el espectro pirolítico de los AH, representando con símbolos los grupos genéricos de compuestos. Por un lado, existe una influencia terrestre evidente en los AH estudiados, derivada de la presencia de productos metoxifenoles, relacionados con la lignina (Lg). Aunque se observa un marcado carácter alifático, representado por la contribución constante de pares alcano/alqueno (Lp) a lo largo de todo el espectro pirolítico (Fig. 5.4.6), existe una presencia dominante de las estructuras aromáticas, con predominio de los derivados del benceno (Ab) y de la lignina, de acuerdo con la preservación preferencial de los

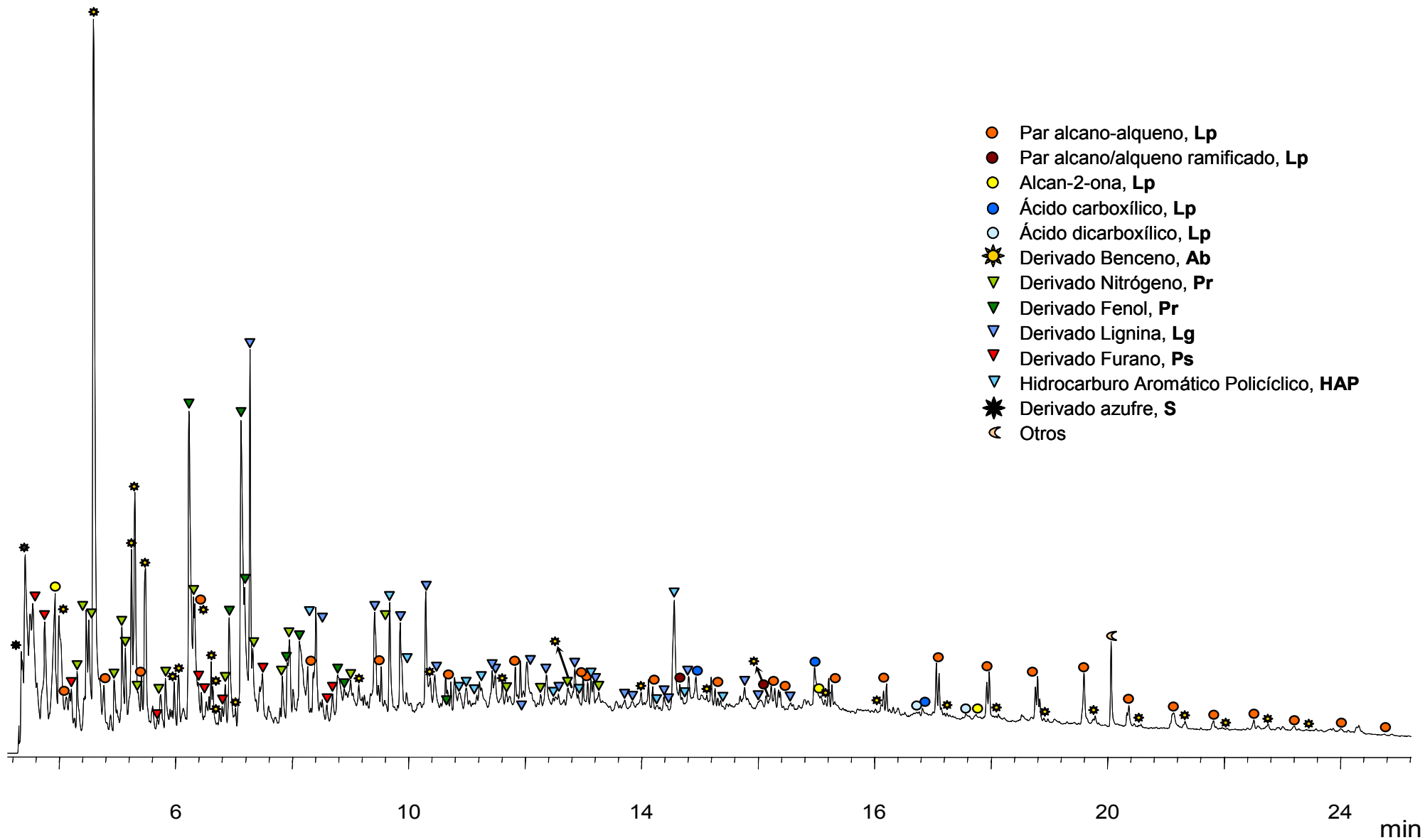


Figura 5.4.6.- Pirograma completo de punto de Curie (610° C) correspondiente a los productos de pirólisis de la muestra AH-1.

compuestos aromáticos en los procesos diagenéticos (Gadel y Bruchet, 1987). La relativa abundancia de fragmentos típicos derivados de compuestos peptídicos (Pr) refleja una importante contribución algal y sugiere la presencia de condiciones preservativas de deposición-acumulación, en las que la MOS habría sufrido pocas alteraciones biogeoquímicas, o bien la producción de mecanismos de encapsulamientos y/o protección física de los componentes lábiles por parte de la fracción mineral o de macromoléculas orgánicas de mayor carácter refractario.

Los compuestos derivados de los carbohidratos, sin embargo, resultan menos abundantes (Tabla 5.4.3). Aunque la mayor solubilidad relativa de estos compuestos en condiciones ácidas, como las utilizadas en el fraccionamiento de los AH y AF (Gadel y Bruchet, 1987), podrían explicar su menor contenido relativo en los precipitados de AH, la observada susceptibilidad a la biodegradación de los carbohidratos en las primeras etapas de la diagénesis (Saiz-Jiménez y de Leeuw, 1987) hace pensar más bien en una consecuencia diagenética. Así, de acuerdo con Stout *et al.* (1988), la transformación gradual de la MO pasa en primer lugar por una pérdida gradual aparente del material menos resistente, como los carbohidratos, como consecuencia de procesos microbiológicos y/o geoquímicos anaerobios. Ya en un estado más avanzado del proceso degradativo, se produciría la biotransformación gradual de la macromolécula de la lignina por depolimerización, demetilación, demetoxilación y posterior defuncionalización y, finalmente, transformaciones geoquímicas adicionales de la lignina conducirían a una red de hidrocarburos aromáticos (Stout *et al.*, 1988). En este caso, sin embargo, la relativa abundancia de compuestos derivados de la lignina (Tabla 5.4.3) y la mencionada ausencia de fenoles oxidados, sugieren un estado degradativo mucho menos avanzado, compatible con las propuestas condiciones de enterramiento anóxico o subanóxico.

5.5. DISTRIBUTION OF THE LIGNIN OXIDATION PRODUCTS

5.5.1. Description of lignin parameters

Eight lignin oxidation products (LOP) have been identified and quantified by GC/MS, along with an additional by-product oxidation (3,5-dihydroxybenzoic acid: 3,5-Bd). The eight LOP monomers, which are divided into three families: cinnamyls, syringyls and vanillyls (Hedges and Mann, 1979), have been used extensively in geochemistry to characterize sources and diagenetic state of vascular plant materials found in aquatic systems (e.g. Hedges *et al.*, 1984; Gough *et al.*, 1993; Prah *et al.*, 1994; Goñi *et al.*, 1997; Louchouart *et al.*, 1997, 1999). On the other hand, 3,5-Bd is a CuO oxidation product cited in the literature as a common product of soil degradation processes (Christman and Oglesby, 1971; Ugolini *et al.*, 1981; Prah *et al.*, 1994; Louchouart and Lucotte, 1998; Louchouart *et al.*, 1999). Despite its still uncertain origin, its virtually absence in fresh vascular plant materials (Louchouart, 1997), its phenolic structure and relative increased concentration in soil organic matter (OM) suggest that this compound may be a degradation by-product of fresh vascular plant macromolecules (e.g. tannins and other flavonoids; Christman and Oglesby, 1971; Goñi and Hedges, 1995; Louchouart *et al.*, 1999), that accumulates in soils during OM humification processes (Ugolini *et al.*, 1981; Prah *et al.*, 1994; Louchouart, 1997; Louchouart *et al.*, 1999).

The sum of all eight lignin-derived phenolic monomers in samples is expressed as a normalized yield to total dry mass of the sample (mg/gdw) or to TOC (mg/100 mg TOC; Hedges and Mann, 1979). Normalization of biomarkers to total bulk OM content helps to obtain information about changes in OM composition within sample to complex organic mixtures (cf. Hedges and Prah, 1993) and to identify process of specific preferential enrichment/depletion of the biomarkers, along a source-to-sink or size fraction continuum (cf. Hedges and Prah, 1993; Keil *et al.*, 1998).

Additionally, internal parameters based on specific phenolic CuO oxidation products highlight compositional differences in OM sources and thus provide a means of discriminating between taxonomic vascular plant groups (gymnosperms vs. angiosperms), tissue types (soft tissue vs. woody tissues) and diagenetic state or alteration of the original lignin materials (Hedges and Mann, 1979; Goñi and Hedges, 1992; Opsahl and Benner, 1995; Klap *et al.*, 1999; Louchouart *et al.*, 1997, 1999). For example, ratios of syringyl over vanillyl phenols (S/V) appreciably greater than zero in

complex environmental mixtures is usually indicative of the presence of at least some angiosperm tissues, since syringyl phenols are only incorporated in significant amounts in angiosperms tissues, while vanillyl phenols are present in all types of vascular plant tissues. Ratios of cinnamyl to vanillyl phenols (C/V) greater than zero is sign of the presence of nonwoody materials, since cinnamyl subunits are only abundant in nonwoody tissues (ex. leaves, bark, needles and pollen; Sarkanen and Ludwig, 1971; Hedges and Mann, 1979; Goñi and Hedges, 1992; Opsahl and Benner, 1995). Such signatures, however, are not completely stable, since LOP parameters do not behave conservatively during degradation (Hedges *et al.*, 1988 b; Goñi *et al.*, 1993; Opsahl and Benner, 1995; Klap *et al.*, 1999; Louchouart *et al.*, 1999). Selective alteration of lignin subunits during biological or photochemical degradation (Haddad *et al.*, 1992; Opsahl and Benner, 1995; Klap *et al.*, 1999) may affect, not only the relative yield of lignin, but equally the intensive ratios particularly useful for source reconstructions (cf. Hedges and Prahl, 1993), complicating the characterization of natural mixtures.

A solution to this problem is to estimate the extent of degradation the original materials have suffered previous to sampling. With this aim, different degradation state ratios have been applied to monitor the degradation extent of original vascular plant materials. On one hand, the acid to aldehyde ratio of vanillyl phenols ($[Ad/Al]_V$) provides information relative to fungal and microbial degradation of lignin, since vanillic acid is known to become more abundant during these types of degradation (Hedges *et al.*, 1988 a; Goñi *et al.*, 1993; Opsahl and Benner, 1995), substantially elevating the $(Ad/Al)_V$ ratio above the range typical of fresh plant tissues (0,15–0,30; Hedges *et al.*, 1986; Goñi and Hedges, 1992). The 3,5-Bd, regularly found within marine sediments (Gough *et al.*, 1993; Prahl *et al.*, 1994; Goñi and Hedges, 1995; Louchouart and Lucotte, 1998), has been defined as a common product of soil degradation processes (Christman and Oglesby, 1971; Ugolini *et al.*, 1981; Prahl *et al.*, 1994), indicating certain degree of OM maturation (Ugolini *et al.*, 1981; Prahl *et al.*, 1994; Louchouart, 1997; Louchouart *et al.*, 1999). Although this compound may also be found in sediments receiving rich inputs of kelps and brown macroalgae (these aquatic plants are known to release significant amounts of 3,5-Bd upon CuO oxidation; Goñi and Hedges, 1995), in terrestrial and marine systems where these plant sources are absent, the ratio of 3,5-Bd to vanillyl phenols (3,5-Bd/V) has been applied, in conjunction to the $(Ad/Al)_V$ ratio, to characterize the degradation state of complex terrigenous organic mixtures (Prahl *et al.*, 1994; Louchouart *et al.*, 1999). Moreover, the restricted distribution area of these organisms (Prahl *et al.*, 1994) makes it unlikely

the presence of this interference in the present area of study and allows us to consider it as a tracer of soil OM in the sediments.

Some other ratios, such as p-coumaric acid to ferulic acid (CAD/FAD) or p-hydroxyl phenols to the sum of syringyl and vanillyl phenols ($P/[V+S]$), afford information about selective dissolution/sorption processes (Houel *et al.*, 2006) or specific lignin degradation pathways (brown-rot, Dittmar and Lara, 2001). All these ratios have been applied to the sediments to characterize their taxonomic provenance, sources and alteration state. Of particular interest is the comparison of ratio signatures between bulk sediments (BS) and extracted humic acids (HA), which permitted a finer analysis of the OM degradation state and improved the source reconstruction efforts for terrestrial OM inputs.

5.5.2. Compositional characteristics of the sediments

Elemental, molecular and stable C isotopic compositions from BS and HA are presented in Table 5.5.1. As previously mentioned (section 5.1), TOC concentration of BS ranged from 0,5 to 1,54 mg/100 mgdw. Samples from stations S-11, S12, and S-14 (11,9; 10,0 and 21,9 km from the coast, respectively) showed the highest TOC content with values close to twofold higher than the overall average (Fig. 5.5.1). The mass-normalized lignin distributions was relatively constant throughout the sediments (Σ_8 : $0,14 \pm 0,08$ mg/gdw) with slightly more elevated values at stations S-1, S-3, S-10, S-11 and S-12. The TOC-normalized yields of lignin do show a larger variability (Λ_8 : $1,6 \pm 0,8$ mg/100 mg TOC) with two stations (S-7 and S-10) containing particularly large amounts of lignin (2,92 and 2,56 mg/100 mg TOC, respectively; Table 5.5.1). All other stations show a fourfold decrease in Λ_8 values along the Guadiana River plume transect basinward (2,5 to 0,6 mg/100 mg TOC). The previously reported (Table 5.1.2) isotopic composition variability of the shelf sediments ($\delta^{13}C = -24,3 \pm 1,28\%$) was consistent with that of lignin yields. Overall, higher TOC-normalized yields were found in the innermost stations in agreement with lighter $\delta^{13}C$ values (Table 5.5.1), whereas lower Λ_8 occurred in basinward sediments characterized by heavier isotopic signatures ($-22,6\%$ to $-23,1\%$). This heterogeneous composition probably reflects varying proportions of lignin-rich OM related with size sorting, since larger particles, including vascular plant detritus, are typically retained within inshore sediments (e.g. Yunker *et al.*, 1993; Keil *et al.*, 1997). This process would explain the enhance lignin yields observed in the sediments closer to the mouths of both the Guadiana and Tinto-Odiel Rivers, where higher sand proportions (3-52%; Table 5.1.1) were observed.

The lipid biomarker patterns distribution (section 5.3) has previously described the influence of continental inputs on the sedimentary record of the inner shelf. According to those results, land-derived long-chain hydrocarbon assemblages were observed almost exclusively in sediments closer to Guadiana, whereas all remaining samples predominantly displayed typical short-chain marine signatures. Consistent with these observations, lignin-rich samples are located closer to the Guadiana River, with Λ_8 yields ranging from 1,40 to 2,52 mg/100 mg TOC. Downstream from the Guadiana River plume, sediments displayed Λ_8 values $< 0,83$ mg/100 mg TOC. The station S-7 presents a striking discrepancy, however, showing lignin yields that exceed all other reported values (2,92 mg/100 mg TOC), despite the largely marine hydrocarbon signature displayed by the lipids. Due to the location of this sample, the land-derived TOC supply seems to be responding to contributions from the Tinto & Odiel system, rather than to the Guadiana River, agreeing with metals distribution (section 5.2). Furthermore, it is important to note the relatively heavy $\delta^{13}\text{C}$ measured on S-7 ($-23,0\text{‰}$), in relation with its high Λ_8 yield. Considering the abundance of grassland and brush vegetation described around the Tinto & Odiel watershed (e.g. *Cytisus*, *Cistus*, *Halimium*, *Artemisia*, *Ceratonia*, *Limoniastrum*, *Arthrocnemum*; Ruiz de la Torre, 1990; see Anexo), inputs of OM from C4-plants could have a significant influence on this sediment, leading to isotopic signatures that are indistinguishable from those typical of marine OM (C4: -9‰ to -14‰ ; e.g. Hayes, 1993).

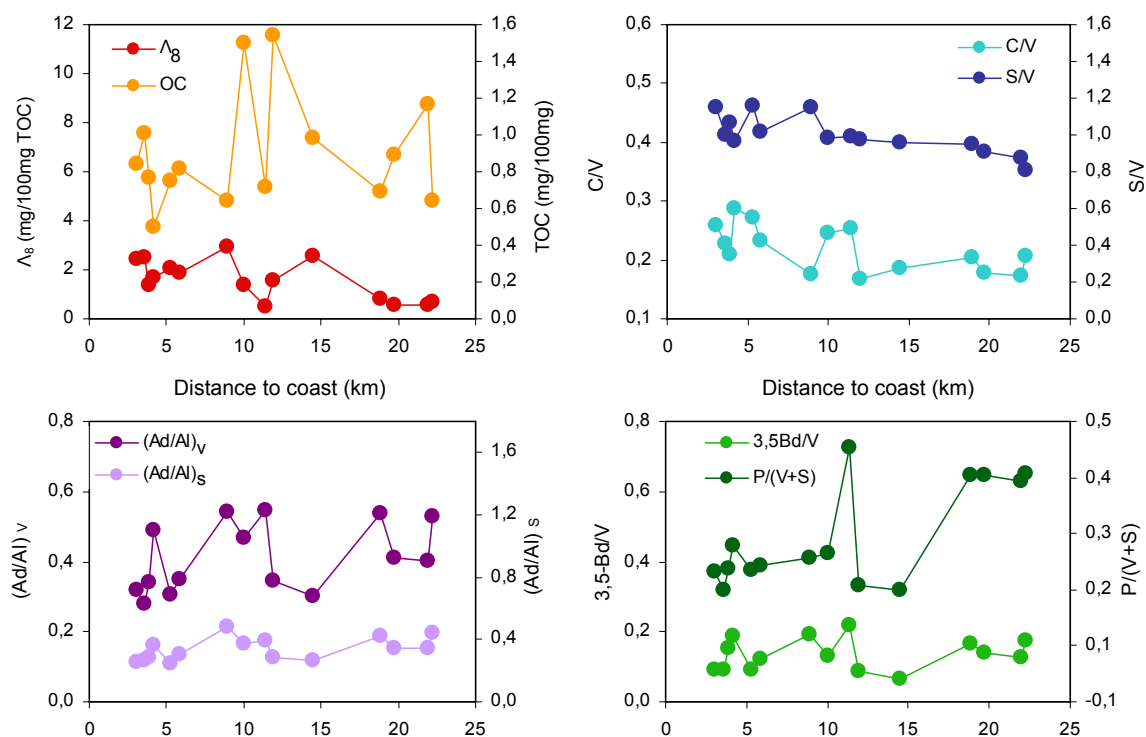


Figure 5.5.1.- Organic matter, lignin yield and biomarker ratios distribution of the bulk sediments along the distance to land.

Table 5.5.1.- Elemental and molecular composition and molecular intensive ratios of bulk sediments and humic acids. TOC: Total organic C (mg/100 mgdw); (C/N): total organic C to total N atomic ratio; $\delta^{13}\text{C}$: stable C isotopic composition of total organic C (‰ PDB); Σ_8 : mass-normalized yield of the eight lignin-derived phenolic oxidation products (mg/gdw); Λ_8 : C-normalized yield of the eight lignin-derived phenolic oxidation products (mg/100 mg TOC); (S/V): ratio of syringyl to vanillyl phenols; (C/V): ratio of cinnamyl to vanillyl phenols; (Ad/Al)_v: ratio of vanillic acid to vanillin; (Ad/Al)_s: ratio of syringic acid to syringin; (3,5Bd/V): ratio of di-hydroxybenzoic acid to vanillic acid; [P/(V+S)]: ratio of p-hydroxyl phenols to the sum of vanillyl and syringyl phenols; (PON/P): ratio of p-hydroxyacetophenone to total p-hydroxyl phenols; (CAD/FAD): ratio of p-coumaric acid to ferulic acid; TOM: terrigenous organic matter (mg/100 mg); HA-Lg: humic acids-derived lignin relative to total lignin yield (mg/100 mg).

	BS-1	BS-2	BS-3	BS-4	BS-5	BS-6	BS-7	BS-8	BS-9	BS-10	BS-11	BS-12	BS-13	BS-14	BS-15	Min.	Aver.	Max.	SD	RSD
TOC	1,01	077	0,84	0,75	0,82	0,50	0,64	0,89	0,64	0,98	1,54	1,50	0,72	1,17	0,69	0,50	0,90	1,54	0,30	33,7%
C/N	9,8	8,2	7,0	7,3	8,0	7,3	6,8	8,7	6,8	7,1	23,3	14,6	8,4	n.m.	6,2	6,2	9,2	23,3	4,6	49,3%
$\delta^{13}\text{C}$	-25,9	-25,3	-25,5	-25,5	-25,7	-25,1	-23,0	-22,8	-23,0	-24,4	-24,7	-25,5	-22,6	-23,1	-22,8	-25,9	-24,3	-22,6	1,3	5,3%
Σ_8	0,25	0,10	0,21	0,16	0,15	0,08	0,19	0,05	0,04	0,25	0,24	0,21	0,04	0,07	0,06	0,04	0,14	0,25	0,08	58,1%
Λ_8	2,50	1,35	2,45	2,08	1,89	1,68	2,92	0,56	0,69	2,56	1,57	1,40	0,52	0,58	0,83	0,52	1,57	2,92	0,82	51,9%
C/V	0,23	0,21	0,26	0,27	0,23	0,29	0,18	0,18	0,21	0,19	0,17	0,25	0,25	0,17	0,20	0,17	0,22	0,29	0,04	17,6%
S/V	1,00	1,07	1,15	1,16	1,02	0,97	1,15	0,91	0,81	0,96	0,97	0,98	0,99	0,87	0,95	0,81	1,00	1,16	0,10	10,2%
(Ad/Al) _v	0,28	0,34	0,32	0,30	0,35	0,49	0,54	0,41	0,53	0,30	0,34	0,47	0,55	0,40	0,54	0,28	0,41	0,55	0,10	24,0%
(Ad/Al) _s	0,27	0,28	0,26	0,25	0,30	0,37	0,48	0,35	0,44	0,27	0,29	0,37	0,39	0,34	0,42	0,25	0,34	0,48	0,07	21,7%
3,5Bd/V	0,09	0,15	0,09	0,09	0,12	0,19	0,19	0,14	0,17	0,07	0,09	0,13	0,22	0,13	0,17	0,07	0,14	0,22	0,05	33,4%
P/(V+S)	0,15	0,19	0,18	0,18	0,19	0,23	0,21	0,35	0,36	0,15	0,16	0,22	0,40	0,34	0,35	0,15	0,24	0,40	0,09	36,7%
PON/P	0,26	0,24	0,22	0,21	0,22	0,23	0,30	0,28	0,23	0,21	0,22	0,22	0,23	0,24	0,22	0,21	0,23	0,30	0,03	10,8%
CAD/FAD	0,90	1,09	1,08	0,95	1,10	1,15	0,56	1,42	1,53	1,07	1,08	1,15	1,63	1,35	1,66	0,56	1,18	1,66	0,29	24,9%
TOM	81,0	69,9	73,2	72,5	77,5	65,9	n,m,	24,9	29,5	53,0	58,4	73,7	21,5	30,7	25,2	21,5	54,1	81,0	22,7	41,9%
	HA-1	HA-2	HA-3	HA-4	HA-5	HA-6	HA-7	HA-8	HA-9	HA-10	HA-11	HA-12	HA-13	HA-14	HA-15	min	aver	max	SD	RSD
TOC	52,2	48,0	n.m.	50,0	52,4	52,1	51,4	51,5	52,9	51,7	52,2	52,2	n.m.	51,4	47,4	41,9	50,5	52,9	3,0	5,9%
C/N	13,0	13,2	n.m.	9,8	12,8	11,1	10,9	11,6	12,1	10,4	13,0	13,7	n.m.	11,6	11,1	8,0	11,6	13,7	1,5	13,3%
Σ_8^a	2,64	9,10	n.m.	7,53	9,47	8,53	3,19	2,24	1,99	2,56	6,18	7,36	n.m.	2,67	6,15	1,99	5,35	9,47	2,87	53,7%
Λ_8^a	0,51	1,90	n.m.	1,51	1,81	1,64	0,62	0,44	0,38	0,50	1,18	1,41	n.m.	0,52	1,30	0,38	1,05	1,90	0,57	54,5%
HA-Lg	2,0	67,5	n.m.	2,4	23,2	23,3	3,1	11,1	12,4	2,2	14,1	18,8	n.m.	14,6	38,5	2,0	17,9	67,5	18,3	101,8%
C/V	0,29	0,16	n.m.	0,17	0,24	0,16	0,16	0,16	0,15	0,16	0,24	0,18	n.m.	0,16	0,20	0,15	0,19	0,29	0,04	24,3%
S/V	1,15	1,12	n.m.	1,34	1,37	1,21	1,33	1,17	1,11	1,21	1,24	1,27	n.m.	1,23	1,26	1,11	1,23	1,37	0,08	6,5%
(Ad/Al) _v	0,81	0,67	n.m.	0,74	0,77	0,63	0,92	1,09	1,09	0,94	0,85	0,74	n.m.	1,14	0,70	0,63	0,85	1,14	0,17	19,9%
(Ad/Al) _s	0,49	0,50	n.m.	0,51	0,52	0,46	0,57	0,70	0,62	0,63	0,57	0,58	n.m.	0,67	0,53	0,46	0,57	0,70	0,07	12,9%
3,5Bd/V	0,28	0,24	n.m.	0,18	0,25	0,16	0,27	0,37	0,39	0,33	0,31	0,19	n.m.	0,33	0,21	0,16	0,27	0,39	0,07	27,5%
P/(V+S)	0,52	0,21	n.m.	0,25	0,24	0,19	0,38	0,43	0,48	0,41	0,27	0,21	n.m.	0,39	0,25	0,19	0,32	0,52	0,11	35,0%
PON/P	0,26	0,24	n.m.	0,21	0,25	0,25	0,26	0,29	0,34	0,23	0,25	0,27	n.m.	0,28	0,24	0,21	0,26	0,34	0,03	12,5%
CAD/FAD	1,58	0,59	n.m.	0,65	0,97	0,59	0,64	0,75	0,72	0,64	0,79	0,55	n.m.	0,73	0,71	0,55	0,76	1,58	0,27	35,4%

Min.: minimum; Aver.: average; Max. maximum; SD: standard deviation, RSD: relative standard deviation; n.m.: not measured. ^a Calculated lignin yields are normalized to humic acids mass and total organic carbon.

The TOC-normalized lignin yield of HA vary from 0,38 to 1,90 mg/100 mg of the HA-TOC content (Table 5.5.1), representing between 2% and 67% of the BS lignin concentrations (Fig. 5.5.2), when expressed as part of the BS-TOC (0,05 to 0,91 mg/100 mg TOC). The distribution of HA-derived lignin among the samples (Fig. 5.5.3) show enhanced yields at HA-2, HA-4, HA-5 and HA -6 (respectively: 3,9; 5,3; 5,8 and 4,2 km to coast). Whereas HA-2 displays the highest amount (Λ_8 : 1,90 mg/100 mg TOC), accounting for a 67% of the total measured lignin, HA-5 (1,81 mg/100 mg TOC) and S-6 (1,64 mg/100 mg TOC) represent the 23% of their BS-derived lignin. On the other hand, the Λ_8 yield of HA-15 (1,30 mg/100 mg TOC) accounts for more than a third part of the BS lignin production (39%).

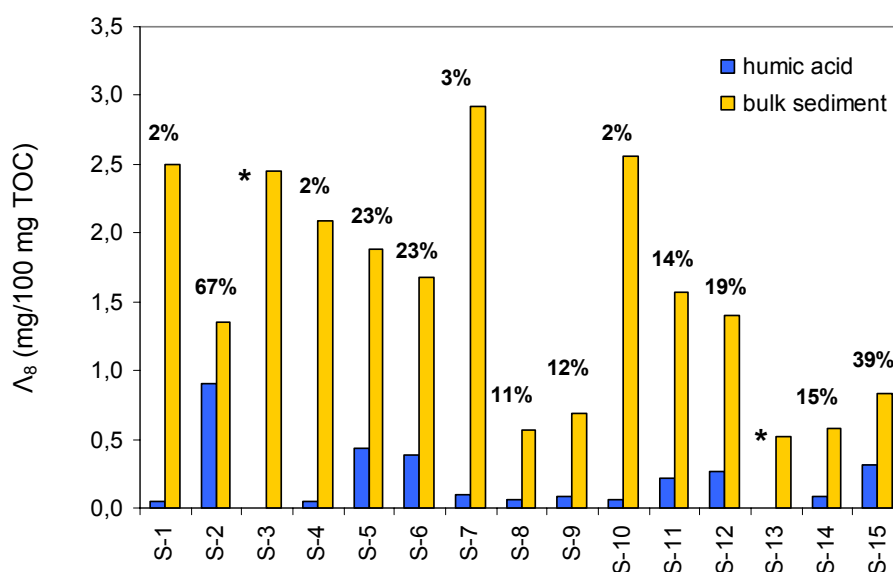


Figure 5.5.2.- Comparative lignin yield distribution between humic acids and bulk sediments among the samples. Percentages above the bars indicate proportions of humic acids lignin yields relative to BS's. Asterisks refer to those two samples (S-3 and S-13) whose humic acids were non extracted.

Elemental composition of OM, in conjunction with lignin concentration, can provide relevant qualitative information on the sources and compositional patterns of organic materials to the sedimentary record (Hamilton and Hedges, 1988; Hedges et al., 1988 b). The overall low TOC to total N atomic ratios (C/N) of the BS ($9,2 \pm 4,6$; Table 5.5.1) indicate a high proportion of authigenic marine OM contributing to the sedimentary record. A diagram representing lignin yields (Λ_8) vs. C/N of the BS (Fig. 5.5.4) has been built to reconstruct the compositional signatures of the marine sediments, in comparison with different environmental samples. The Λ_8 and C/N ratios of reference samples were adapted from Hedges *et al.*, 1986 (leaves and wood from

the Amazonian basin) and Farella (1998) (soils and humus). Since wood exhibits extremely high C/N values ($\sim 210 \pm 70$), which are completely out of the significant scales of the sediments, they have not been represented in this graph. Although the sediments display Λ_8 ratios close to those observed in soils ($\sim 0,8-3$ mg/100 mg TOC, Fig. 5.5.4), their low C/N ratios compared to those of the environmental materials (soil, leaves and humus), suggest the possible dilution of sedimentary OM (SOM) by particularly lignin-poor, N-rich materials or authigenic OM sources. With some exceptions, HA show higher C/N ratios than BS, approaching better to soil signatures.

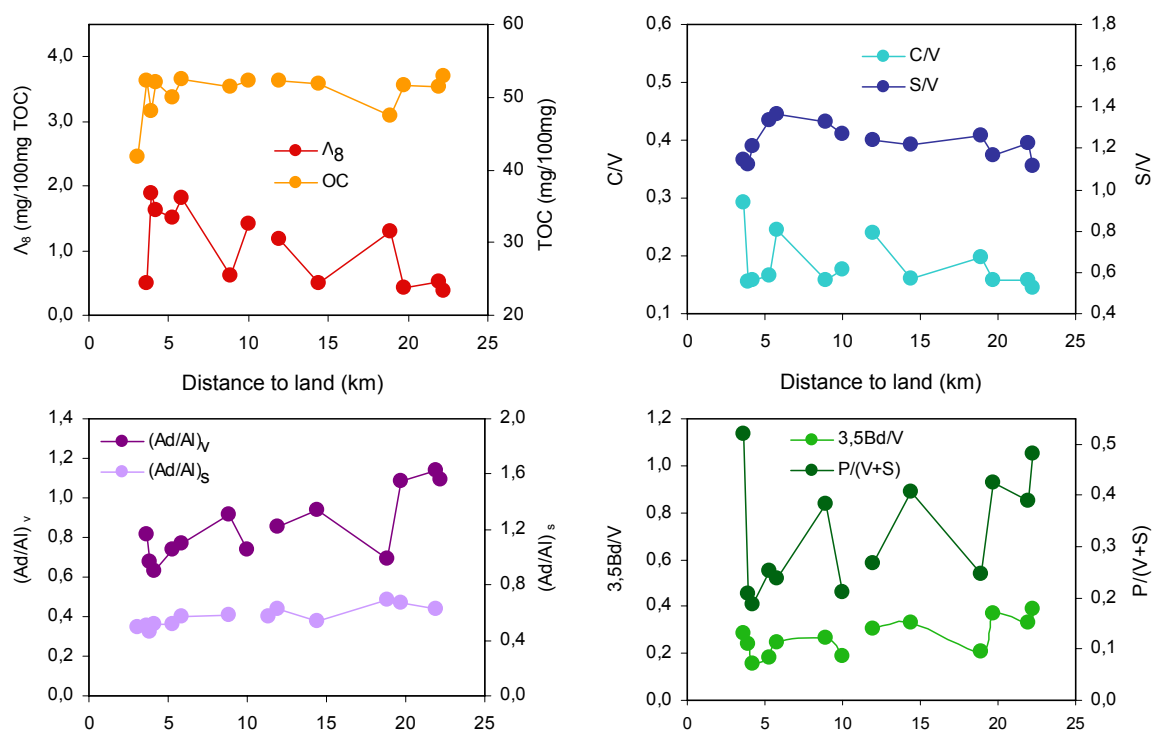


Figure 5.5.3.- Organic matter, lignin yield and biomarker ratios distribution of the humic acids samples along the distance to land.

5.5.3. Qualitative characterization of lignin sources

Examining the distribution of lignin compounds specifically derived from vascular plant supplies a further insight on the origin and nature of the land-derived OM in the study area (Goñi *et al.*, 2000). To reconstruct principal OM sources of the sediments and identify changes in the degradation state of humified related to bulk sedimentary matter (HA vs. BS), a property-property (C/V)-(S/V) diagram (Hedges and Mann, 1979) has been built (Fig. 5.5.5). It illustrates the LOP ratios corresponding to both BS and HA, as well as to the fraction resulted from subtracting the HA-lignin contribution from the BS signatures (BS-HA=NHA, non humic acids sedimentary

fraction). The sediment signatures were represented together with principal OM sources (soil, humus, wood and fresh leaves) and plant tissues types (gymnosperm and angiosperm woods, needles/leaves, barks). Average C/N and S/V ratios from environmental materials were adapted from identical sources as those described for the (C/N)- Λ_8 diagram (see section 5.5.2); signatures of different tissues types were taken from Goñi and Hedges, (1992).

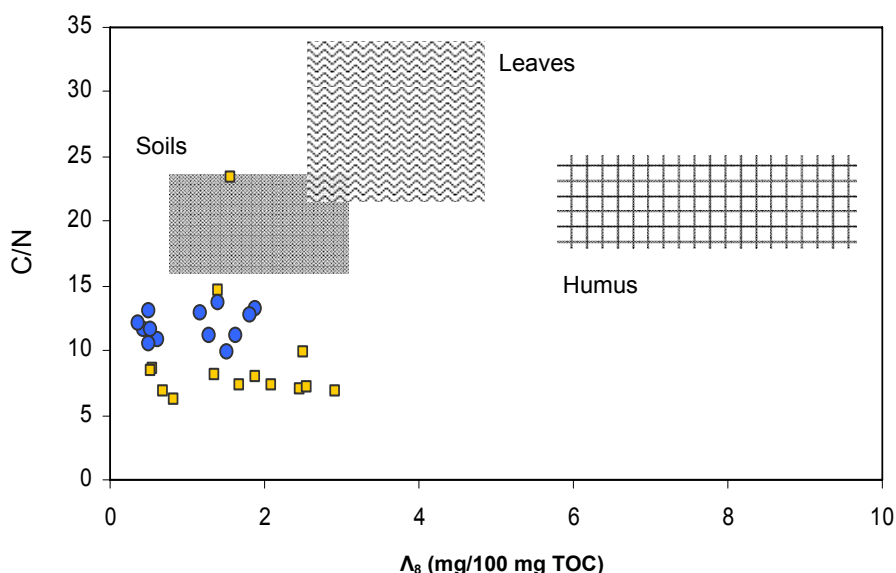


Figure 5.5.4.- Compositional signatures of organic matter in the sediment samples and different environmental compartments. Signatures of wood and leaves are taken from Hedges *et al.* (1986); signatures of humus and soil are adapted from Farella (1998). Orange squares represent the ratios corresponding to bulk sediments, blue circles to sedimentary humic acids.

The relatively high S/V ratios measured in the BS ($1,00 \pm 0,10$; Table 5.5.1, Fig. 5.5.5) indicate that an important fraction of the lignin yield by the SOM originates from angiosperm plants, since syringyl phenols are only incorporated in significant amounts in angiospermous lignins (Sarkanen and Ludwig, 1971; Hedges and Mann, 1979; Goñi and Hedges, 1992; Opsahl and Benner, 1995). However, it should be considered that these determinations might be hampered by the fact that diagenetic processes, such as photochemical degradation, can alter the compositional signature of lignin by preferentially degrading different phenol types, by over- or underestimating the S/V ratio (Haddad *et al.*, 1992; Opsahl and Benner, 1998; Hernes and Benner, 2003). However, despite the negative correlation ($r^2=0,535$) existing between S/V and distance to shore, the presumed alteration occurred on remoter samples along their longer transport basinward does not seem to have notoriously changed the OM source imprint, since more mature-HA S/V signatures (1,11-1,37) differ only slightly from those of BS (0,81-1,16).

On the other hand, the appreciably higher than zero C/V ratios displayed by BS (0,17 to 0,29; Table 5.5.1), suggest the presence of nonwoody tissues as input sources to lignin mixtures, since cinnamyls are only abundant in this type of tissues (Sarkanen and Ludwig, 1971; Hedges and Mann, 1979; Goñi and Hedges, 1992; Opsahl and Benner, 1995). Again, potential underestimation could be occurring on the C/V ratios, due to the selective degradation of cinnamyl relative to vanillyl moieties, particularly during leaching phases of fresh non-woody materials (e.g. Hedges and Prahl, 1993; Opsahl and Benner, 1995). The C/V ratio is known to decrease during the transfer of terrigenous OM from the water column to sediment deposits (e.g. Louchouart *et al.*, 1999) albeit, once within sediments, *in situ* alteration of lignin composition is usually minor and C/V signatures of mature OM can still retain a good amount of source information (Hedges *et al.*, 2000). Indeed, negligible variations on the C/V ratio distribution with increasing distance to shore were detected along the sediments. Moreover, the small differences observed on the C/V signatures of both BS (0,17-0,29) and HA (0,15-0,29), indicate that no significant source alteration has occurred within the sediments.

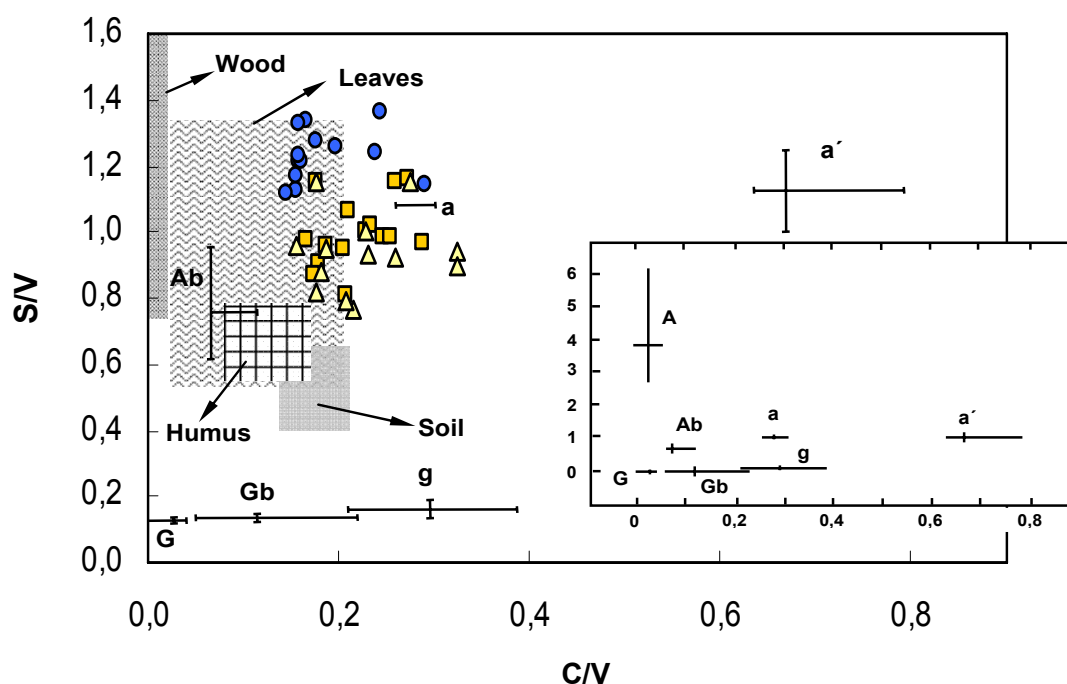


Figure 5.5.5.- Plot of the weight ratios of syringyl to vanillyl phenols (S/V) versus cinnamyl to vanillyl phenols (C/V) from the sediment samples, together with principal organic matter sources (wood, leaves, humus, soil) and different plant tissues types: (G) gymnosperm woods; (g) gymnosperm needles; (Gb) gymnosperm barks; (A) temperate angiosperm woods; (a) temperate angiosperm leaves; (a') temperate monocots; (Ab) temperate angiosperm barks. Signatures of wood and leaves are taken from Hedges *et al.* (1986); signatures of humus and soil are adapted from Farella (1998); signatures of tissues types come from Goñi and Hedges (1992). Orange squares represent ratios corresponding to bulk sediments; blue circles, to sedimentary humic acids and yellow triangles, to the non humic acid fraction.

It appears that, despite the differences on their diagenetic states, HA and NHA matrices show pretty similar sources signatures, in terms of taxonomic plants and tissues types (Fig. 5.5.5). According to this, it is assumed that S/V and S/V ratios can be still employed as valid source-reconstruction tools in this study. Therefore, it is inferred that the whole samples show a typical signature of temperate angiosperms leaves, with overall ratios ranging from 0,77 to 1,37 (S/V) and from 0,15 to 0,33 (C/V). Additional to these significative ratios, depleted $\delta^{13}\text{C}$ values ($-25,1\text{‰}$ to $-25,9\text{‰}$) displayed by close-to-Guadiana sediments (S-1, S-2, S-3, S-4, S-5, S-6 and S-12) suggest that most of the lignin exported to these innermost sediments is derived from non-woody angiosperm C3-plant sources, such as those described in the Guadiana mouth area (*Cytisus grandiflorus*, *Cistus sp.*, *Halimium halimifolium*, etc; Ruiz de la Torre, 1990; see Anexo).

5.5.4. Diagenetic state of the bulk sediments and humic acids

Further insight on the nature and composition of the land-derived OM in the study area can be gained by examining the distribution of compounds which inform about the samples degradation extent. The BS display relatively high vanillyl and syringyl acid/aldehyde ratios averaging $0,41\pm 0,10$ ($[\text{Ad}/\text{Al}]_V$) and $0,34\pm 0,07$ ($[\text{Ad}/\text{Al}]_S$; Table 5.5.1, Fig. 5.5.1). Values of $(\text{Ad}/\text{Al})_V$ that exceed 0,3-0,4, which is a range commonly found in fresh nonwoody materials (Goñi and Hedges, 1992), indicate unambiguously oxidative alteration of this ratio (Louchouart, 1997), since the vanillic acid is known to become more abundant during fungal and microbial degradation of lignin (Goñi *et al.*, 1993; Opsahl and Benner, 1995). Particularly, white- and soft-rot fungi (important microbial components of terrestrial soils) are known to increase the $(\text{Ad}/\text{Al})_V$ and $(\text{Ad}/\text{Al})_S$ ratios in vascular plant tissues during aerobic lignin degradation (e.g. Ertel and Edges, 1984; Goñi *et al.*, 1993; Nelson *et al.*, 1995). Such explanation has been previously used to explain the very high $(\text{Ad}/\text{Al})_V$ ratios (0,4 to 2,0) of aquatic and sedimentary humic substances (cf. Ertel and Hedges, 1984) and sorbed OM in mineral soils and marine sediments (cf. Ziegler *et al.*, 1986; Goñi *et al.*, 1998). However, certain fresh gymnosperm tissues (i.e. needles and barks) have high contents of $(\text{Ad}/\text{Al})_V$ attaining values similar to moderately degraded materials (0,3-0,4; Hedges *et al.*, 1988 c). Nevertheless, because the terrigenous plant material of these sediments seem to be predominantly comprised of non-woody angiosperm tissues, the mentioned relatively high acid/aldehyde ratios might indicate that at least part of the sedimentary lignin polymers has suffered oxidative degradation prior to its introduction in the ocean. A somewhat difference in the acid/aldehyde ratios distribution was

observed in a NW to SE gradient, displaying the sediments located close to the Guadiana mouth (S-1, S-2, S-3, S-4, S-5, S-6, S-10, S-11 and S-12) lower values ($[Ad/Al]_v$: $0,36\pm0,07$ and $[Ad/Al]_s$: $0,29\pm0,05$) than those located southeastward (S-7, S-8, S-9, S-13, S-14 and S-15; $[Ad/Al]_v$: $0,49\pm0,07$ and $[Ad/Al]_s$: $0,41\pm0,05$). In addition, a significant positive correlation ($r^2=0,94$) between $(Ad/Al)_v$ and $(Ad/Al)_s$ was found (Fig. 5.5.6), indicating parallel behaviours of both ratios and validating the diagnosis effect of $(Ad/Al)_s$ in this study in terms of degradation.

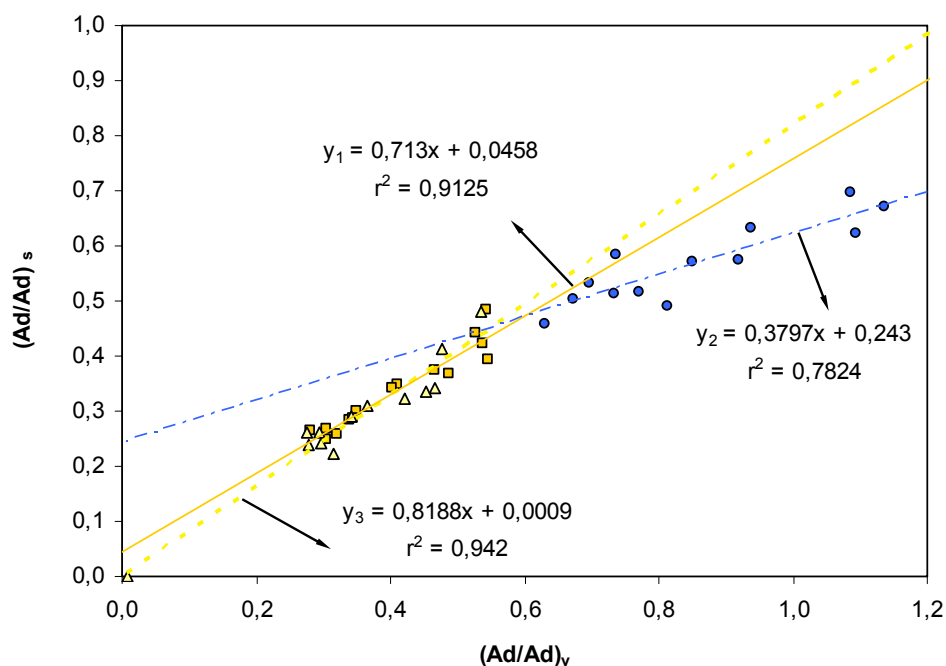


Figure 5.5.6.- Plot of the weight ratios of vanillyl versus syringyl acid/aldehyde for the sediments. Orange squares represent the ratios corresponding to bulk sediments, blue circles to humic acids and yellow triangles to non humic acids fractions. Subindexes 1, 2 and 3 correspond respectively to bulk sediments, humic acids and non humic acids fraction.

The significantly higher $(Ad/Al)_v$ and $(Ad/Al)_s$ ratios displayed by the HA (0,63-1,14 and 0,46-0,70, respectively; Table 5.5.1, Fig. 5.5.3) indicate that much of the lignin present in the humic fraction of the sediments has been degraded. Moreover, the translocation forward enhanced values of both ratios compared to the BS (Fig. 5.5.6), gives evidence of a more advanced degradation stage of the humic fraction compared to the bulk matrix. The similar positive relationship observed between $(Ad/Al)_v$ and $(Ad/Al)_s$ in BS was also detected for HA (r^2 : 0,78). By subtracting the $(Ad/Al)_v$ and $(Ad/Al)_s$ ratios corresponding to HA from the BS signatures, we obtained the degradation extent of NHA, which resulted pretty similar to that from BS. This means

that, despite the significative contribution of the HA-derived lignin to the BS in some samples (Fig. 5.5.2), little impact on the diagenetic state of the whole NHA matter was produced.

Another “alteration-signal” for naturally degraded lignin mixtures is the 3,5-Bd/V ratio, since 3,5-Bd is a common product of soil degradation processes (Christman and Oglesby, 1971; Ugolini *et al.*, 1981; Prahl *et al.*, 1994). The distribution of this ratio (Fig. 5.5.1) among the BS shows oscillations between 0,07 and 0,22 (Table 5.5.1), displaying slight higher values at S-2, S-6, S-7, S-9 and S-13 in general agreement with the enhanced $(Ad/Al)_v$ values. It has been inferred that the likely precursors of the phenolic product 3,5-Bd are not altered lignin macropolymers but tannins and other flavonoids with hydroxyl groups present in alternate positions on the aromatic rings (Christman and Oglesby, 1971; Goñi and Hedges, 1995). Because tannin-like materials tend to accumulate within decaying cells (de Leeuw and Largeau, 1993), the relative increase of this compound in deep soil minerals may be related to the extent of degradation and humification of fresh vascular plant tissues (Houel *et al.*, 2006), which is supported by extremely low 3,5-Bd content and 3,5-Bd/V ratios produced by fresh plant materials upon CuO oxidation (Louchouart, 1997). Thus, the increased 3,5-Bd/V ratios observed for the HA (0,16-0,39, Table 5.5.1) denote their enhanced degradation state relative to BS, that suggests different nature state of both HA and NHA terrigenous OM inputs to the sedimentary record (Houel *et al.*, 2006).

The use of the 3,5-Bd/V ratio in conjunction with $(Ad/Al)_v$ helps to discern diverse diagenetically alteration status because of the extensive relationship observed in wide ranges of natural samples (Louchouart, 1997). In this context, a diagram representing $(Ad/Al)_v$ vs. 3,5-Bd/V for the sediments, in addition with signatures from different environmental compartments, was constructed (Fig. 5.5.7) to characterizes the terrigenous OM of the sedimentary record. Signatures of soil and humus were taken from Farella (1998), while the 3,5-Bd/V ratio is assumed to be close to zero for wood and leaves, since 3,5-Bd is virtually absent from fresh vascular plant tissues (Louchouart, 1997). The $(Ad/Al)_v$ and 3,5-Bd/V signatures displayed by the whole sediments vary from those observed in fresh plant tissues to those from soil sources, appearing to represent a mixture of fresh and degraded terrigenous OM. The BS ratios plot closer to those from leaves signatures, whereas HA values show typical signatures corresponding to soils or even further degraded OM. However, the BS samples displaying the most enhanced extent of degradation fall in the lower range of soil signatures, pretty close to the less degraded HA (Fig. 5.5.7). This continuity in terms of

degradation extent among the samples is shown by almost identical lines slopes for BS and HA (0,41 and 0,39, respectively). The positive correlation existing between $(Ad/Al)_v$ and 3,5-Bd/V ratios for both BS ($r^2=0,81$) and HA ($r^2=0,80$), conduce to relate the effects derived from oxidative alterations with humification processes. Different distributions (BS vs. HA) of 3,5-Bd/V ratios among the samples (Fig. 5.5.1 and 5.5.3) indicate that HA-derived lignin contributions to sediments barely determine the BS degradation signature, agreeing with the interpretation previously exposed (see section 5.3.1).

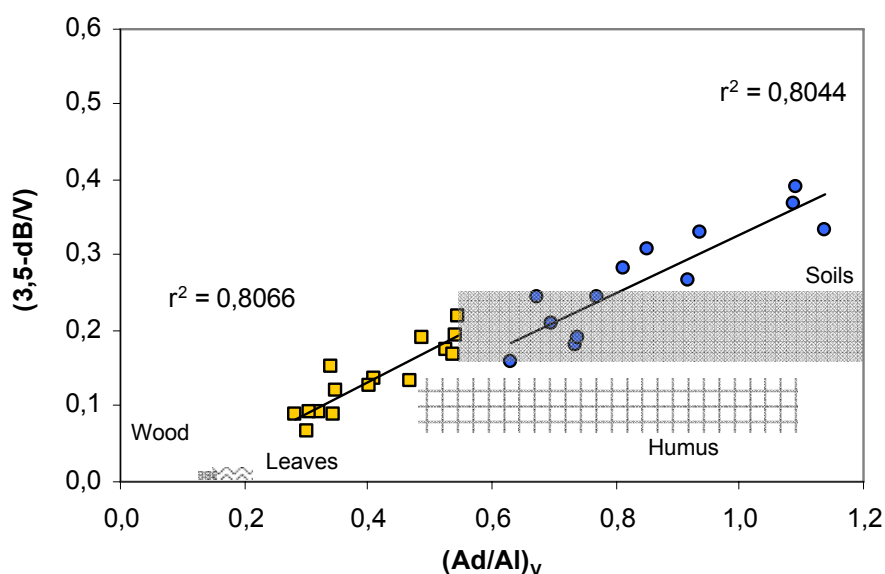


Figure 5.5.7.- Degradation state of the sediments and different environmental compartments. Signatures of wood and leaves are taken from Hedges *et al.* (1986); signatures of humus and soil are adapted from Farella (1998). Orange squares represent the ratios corresponding to bulk sediments, blue circles to sedimentary humic acids.

The higher maturity of HA-derived lignin relative to BS is also supported by the $P/(V+S)$ ratio (Table 5.5.1), attending to the enhanced values observed for the former (0,19-0,52) compared with the latter (0,15-0,40). In the same way that elevated 3,5-Bd/V indicates humification processes on soil OM, an increase in the $P/(V+S)$ ratio is indicative of a specific lignin degradation pathway (brown-rot) caused by different members of Basidiomycetes, leading to demethylation of methoxylated vanillyl and syringyl constituents (Dittmar and Lara, 2001). Although vascular plant tissues are not exclusive sources of P compounds (p-hydroxyl phenols), because they can also originate from plankton-derived amino acids (Gofñi and Hedges, 1995), in the present study p-hydroxyl phenol inputs from autochthonous sources are probably negligible,

since p-hydroxyacetophenone to total p-hydroxyl phenols ratios (PON/P) remains pretty constant ($0,23\pm 0,03$) throughout the samples. Since PON is derived exclusively from lignin constituents (Hedges *et al.*, 1988 a), this ratio has been used to verify lignin sources for P compounds in sedimentary systems (Dittmar and Lara, 2001). Therefore, in this study we can use the P/(V+S) ratio without limited effects in this regard, to assess the higher brown-rot degradation status of HA-derived lignin, in relation with corresponding BS's, particularly significative at S-1 (Table 5.5.1). The parallelism observed in the distribution of both P/(V+S) and 3,5-Bd/V ratios for the HA (Fig. 5.5.3) illustrates the positive correlation ($r^2=0,61$) existing between their humification extent and brown-rot degradation processes, caused by members of fungi Basidiomycetes (e.g. Eriksson *et al.*, 1990). The absence of a good correlation between P/(V+S) and 3,5-Bd/V ratios observed within the BS ($r^2=0,43$), suggest that such a sub-aerial degradation association is no that strong for the NHA sedimentary matter.

The same pattern followed by the $(Ad/Al)_v$ and $(Ad/Al)_s$ ratios along the NW-to-SE gradient was also observed for P/(V+S) and 3,5-Bd/V (Table 5.5.1), suggesting a less extent of degradation within close-to-Guadiana sediments ($P/[V+S]= 0,18\pm 0,03$ and $3,5-Bd/V= 0,11\pm 0,04$) than within offshore stations ($P/[V+S]= 0,34\pm 0,07$ and $3,5-Bd/V= 0,17\pm 0,03$). It appears that richer-lignin and undegraded material preferentially remains close to land, whereas poor-lignin and more-degraded material has gained a longer distance forward the mentioned SE direction. Such a preferential transport of low-density material (i.e. cutin acids and degraded lignin residues) over heavier material (undegraded lignin residues) has been previously reported along a land-to-sea continuum (Gough *et al.*, 1993; Prah *et al.*, 1994; Louchouart *et al.*, 1997). However, the particular idiosyncrasy of the environment studied, characterized by southeastward coastal dynamics and dominant winds (Morales, 1997; Lobo *et al.*, 2001), together with the SE-major sediments input to Gulf of Cádiz corresponding to Guadiana River (see section 3.3), presumably determine the preferential transport along such a special land-to-sea gradient (NW-to-SE).

The CAD/FAD ratio varies among the BS from 0,56 at S-7 to 1,66 at S-15 (Table 5.5.1), displaying the HA similar ranges (0,55-1,58). Such a low ratios appear to be closer to soil than to sediment signatures (Houel *et al.*, 2006), pointing out leaching rather than degradation processes as more responsible for such a values, since the potentially higher susceptibility to these processes presented respectively by FAD and CAD (Houel *et al.*, 2006). This fact allows to consider the CAD/FAD ratio as an useful qualitative marker of selective dissolution/sorption processes, by causing the depletion

of the CAD units. The small differences on CAD/FAD ratios observed among the samples ($BS=1,18\pm 0,29$ and $HA=0,76\pm 0,30$) suggest little impact of these processes.

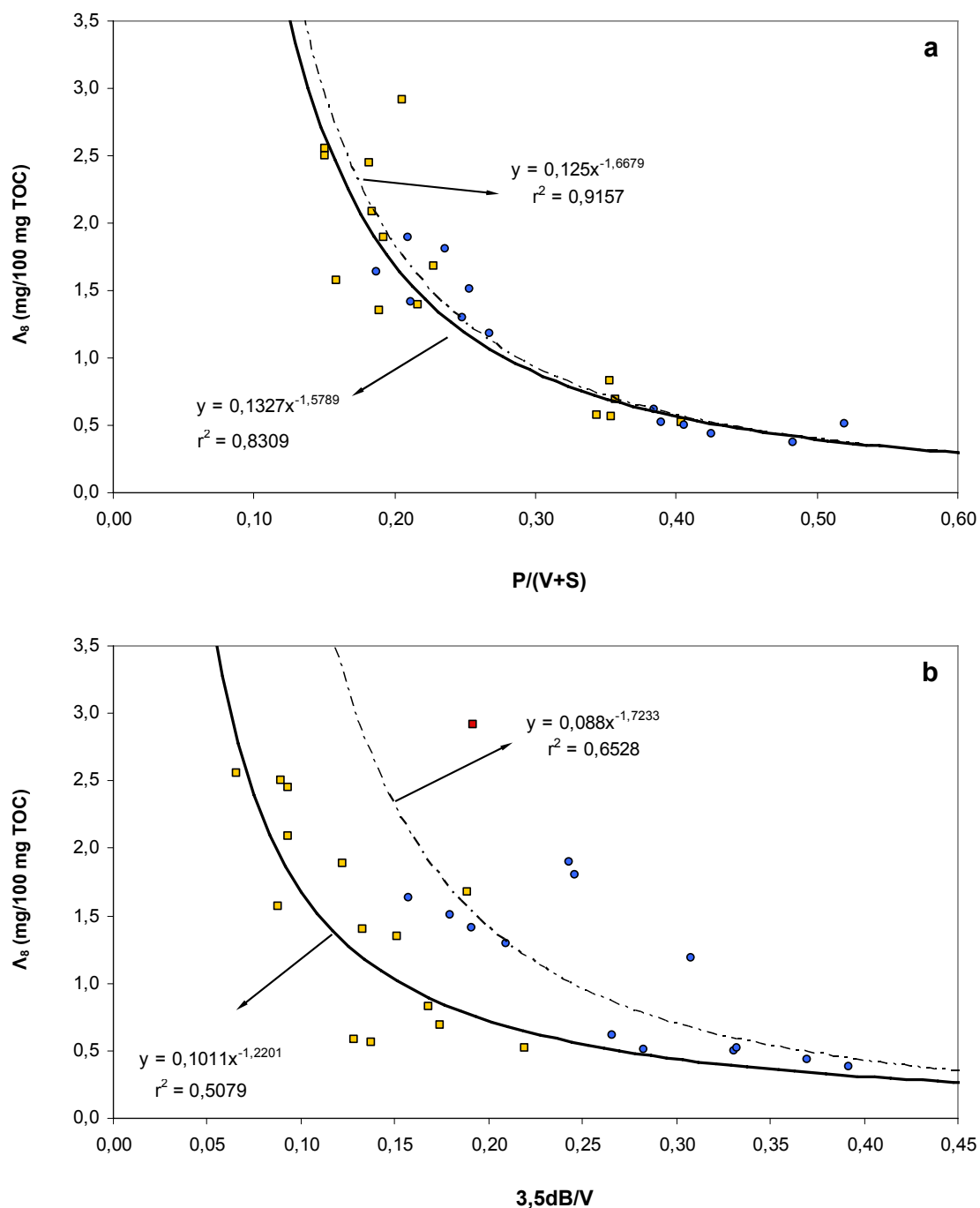


Figure 5.5.8.- Degradation biomarker signatures of the Gulf of Cádiz shelf sediments in comparison with values based in the mixing model between surface litter and deep mineral soil organic matter endmembers, according with Houel *et al.* (2006). Distribution of Λ_8 versus (a) $P/(V+S)$ and (b) $3,5Bd/V$ ratios. Orange squares represent the ratios corresponding to bulk sediments, blue circles to sedimentary humic acids. Red square in plot b refers to the bulk sediment S-7, which has not been taken into account for the regression curve (see discussion).

The strong nonlinear relationship observed between TOC-normalized lignin yields (Λ_8) and biomarker ratios ($P/[V+S]$ and 3,5-Bd/V) of both BS and HA (Fig. 5.5.8) are consistent with the mixing behaviour predicted by Houel *et al.* (2006) for lacustrine sediments. They reported that signatures in sediments from a boreal reservoir in Québec (Canada) were controlled by a conservative mixture between two identified pools: lignin-rich litter and poor-lignin inorganic soil OM, corresponding to identified surface and mineral soil endmembers. In this context, the present samples distribute according to a good nonlinear relationship ($r^2=0,83$ for BS and $r^2=0,92$ for HA) between their Λ_8 lignin yield and degradation extent ($P/[V+S]$), appearing to respond to a mixture between fresher lignin-rich matter and more altered lignin-poor particles (Fig. 5.5.8 a), where HA are closer to the latter. In contrast, the mixing model using Λ_8 versus the 3,5-Bd/V ratio (Fig. 5.5.8 b) does not fit as well as the latter, displaying a moderate ($r^2=0,65$) and weak ($r^2=0,27$) nonlinear correlations for HA and BS, respectively. However, if excluding the lignin yield corresponding to S-7, since that sample appeared to be responding to a different lignin distribution pattern (see section 5.5.2), the nonlinear correlation improves substantially for BS ($r^2: 0,51$). Anyway, the mixing model does not fit as well to the BS samples regarding the 3,5-Bd/V ratio, as to the HA samples, which responds better to the humification indicator, plotting most of the samples forward a further degraded signature.

5.5.5. Abundance of terrestrial organic matter within the Gulf of Cádiz sedimentary record

Since the land-derived OM of the sedimentary record has been characterized, the abundance of this terrigenous fraction is estimated. The relative proportion of terrestrial and marine OM (%TOM and %MOM, respectively) present in the sediments would provide an added constraint to the development of accurate C budgets (Macdonald *et al.*, 1998). In this context, a two-endmember isotopic mass balance approach has been applied to estimate the abundance of %TOM occurring in the sediments (e.g. Hedges *et al.*, 1988 b; Prahil *et al.*, 1994; Louchouart *et al.*, 1999) and to contribute to define the C burial in this area. Considering that differences in $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ values of typical marine and terrigenous endmembers are small enough, all practicality naturally occurring $\delta^{13}\text{C}$ can be modeled as linear mixtures of two endmembers (Louchouart, 1999; Goñi *et al.*, 2000) according to:

$$\%TOM = 100 \times \frac{\delta^{13}\text{C} - \delta^{13}\text{C}_{\text{mar}}}{\delta^{13}\text{C}_{\text{terr}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{mar}}} \quad (I)$$

where $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{13}\text{C}_{\text{terr}}$ and $\delta^{13}\text{C}_{\text{mar}}$ are the isotopic signatures of the TOC, TOM and MOM endmembers. Then, the abundance of MOM is determined as $100 - \% \text{TOM}$. In this study, we have considered a value of -27‰ as typical $\delta^{13}\text{C}_{\text{terr}}$ signature (assuming a major participation of C3-plants) and to constrain the isotopic composition of marine-derived TOC, we have plotted the $\delta^{13}\text{C}$ determinations against TOC-normalized concentration of lignin (Fig. 5.5.9). Although there is a positive relationship between Λ_8 and $\delta^{13}\text{C}$, the correlation was weak ($r^2=0,33$) for the whole set of sediments. However, considering S-7 as an outlier, because of its response to a different lignin distribution pattern, and excluding it from these calculations, the correlation improved notoriously ($r^2=0,67$). Whereas the whole sediments show a terrigenous OM contribution depleting from Guadiana's mouth forward offshore sediments (SE direction), S-7 displays the highest TOC-normalized lignin yield and appears to be influenced by the Tinto and Odiel distribution system. This interpretation is supported by the higher accumulation of elements associated to sulphide deposits (As, Cu, Hg, Pb and Zn) detected in S-7 (section 5.2), which relate this sample to the historically rich-metal polluted Tinto-Odiel fluvial-estuarine system.

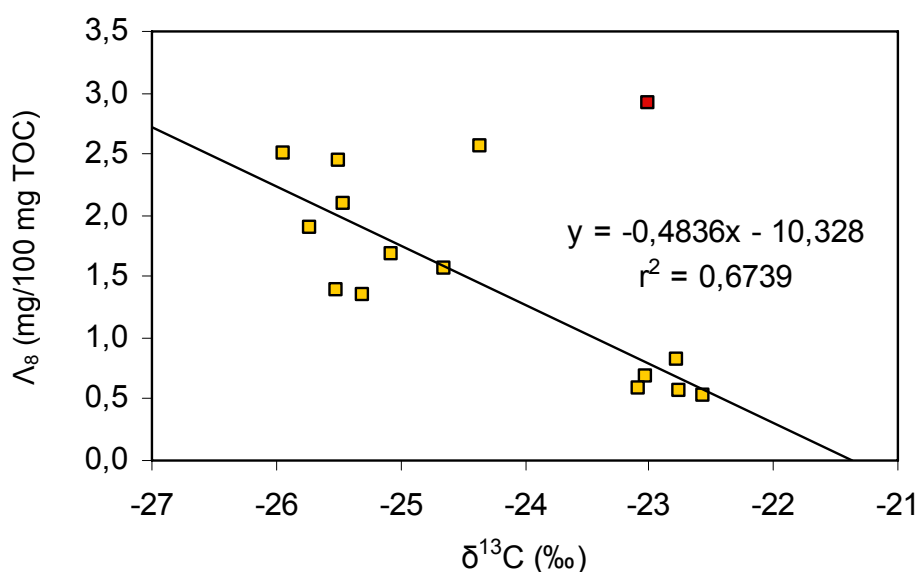


Figure 5.5.9.- Plot of the stable C isotopic composition vs. the TOC-normalized total lignin yields of the BS. Red square corresponds to S-7, which was excluded to build the tendency line (see discussion).

By forcing the tendency line forward the X-axis (i.e. zero lignin content), an average $\delta^{13}\text{C}_{\text{mar}}$ signature of $-21,4\text{‰}$ is obtained, which allow to calculate the ranges of $\% \text{TOM}$ (I) for the marine sediments (Table 5.5.1), except for S-7. By representing the abundance of TOM against distance to shore (Fig. 5.5.10), a decreasing gradient

forward the previously cited NW-to-SE-gradient was observed ($r^2=0,74$), showing higher terrigenous contributions (53%-81%) within the innermost sediments (S-1, S-2, S-3, S-4, S-5, S-6, S-10, S-11 and S-12) and lower %TOM (22%-31%) within basinward sediments (S-8, S-9, S-13, S-14 and S-15), which reveal dominant autochthonous inputs over land-derived materials. These results confirm the higher terrigenous character of the close-to-Guadiana sediments previously reported by means of lipid biomarkers and reveal a significative degree of spatial heterogeneity that must be accounted for in the determination of oceanic C budgets. Comparing both lignin and TOM spatial distributions (Fig. 5.5.11) the reported peculiarity of sample S-7 can be observed. Despite the homogeneous taxonomic origin of the land-derived OM among the samples, the highest TOC-normalized lignin yield displayed by S-7 (86% higher than average Λ_8), leads us to consider a different terrigenous influence pattern and to infer that its relatively heavy $\delta^{13}\text{C}$ signature ($-23,0\text{‰}$) could be due to some C_4 -plants OM inputs.

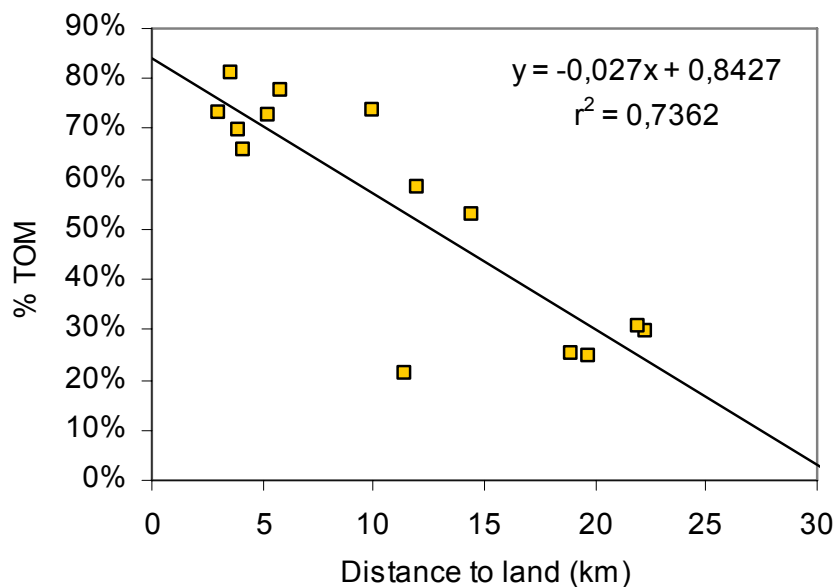


Figure 5.5.10.- Plot of the terrestrial organic matter proportion vs. distance to shore of the shelf sediments from Gulf of Cádiz. Sample S-7 was excluded for this estimation (see discussion).

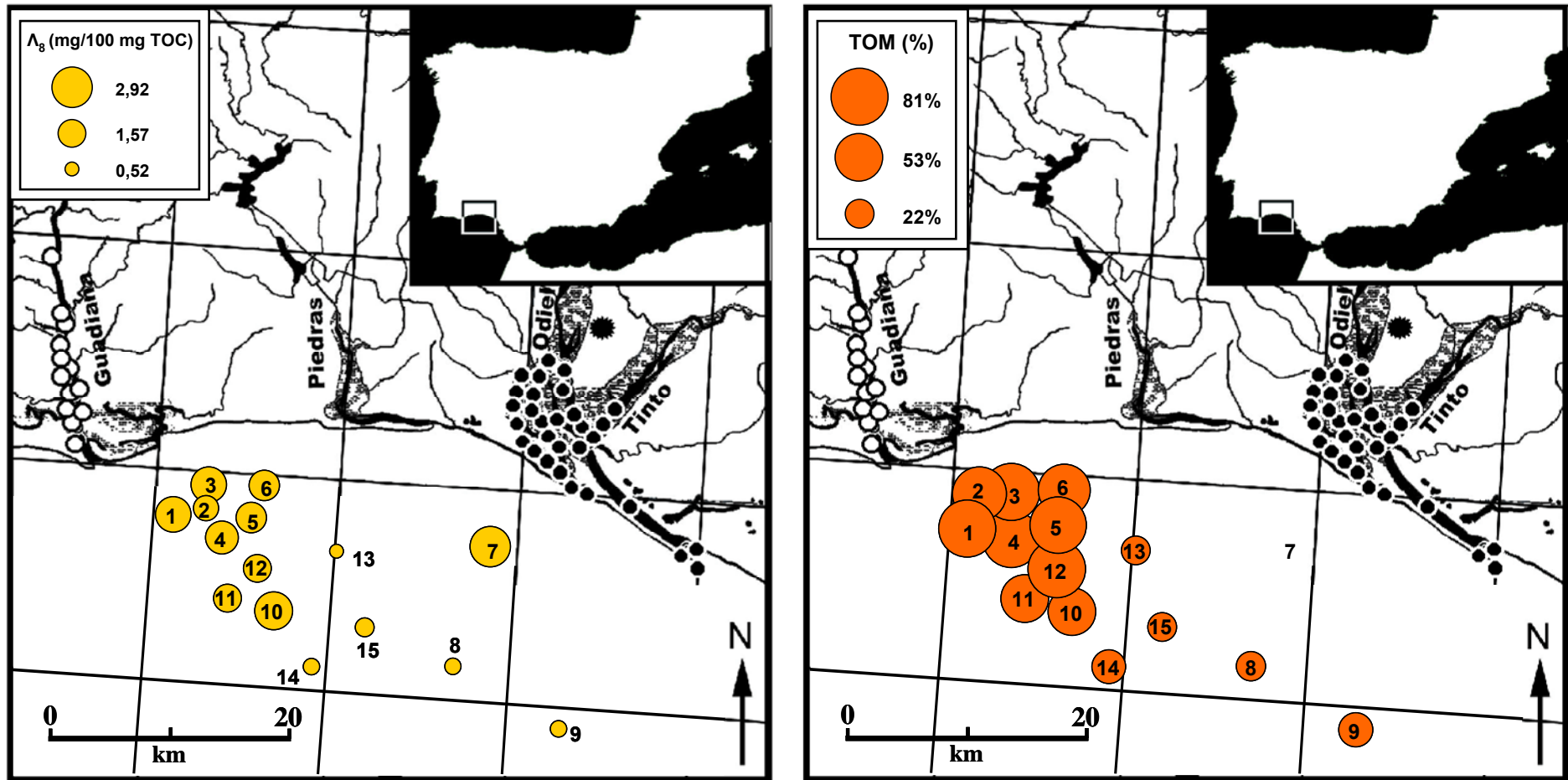


Figure 5.5.11.- Spatial variability of (a) C-normalized lignin yields (Λ_8 , mg/100 mg TOC) and (b) terrigenous organic matter (%TOM) for the BS. Note that S-7 was excluded for the TOM estimation (see discussion).

5.6. CARACTERIZACIÓN DE LA FRACCIÓN ORBÁNICA REFRACTARIA (*BLACK CARBON*)

Estudios recientes han confirmado la relevancia del BC en los ciclos biogeoquímicos globales del C y el O a través de su importante contribución al ciclo lento del C orgánico (Gélinas *et al.*, 2001). A pesar del extenso desarrollo que ha experimentado la investigación del BC en los últimos 30 años (Masiello, 2004), aún no existe un acuerdo general ni sobre los límites de su definición ni sobre su metodología de análisis. En líneas generales, se considera BC a toda aquella sustancia altamente refractaria producida por la combustión incompleta de biomasa vegetal y/o combustibles fósiles, relativamente resistente a la degradación y que se encuentra ampliamente extendido en la naturaleza (Goldberg, 1985). El BC incluye un amplio espectro de sustancias, que van desde el material parcialmente carbonizado (*charred* BC: CBC) hasta las partículas altamente condensadas o grafitizadas (GBC). De esta forma, se puede decir que la mayor parte de las metodologías desarrolladas para la cuantificación del BC lo que determinan en realidad son fracciones definidas operacionalmente.

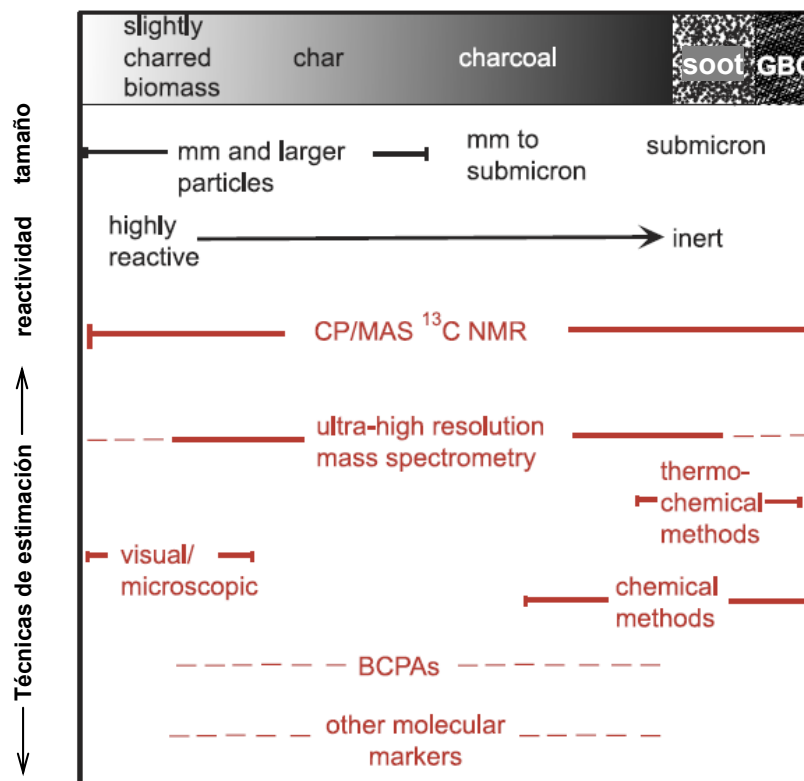


Figura 5.6.1.- Principales técnicas de análisis del *black carbon* y regiones de su espectro detectadas por cada una de ellas, en función de resultados publicados para distintos tipos de muestras y materiales de referencia (Masiello, 2004). BCPAs: ácidos bencenopolicarboxílicos (Gläser *et al.*, 1998).

Existen diversas técnicas de análisis (Fig. 5.6.1), basadas en diferentes principios y propiedades del BC (microscópicas, ópticas, térmicas, químicas, espectroscópicas y marcadores moleculares; Masiello *et al.*, 2004 y referencias citadas). Cada uno de los métodos individuales se encuentra ligado a diferentes interferencias y aísla distintos componentes dentro del espectro del BC, lo que podría explicar la disparidad entre los resultados publicados (e.g. Schmidt *et al.*, 2001). Además, la falta de detección de las fracciones más condensadas o de las estructuras menos resistentes, así como la interferencia de otros compuestos distintos del BC, constituyen inconvenientes habituales en la medida de BC. Así, cada una de las técnicas desarrolladas se considera más adecuada para medir determinadas fracciones del espectro, siendo más deficientes en la estimación de otras regiones. La técnica basada en la oxidación térmica, por ejemplo, se considera más afín a las fracciones condensadas y de menor tamaño de partícula del espectro del BC (GBC), mientras que está mucho más limitada para la detección del material carbonizado relacionado con la denominada fracción CBC.

En el caso particular de este estudio, la oxidación térmica parece una técnica especialmente conveniente, puesto que ha sido exitosamente aplicado y evaluado previamente en sedimentos de distinto origen (e.g. Gustafsson *et al.*, 1997; Gélinas *et al.*, 2001; Elmquist *et al.*, 2004). La aplicación paralela de una segunda técnica de oxidación química resulta un buen complemento para este análisis, por basarse en la cuantificación de BPCA que se consideran marcadores moleculares del material carbonizado y los residuos de combustión incompleta (CBC) (Hayatsu *et al.*, 1982), formados a temperaturas inferiores a las que se forma la fracción GBC (Gélinas *et al.*, 2001; Masiello, 2004).

5.6.1. Estimación del *black carbon* mediante oxidación térmica

La mencionada falta de acuerdo metodológico en la cuantificación del BC se extiende incluso dentro de la misma técnica, existiendo cierta controversia acerca de la idoneidad de someter o no las muestras, de forma previa a la oxidación térmica, a un tratamiento químico para eliminar potenciales interferentes. Algunos autores (e.g. Lim y Cachier, 1996; Gustafsson *et al.*, 1997; Gélinas *et al.*, 2001; Simpson y Hatcher, 2004 a) han expuesto la susceptibilidad del método térmico de producir artificialmente altos valores de BC como consecuencia de la producción de reacciones de condensación (“carbonización”, *charring* o *browning*), en las que el C orgánico que no es BC queda atrapado en forma de artefactos que impiden que se encuentre disponible frente al O₂, resistiendo así la oxidación térmica y siendo contabilizados

como parte del residuo final de BC (Gélinas *et al.*, 2001; Accardi-Day, 2003). El riesgo de que este proceso ocurra se relaciona principalmente con la presencia de matrices minerales complejas y macromoléculas ricas en N, que sufren depolimerización y volatilización a altas temperaturas, dando lugar a la condensación de radicales libres de los monómeros y oligómeros resultantes (Hedges *et al.*, 1988 c). De acuerdo con Gélinas *et al.* (2001), el tratamiento previo de las muestras con una mezcla ácida potente (HCl/HF/TFA) reduce la producción de estos artefactos y disminuye la posibilidad de sobreestimación del BC por esta causa. Sin embargo, el pretratamiento ácido puede constituir a su vez una fuente de pérdida de material derivada de los sucesivos procesos de lavado (Elmquist *et al.*, 2004), provocando que se pueda llegar a infravalorar el contenido de BC. De acuerdo con estos autores (Gustafsson *et al.*, 1997; Elmquist *et al.*, 2004), la aplicación directa de la combustión térmica constituye una práctica mucho más sencilla de estimación de BC, que evita la pérdida de material asociada al manejo de las muestras y, dependiendo de las características particulares de cada tipo de material, no tiene por qué generar artefactos. Según todo esto, en este estudio se ha considerado conveniente aplicar ambas versiones de la técnica de oxidación térmica (directa y con pretratamiento ácido) a un cierto número de muestras (S-3, S-5, S-8, S-11, S-12 y S-14), con el fin de evaluar su idoneidad para la cuantificación del BC contenido en este tipo de muestras.

Tabla 5.6.1.- Concentración de *black carbon* determinada mediante oxidación térmica. COT: C orgánico total (g/100 g); BC/sed: g BC/100 g sedimento; BC/COT: g BC/100 g COT; GBC: oxidación térmica (375° C/24h) con pretratamiento ácido (HCl/HF/TFA); CTO: oxidación térmica directa (375° C/24h); $\delta^{13}\text{C}$: composición isotópica del C orgánico (‰ PDB).

	COT	BC/sed		BC/COT		$\delta^{13}\text{C}$	
		GBC	CTO	GBC	CTO	GBC	CTO
S-1	1,01	0,087	n.m.	8,66	n.m.	-25,3	n.m.
S-2	0,77	0,112	n.m.	14,59	n.m.	-24,9	n.m.
S-3	0,84	0,030	0,082	3,58	9,75	-25,1	-28,2
S-4	0,75	0,030	n.m.	4,05	n.m.	-24,7	n.m.
S-5	0,82	0,027	0,099	3,33	12,09	-24,2	-27,8
S-6	0,50	0,018	n.m.	3,63	n.m.	-25,0	n.m.
S-7	0,64	0,019	n.m.	3,01	n.m.	-23,4	n.m.
S-8	0,89	0,033	0,111	3,66	12,47	-22,5	-26,1
S-9	0,64	0,046	n.m.	7,21	n.m.	-23,2	n.m.
S-10	0,98	0,035	n.m.	3,54	n.m.	-23,9	n.m.
S-11	1,40	0,042	0,133	3,01	9,54	-24,8	-26,0
S-12	1,38	0,043	0,112	3,10	8,12	-25,3	-25,6
S-13	0,72	0,014	n.m.	1,98	n.m.	-23,9	n.m.
S-14	1,12	0,039	0,090	3,52	8,04	-23,2	-26,9
S-15	0,69	0,026	n.m.	3,75	n.m.	-23,5	n.m.
Min.	0,50	0,014	0,08	1,98	8,04	-25,3	-28,2
Prom.	0,88	0,040	0,10	4,71	10,00	-24,2	-26,8
Max.	1,40	0,112	0,13	14,59	12,47	-22,5	-25,6
DE	0,26	0,026	0,02	3,22	1,90	0,9	1,1

n.m.: no medido; Min.: mínimo; Max: máximo; Prom.: promedio; DE: desviación estándar.

En la Tabla 5.6.1 se recogen las concentraciones de BC determinadas por oxidación térmica, expresadas respecto a la masa total de sedimento (g BC/100 g) y al contenido de COT (g BC/100 g COT). De acuerdo con lo expuesto en el apartado de materiales y métodos, los resultados relativos al proceso completo con tratamiento químico y oxidación térmica se han denominado con las siglas GBC (Gélinas *et al.*, 2001) y los derivados del análisis por oxidación térmica directa se han definido como CTO (Gustafsson *et al.*, 2001), de acuerdo con la nomenclatura utilizada por los autores de cada método.

Las concentraciones estimadas de GBC varían entre 0,014 y 0,112 g BC/100 g en el conjunto de los sedimentos, mientras que los resultados de las seis medidas CTO oscilan entre 0,082 y 0,133 g BC/100 g (Tabla 5.6.1). No se detecta gran heterogeneidad entre los resultados GBC de los sedimentos, que muestran un valor medio de 4,71 g BC/100 g COT, con pocos valores que lo superen (S-2, S-1 y S-9; Fig. 5.6.2). Aunque no se utilizaron réplicas en la aplicación de esta técnica, la reproducibilidad del proceso de oxidación fue previamente evaluado (mejor que 5%), mediante el análisis duplicado de dos sedimentos (S-5 y S-11) y dos materiales de referencia (*NIST SRM 1649a*: polvo atmosférico urbano y *NIST SRM 2869*: cenizas de carbón) comercializados por el *Nacional Institute of Standards and Technology*.

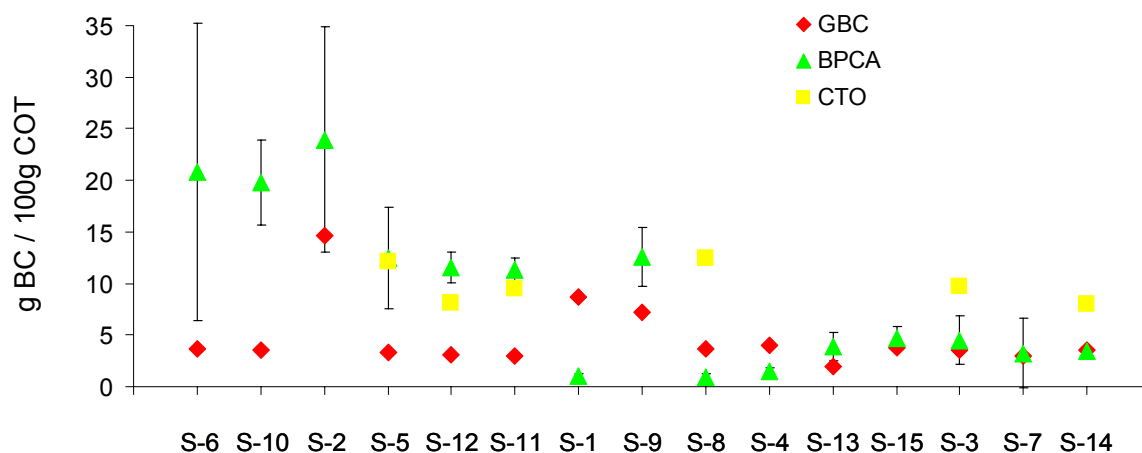


Figura 5.6.2.- Distribución de la concentración de *black carbon* determinada mediante las técnicas de oxidación térmica (GBC y CTO) y uso de marcadores moleculares (BPCA). Para facilitar la interpretación, los datos se han representado en orden decreciente de la diferencia entre los resultados BPCA y GBC.

Recientes estimaciones del depósito marino de BC barajan cifras muy distintas (Masiello, 2004), que oscilan entre 3 y 6 g/100 g COT, en regiones costeras como el Golfo de Maine (Gustafsson y Gschwend, 1998), hasta concentraciones >50 g/100 g COT, en sedimentos oceánicos profundos (Verardo y Ruddiman, 1996) (Tabla 5.6.2).

Middelburg *et al.* (1999), estimaron valores de BC entre 20 y 31 g/100 g COT, en sedimentos marinos del Margen Ibérico Noroccidental ó entre 28 y 50 g/100 g COT, en el Mediterráneo Oriental. La naturaleza heterogénea de la MO y la variedad de compuestos incluidos dentro de la definición de BC son probablemente parte de la causa del amplio rango de valores de BC que se citan en la literatura (Simpson y Hatcher, 2004 b).

Tabla 5.6.2.- Concentraciones representativas de *black carbon* en sedimentos oceánicos(g/100 g C orgánico sedimentario).

Localización área estudio	BC	Cita	Método Estimación
Llanura abisal, NE Pacífico	15±2	Masiello y Druffel, 1998	Oxidación química ^a
Cuenca de Santa Mónica, NE costa óxica del Pacífico	11±4	Masiello y Druffel, 2003	Oxidación química ^a
Cuenca de Santa Mónica, NE costa anóxica del Pacífico	5±2	Masiello y Druffel, 2003	Oxidación química ^a
Golfo de Maine, NO plataforma Atlántica	3-6	Gustafsson y Gschwend, 1998	Oxidación térmica ^a
Palos Verdes, NE plataforma Pacífica	12-18	Gustafsson y Gschwend, 1998	Oxidación térmica ^a
Mediterráneo occidental	5-38	Lim y Cachier, 1996	Oxidación química ^a
Atlántico tropical	>50	Verardo y Ruddiman, 1996	Oxidación química ^b
Sedimentos Antárticos	0,1-17	Guo <i>et al.</i> , 2004	Oxidación térmica ^a
Margen Ibérico, Océano Atlántico	20-31	Middelburg <i>et al.</i> , 1999	Oxidación térmica ^b
Mediterráneo Oriental	28-50	Middelburg <i>et al.</i> , 1999	Oxidación térmica ^b

Oxidación química ^a: dicromato/ácido sulfúrico; Oxidación química ^b: ácido nítrico; Oxidación térmica ^a: 375° C/24h/aire; Oxidación térmica ^b: 375° C/14h/O₂.

Considerando la variabilidad ambiental, los contenidos de BC medidos en los sedimentos estudiados (2-15 g GBC/100 g COT y 8-12 g CTO/100 g COT) se encuentran en el mismo orden de magnitud que las cifras publicadas para la aplicación de los métodos térmicos. Comparativamente, los valores de GBC (3,01-3,66 g BC/100 g COT) determinados en las muestras S-3, S-5, S-8, S-11, S-12 y S-14 son entre 2 y 4 veces inferiores que los obtenidos por oxidación térmica directa (CTO=8,04-12,47 g BC/100 g COT). Estas diferencias ponen de manifiesto la importancia de utilizar uno u otro método en la obtención de resultados. Por un lado, la eliminación previa del material mineral (carbonatos, silicatos, sesquióxidos) y de la MOH (fundamentalmente proteínas, carbohidratos y restos de lípidos) con el pretratamiento químico podría haber evitado la producción de procesos de adsorción de biopolímeros en las superficies minerales de los sedimentos y el encapsulamiento de compuestos

bioquímicos en pequeños poros de la matriz mineral, dificultando la correcta difusión del O₂ entre el material analizado y evitando la completa oxidación de la MO que no es BC (Gélinas *et al.*, 2001). En caso contrario, algunos restos de MOH podría haber sobrevivido a la oxidación, permaneciendo en el residuo final en forma de artefactos que habrían sido considerados como BC. La significativa correlación positiva ($r^2=0,932$) de la diferencia entre las medidas GBC y CTO (g/100 g COT) y la relación C/N, indica un incremento del contenido de C en relación al N, a medida que la diferencia CTO-GBC es mayor. Esto podría deberse a la presencia de carbohidratos, ceras, restos de lípidos u otra MOH que no habría sido eliminada en las determinaciones por oxidación directa, y que podrían haber favorecido la formación de artefactos por interacción con la fracción mineral. Dado el significativo contenido de carbonatos que presentan los sedimentos y la importante contribución de MO autóctona (sección 5.2 y 5.3), la eliminación previa de potenciales agentes interferentes mediante el tratamiento multiácido, resulta de gran conveniencia para una correcta estimación del BC.

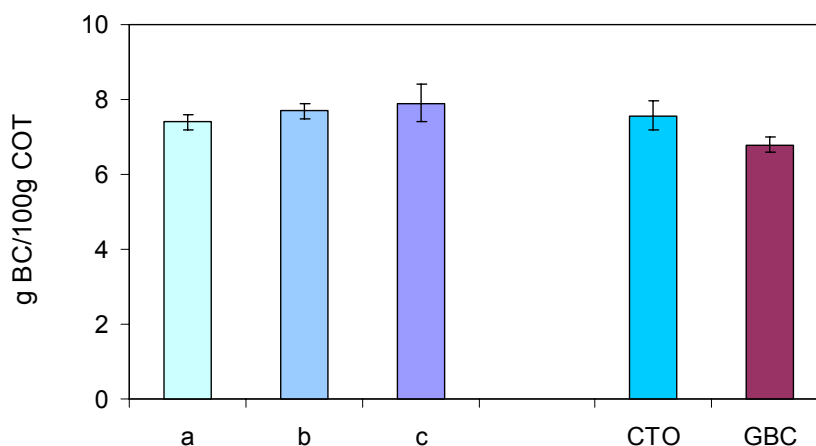


Figura 5.6.3- Comparación del contenido de *black carbon* del material de referencia *NIST SRM 1649a* según las medidas de tres laboratorios distintos (a, b, c) por aplicación del método CTO (375° C/24h/aire; Currie *et al.*, 2002) y las medidas obtenidas en este trabajo (CTO y GBC).

Por otro lado, el pretratamiento químico aplicado en el método GBC podría haber supuesto una fuente intrínseca de pérdida de BC que, por su carácter altamente hidrofóbico, resulta especialmente susceptible al manejo y sucesivos procesos de lavado y enjuague (Elmqvist *et al.*, 2004). En este sentido, la utilización paralela del material de referencia *NIST SRM 1649a* en la determinación de BC con y sin pretratamiento, resulta de gran utilidad, puesto que se trata de un material estándar de polvo atmosférico urbano, comercializado por el *Nacional Institute of Standards and Technology*, con propiedades y composición química conocidas.

Currie *et al.* (2002) estimaron un contenidos de COT en torno a 17,7 g/100 g y de CTO (24h / 375° C / flujo constante de aire) entre 7,4 y 7,9 g/100 g COT. La concentración media de BC determinada en este estudio para el mismo estándar es de $7,6 \pm 0,4$ g/100 g COT (medida CTO) y $6,8 \pm 0,2$ g/100 g COT (medida GBC; Fig. 5.6.3). La similitud entre éstas medidas y los valores mencionados en la literatura (Currie *et al.*, 2002) confirma la buena reproducibilidad del proceso de oxidación. Considerando las diferencias en la estimación del BC del estándar *NIST SRM 1649a*, según las medidas CTO y GBC, se ha calculado una pérdida promedio de material como consecuencia del manejo y lavado durante el pretratamiento químico ($\sim 10\%$), muy similar a la cifra publicada por Gélinas *et al.* (2001) (15%). Substrayendo ese 10% de pérdidas de las diferencias obtenidas en las medidas GBC y CTO de los sedimentos (56%-72%), se puede considerar que entre un 46% y 62% de estas diferencias podrían deberse a la presencia de artefactos de condensación, que interfieren en la medida del BC y engrosan artificialmente su medida final.

Tabla 5.6.3.- Concentración de *black carbon* determinada mediante marcadores moleculares. COT: C orgánico total (g/100 g); BPCA/sed: contenido de BC derivado de BPCA (g BC/100 g sedimento); BPCA/COT: contenido de BC derivado de BPCA (BC/100 g COT).

	COT	BPCA/sed		BPCA/COT	
		valor	DE	valor	DE
S-1	1,01	0,010	0,004	1,02	0,36
S-2	0,77	0,148	0,103	23,96	18,97
S-3	0,84	0,038	0,035	4,50	4,12
S-4	0,75	0,012	0,004	1,54	0,51
S-5	0,82	0,102	0,070	12,42	8,51
S-6	0,50	0,108	0,121	20,80	24,94
S-7	0,64	0,021	0,038	3,24	5,89
S-8	0,89	0,008	0,005	0,94	0,56
S-9	0,64	0,058	0,032	12,58	4,96
S-10	0,98	0,194	0,070	19,78	7,11
S-11	1,40	0,174	0,031	11,30	1,99
S-12	1,38	0,174	0,039	11,59	2,57
S-13	0,72	0,028	0,017	3,87	2,43
S-14	1,12	0,040	0,008	3,44	0,66
S-15	0,69	0,033	0,013	4,74	1,89
Min.	0,50	0,008	0,004	0,94	0,36
Prom.	0,88	0,076	0,039	9,05	5,70
Max.	1,40	0,194	0,121	23,96	24,94
DE	0,26	0,067	0,036	7,69	7,15

n.m.: no medido; Min.: mínimo; Max: máximo; Prom.: promedio; DE: desviación estándar (n=3)

5.6.2. Estimación del *black carbon* mediante el uso de marcadores moleculares (BPCA)

A diferencia de la técnica de oxidación térmica, la utilización de BPCA como marcadores moleculares del BC puede llegar a cubrir un rango más amplio de

detección del espectro del BC, considerándose una técnica más afín a la llamada fracción CBC (Fig. 5.6.1) y menos sensible a las fracciones más condensadas (Brodowski *et al.*, 2005). En aquellas muestras en las que la abundancia relativa de cada una de las regiones generales del espectro (CBC o GBC) predomine sobre la otra cabe esperar valores BPCA diferentes a los obtenidos a partir de la oxidación térmica. La ventaja que ofrece la técnica de los marcadores moleculares es que evita la producción de las mencionadas reacciones de condensación de la MO que no es BC y no presenta apenas riesgo de pérdida de material por centrifugación, lavado y manejo (Nguyen *et al.*, 2004). Los valores de BC obtenidos con esta técnica (BPCA=1-24 g/100 g COT; Tabla 5.6.3) se encuentran en conjunto en un rango muy similar al obtenido con la oxidación térmica, pero difieren a nivel individual y presentan una variabilidad mucho mayor entre las muestras (Fig. 5.6.1), de acuerdo con lo observado por Schmidt *et al.* (2001). Además de variabilidad espacial (entre muestras), se observa una gran variación entre las réplicas utilizadas para cada muestra (n=3), particularmente evidente en el caso de la muestra S-2 (23,96±18,97) y S-6 (20,80±24,97).

Los BPCA son considerados marcadores moleculares del BC por proceder de la rotura de anillos bencénicos sustituidos repetidamente por átomos de C, en lugar de O, muy análogos a la típica estructura del BC (Schnitzer y Khan, 1972; Schnitzer, 1978). Dentro del conjunto de los BPCA (Fig. 4.11), los ácidos con menos de tres grupos carboxílicos (ácidos benzoico, ftálico, isoftálico y tereftálico) apenas son detectados por ser poco resistentes a las severas condiciones de oxidación utilizadas (Glaser *et al.*, 1998). De esta forma, sólo los ácidos de entre 3 y 6 grupos carboxílicos son considerados para la determinación de BC según esta metodología.

El patrón de distribución de los BPCA puede resultar un indicador de la fuente de BC, dependiendo de la abundancia relativa de los distintos grupos carboxílicos (Brodowski *et al.*, 2005). En la Fig. 5.6.4 se representa el contenido relativo (%) de los ácidos con 3, 4, 5 y 6 grupos carboxílicos medidos en los sedimentos. La ausencia de citas en la literatura acerca de la aplicación de la metodología BPCA en sedimentos marinos dificulta la interpretación de estos resultados. Sin embargo, se pueden identificar ciertos comportamientos comunes: (i) por un lado, las muestras S-9, S-10, S-11, S-12, S-13, S-14 y S-15 contienen altas concentraciones de ácido melítico (B6CA) y no presentan señal del ácido bencenopentacarboxílico (B5CA); (ii) sólo 3 de las 15 muestras generaron los cuatro grupos de ácidos, con menor concentración de B6CA que en los casos anteriores; y (iii) mientras la mayoría de las muestras contienen tres de los cuatro BPCA y registran mayor contenido relativo del ácido B4CA

que del B3CA, la muestra S-1 sólo produjo B3CA y B4CA, con mayor contenido del primero.

Brodowski *et al.* (2005) encontraron semejanzas entre los patrones de distribución de los BPCA medidos en suelos y los de ciertos materiales biológicos (melanoidina, aspergilina, material vegetal carbonizado, etc.), conocidos como potenciales productores de BPCA. Las distribuciones observadas en este caso (Fig. 5.6.4) no guardan semejanza aparente con ninguno de estos materiales biológicos, si bien se observa una correlación positiva ($r^2=0,7$) entre la concentración medida de ácido melítico (B6CA) y el contenido de lignina medido en los sedimentos (Σ_8 , mg/100 mg sedimento; Tabla 5.5.1), que podría estar indicando que al menos parte del B6CA proviene de materiales terrestres derivados de plantas superiores. Puesto que no todo el C del BC se recupera como C de BPCA y que la conversión de BC en BPCA depende de su grado de condensación aromática (Glaser *et al.*, 1998), que es un parámetro desconocido, resulta cuestionable asumir que todo y sólo el BC de las muestras de sedimento se convierta en BPCA (Nguyen *et al.*, 2004). De igual forma que ciertos productos habituales en suelos, como pigmentos de hongos (aspergillina), constituyentes de la lignina (pinoresinol; Freudenberg *et al.*, 1965), biomasa bacteriana o de monosacáridos y aminoácidos pueden producir artefactos de estructura aromática tipo melanoidina, que son potenciales productores de BPCA que contabilizan como BC (Brunow, 1965; Rudakov *et al.*, 1986; Brodowski *et al.*, 2005), sería conveniente comprobar si algún tipo de compuesto marino podría intervenir como fuente de interferencia en la estimación del BC.

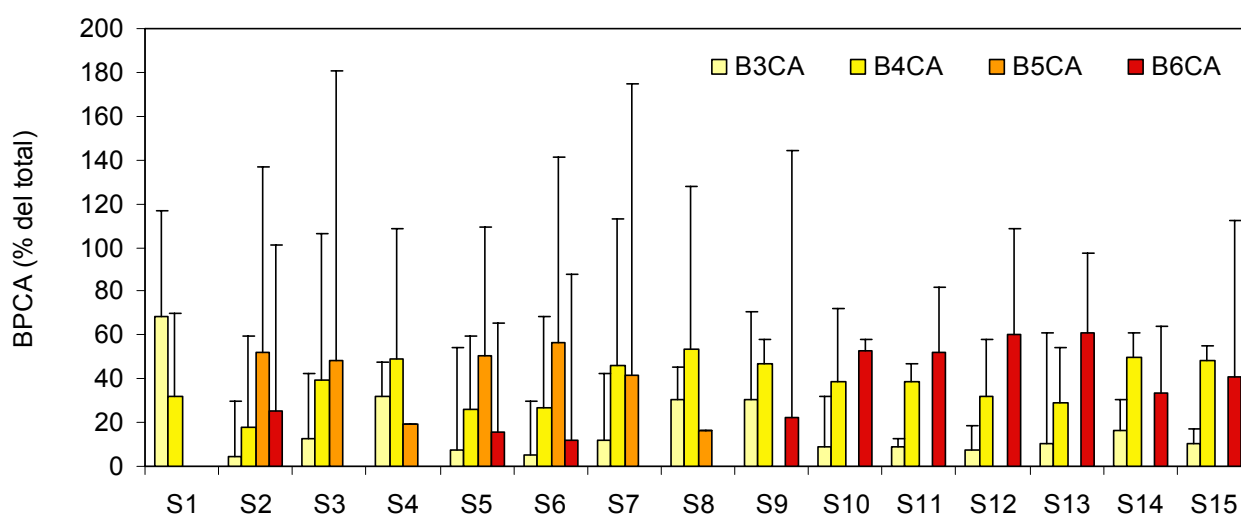


Figura 5.6.4.- Patrón de distribución de los ácidos bencenocarboxílicos (BPCA). Consultar Fig. 4.11 para las abreviaturas de los ácidos.

5.6.3. Comparación de la medida de *black carbon* con ambas técnicas

Considerando el conjunto de los 15 sedimentos, el mayor contenido medio de BC es el determinado por los BPCA ($9,0 \pm 7,7$ g/100 g COT), que supone prácticamente el doble del valor medio de GBC ($4,7 \pm 3,2$ g/100 g COT; Fig. 5.6.5 a). Las agresivas condiciones empleadas en el método térmico podrían justificar los bajos contenidos obtenidos con esta técnica, ya que suponen una gran selectividad de las formas de BC más recalcitrantes (polvo grafitico, hollín diesel o incluso carbón activado) formadas a altas temperaturas ($900-1000^\circ$ C), mientras que oxida completamente las formas bituminosas o el material parcialmente carbonizados formado a temperaturas moderadas ($<750^\circ$ C; Gélinas *et al.*, 2001; Nguyen *et al.*, 2004). Por otro lado, las diferencias observadas en el subconjunto de los 6 sedimentos a los que se aplicó la variación térmica CTO (Fig. 5.6.5 b), ponen de manifiesto la importancia de eliminar el material mineral y orgánico hidrolizable de forma previa a la oxidación térmica, ya que supone considerables divergencias en las medidas de BC (CTO: $10,0 \pm 1,9$ g BC/100 g COT y GBC: $3,4 \pm 0,3$ g BC/100 g COT).

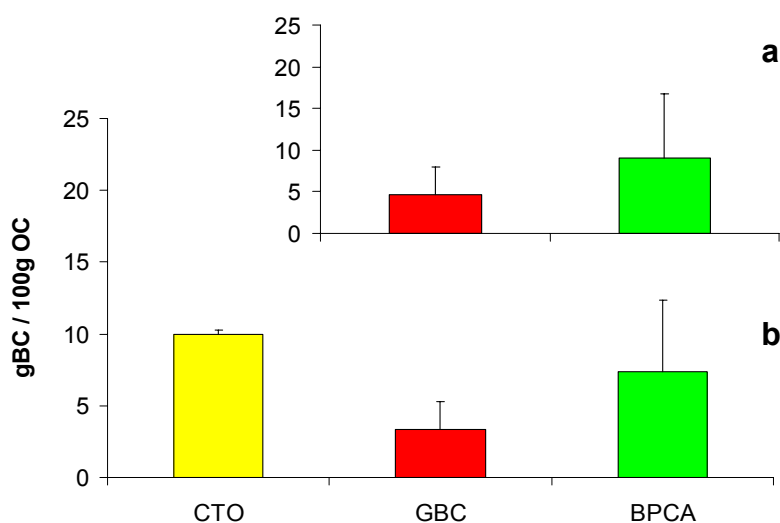


Figura 5.6.5.- Representación del contenido medio de *black carbon* estimado mediante oxidación química (CTO y GBC) y mediante uso de marcadores moleculares (BPCA). **a:** promedio de los 15 sedimentos; **b:** promedio de los 6 sedimentos a los que se les ha aplicado la oxidación térmica GBC y CTO.

De acuerdo con la específica afinidad de cada técnica analítica por distintas ventanas analíticas del espectro de BC, se han detectado divergencias importantes entre los resultados de BC obtenidos con una u otra técnica. Así, para las muestras S-1, S-2, S-5, S-6, S-10, S-11 ó S-12 se observan diferencias considerables entre las

medidas de BPCA y GBC (Fig. 5.6.2), siendo mayores las primeras en la mayoría de los casos. En ambas técnicas, el máximo contenido de BC se registró en la muestra S-2. La mayor sensibilidad de la técnica BPCA para detectar la fracción CBC, indica que en estos sedimentos existe un mayor contenido de materiales parcialmente carbonizados, con menor grado de condensación. Sin embargo, teniendo en cuenta las elevadas desviaciones estándar registradas por BPCA registradas en estas muestras, las diferencias respecto a las medidas GBC no se pueden tener muy en cuenta. Por otra parte, se han encontrado medidas muy similares con ambos métodos, particularmente evidentes en S-3, S-7, S-13 y S-14. Además, las desviaciones estándar determinadas para estas muestras son menores, concediéndoles una mayor credibilidad a los resultados de BC obtenidos en estos sedimentos por medio de los BPCA. La ausencia de una clara delimitación entre las áreas de detección de cada una de las técnicas (Fig. 5.6.1) implica que se pueda producir un cierto solapamiento en las medidas registradas con distintos métodos, de forma que parte del BC medido por los marcadores moleculares, pueda ser también medido por la técnica de oxidación térmica y viceversa. Así, las estimaciones obtenidas con una u otra técnica difieren más o menos, en función de los contenidos relativos de las distintas fracciones de BC (carbonizado-CBC y grafitizado-GBC). En aquellos puntos en los que se han detectado las mayores divergencias entre las medidas BPCA y GBC (S-1, S-2, S-5, S-6, S-10, S-11 y S-12; Fig. 5.6.2) cabe esperar las mayores diferencias en los contenidos de las fracciones más y menos condensadas del BC; mientras que en los puntos de mayor coincidencia, es de esperar que la mayoría del BC corresponda a formas altamente condensadas.

La escasa reproducibilidad observada con la técnica de los marcadores moleculares (DER de hasta 182%) y la posible interferencia de derivados de la lignina en la producción de algunos BPCA, cuestionan la validez de esta aplicación en los sedimentos estudiados, por lo que la oxidación térmica parece un método más adecuado en este tipo de matrices naturales. La desventaja fundamental descrita con respecto a la última técnica (sobreestimación por *charring*) se consigue paliar gracias a la utilización previa de la mezcla multiácido, que facilita la eliminación de la fracción mineral y la MOH, haciendo que únicamente la MO más refractaria resista la oxidación térmica (Gélinas *et al.*, 2001). En cualquier caso, el riesgo de que se produzca el proceso de *charring* una vez eliminados los restos minerales, es considerable sólo en aquellas matrices con contenidos de N orgánico superiores a 0,8 g/100 g, según Accardi-Dey (2003). Puesto que los valores de N medidos en las muestras se encuentran muy por debajo de ese valor (TN = 0,07-0,16 g/100 g), no parece que el proceso de *charring* constituya un riesgo importante. Por otro lado, una vez reducido el

riesgo de producción de artefactos, una de las ventajas de esta técnica es que permite eliminar grupos alquílicos resistentes a otro tipo de oxidaciones, que incrementan artificialmente la cuantificación del BC (Simpson y Hatcher, 2004 a). Todo ello hace, por tanto, de la oxidación térmica una metodología más adecuada en este caso.

El BC se considera como un material de origen terrestre, ya sea por proceder de la combustión incompleta de combustibles y/o biomasa vegetal (el llamado BC pirogénico) o de la erosión de materiales geológicos ricos en grafito (el llamado BC petrogénico; Dickens *et al.*, 2004), por lo que su distribución espacial (Fig. 5.6.6) puede resultar útil como indicadora de la influencia terrestre en el medio marino. Aunque no se observa una evolución clara con la distancia a tierra, las mayores concentraciones de BC se encuentran en las proximidades de la desembocadura del río Guadiana, para ambas medidas (BPCA y GBC), coincidiendo con los mayores contenidos de otros marcadores terrestres como la lignina (sección 5.5) y las cadenas lipídicas terrestres (sección 5.3). La presencia de este material carbonoso en las proximidades de la costa informa de la incidencia de fuegos y eventos pirogénicos en la zona. Sin embargo, dado el transporte preferencial que sufre el BC mar adentro, con respecto al resto del COT y la materia mineral (Dickens *et al.*, 2004), el gradiente de distribución espacial del BC no es siempre sencillo de interpretar.

Por un lado, cabría esperar que las formas CBC permanecieran cerca de la costa, dado su mayor tamaño de partícula, y por otro, que las fracciones más condensadas GBC sufrieran un transporte mucho más aleatorio, dada su alta hidrofobicidad y transporte preferencial. Puesto que la determinación térmica es más selectiva para las fracciones más condensadas y refractarias, asociadas a procesos gaseosos de combustión a altas temperaturas (Gélinas *et al.*, 2001), las medidas de GBC pueden estar relacionadas con procesos derivados de la actividad industrial. Concretamente, la intensa actividad industrial desarrollada en la ciudad de Huelva, que incluye fábricas de productos químicos (fertilizantes, petroquímicos, explosivos), plantas metalúrgicas, de construcción naval y refinería de petróleo, puede considerarse como una importante fuente potencial de partículas de condensación asociadas al BC. Teniendo en cuenta la importancia de los vientos del N dominantes en la zona (Fig. 3.3), el alto contenido relativo de BC localizado en la muestra S-9, podría estar relacionado con pequeñas partículas derivadas de la citada actividad industrial. Sin embargo, el transporte de las fracciones de BC puede convertirse en un fenómeno un tanto aleatorio, dadas las características estructurales y los pequeños tamaños de partícula de algunos componentes ($< 1\mu\text{m}$; Cachier *et al.*, 1995). Así, a

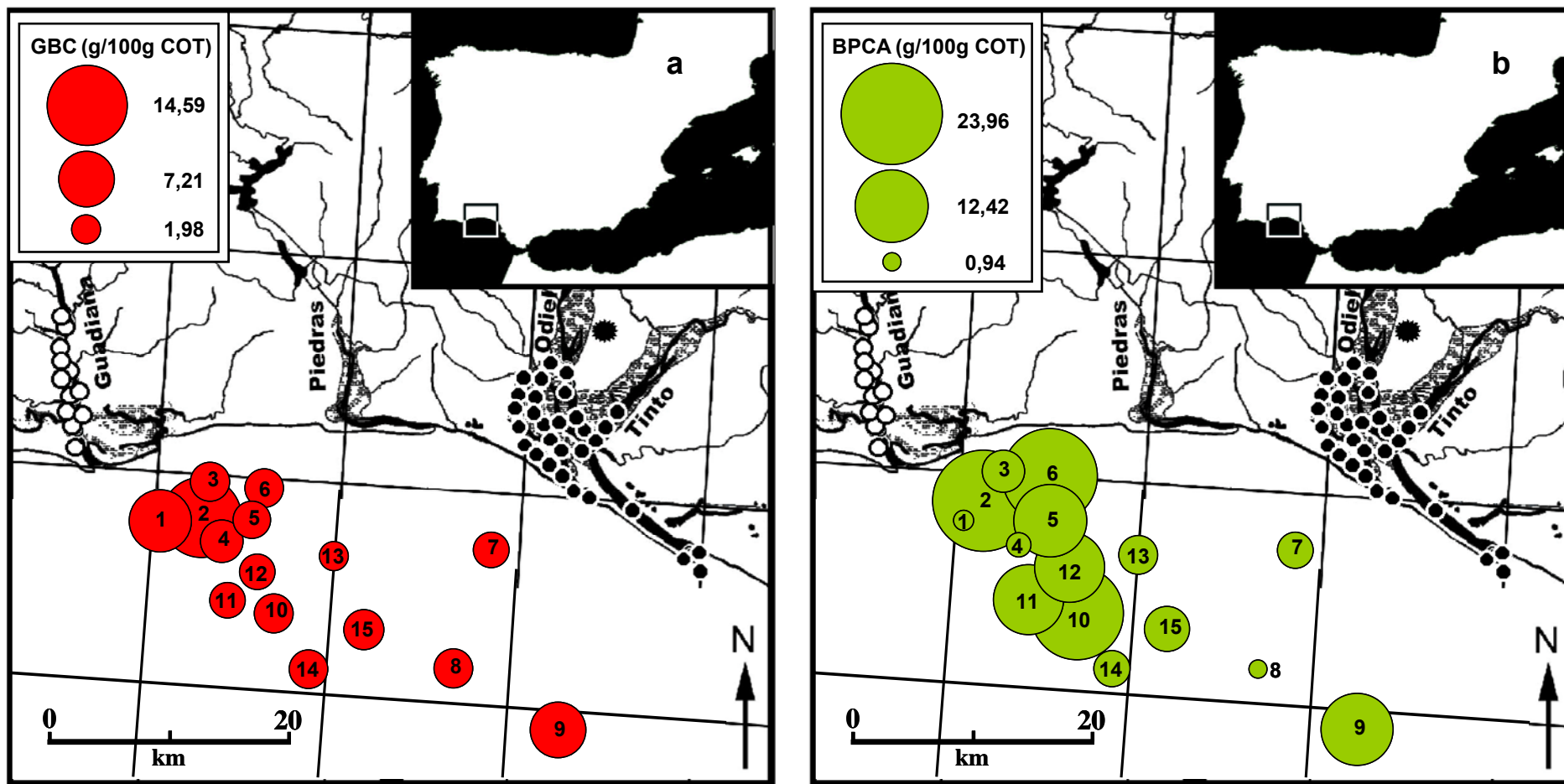


Figura 5.6.6.- Distribución espacial del contenido de *black carbon* estimado mediante a) oxidación térmica (GBC) y b) mediante el uso de BPCA como marcadores moleculares.

factores tan diversos como las direcciones de descarga de los ríos, las corrientes marinas dominantes, el oleaje o las mareas hay que añadir el efecto de los vientos dominantes y la deposición atmosférica húmeda y seca, que suponen una importante fuente de formas altamente condensadas de BC (Ogren y Charlson, 1983), dificultando la interpretación ambiental de los depósitos de BC.

5.6.4. Composición isotópica de los residuos térmicos de BC (GBC)

Las composiciones isotópicas de los 15 residuos de GBC y los 6 residuos CTO se muestran en la Tabla 5.6.1. En lo que respecta al GBC, se observa un enriquecimiento general en el contenido isotópico de los residuos de BC (Fig. 5.6.7), comparado con los valores $\delta^{13}\text{C}$ de los sedimentos brutos (Tabla 5.1.2), de acuerdo con Dickens *et al.* (2004), que describieron medidas de BC con una firma isotópica típica de plancton marino (-19,4/-21,3 ‰). Este enriquecimiento se produce durante el fraccionamiento isotópico derivado de la formación del BC, como consecuencia de las altas temperaturas alcanzadas durante los procesos de combustión de biomasa vegetal o combustibles fósiles, en los que tienen lugar continuas reacciones de condensación, en las que se desprende el isótopo ligero (^{12}C) de forma preferente con los gases de emisión, mientras que el residuo de condensación se enriquece en el isótopo pesado (^{13}C). Por otra parte, el empobrecimiento experimentado por los residuos CTO (Fig. 5.6.7) está probablemente relacionado con la presencia de restos de lípidos, celulosa, carbohidratos u otras formas de MOH, que han sido descritos como componentes empobrecidos isotópicamente respecto a la MO total (Degens *et al.*, 1968). Puesto que estos componentes no fueron previamente eliminados en el tratamiento CTO, su presencia en forma de artefactos resistentes a la oxidación térmica puede estar alterando la composición isotópica original del BC, hacia valores más pobres en ^{13}C .

De forma similar a lo observado en la composición isotópica de los sedimentos brutos (Fig. 5.1.2), existe una relación directa entre la relación isotópica de los residuos GBC y la distancia a la costa ($r^2=0,66$; Fig. 5.6.8 a), coincidiendo las firmas isotópicas de mayor carácter terrestre (-24,2 a -25,4‰) con los sedimentos situados más cerca de la costa (S,1, S-2, S-3, S-4, S-5, S-6; Tabla 5.6.1). A pesar del enriquecimiento isotópico general observado en los residuos GBC, las diferencias no son suficientes como para alterar la tendencia de enriquecimiento mar adentro observado en los sedimentos (Fig. 5.6.8 a). Además, existe una significativa correlación positiva entre los valores $\delta^{13}\text{C}$ de los sedimentos y los residuos de GBC

($r^2=0,64$; Fig. 5.6.8 a), que pone de manifiesto la estrecha dependencia de la composición isotópica del BC de la de la MOS.

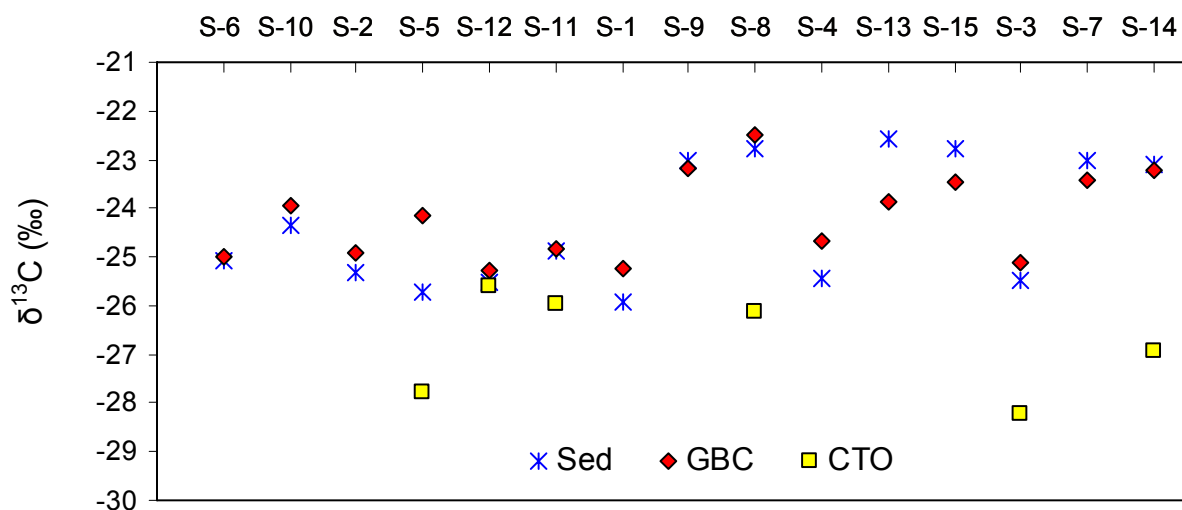


Figura 5.6.7.- Composición isotópica ($\delta^{13}\text{C}$ ‰) de los sedimentos y los residuos de *black carbon* estimados mediante oxidación térmica (CTO y GBC). El orden de representación de las muestras sigue el mismo criterio que en la Figura 5.6.2.

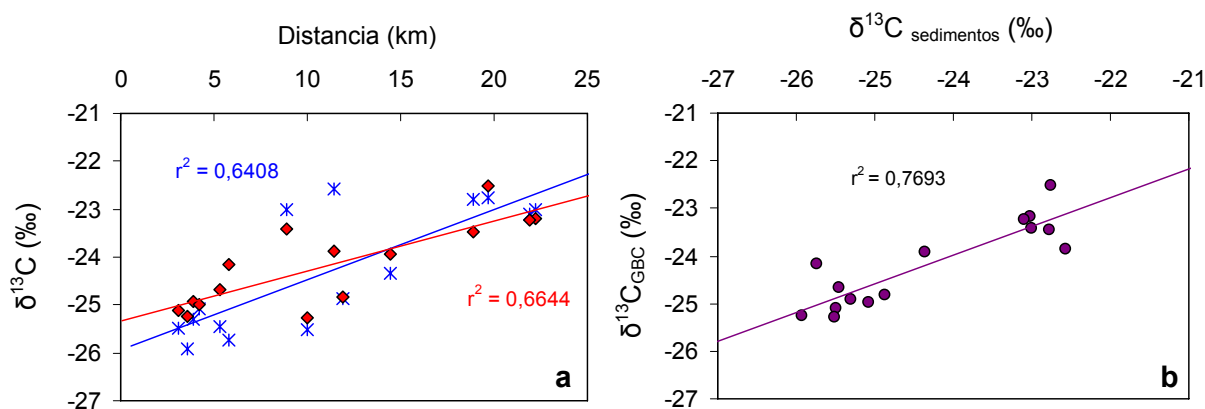


Figura 5.6.8.- (a) Distribución de la composición isotópica ($\delta^{13}\text{C}$ ‰) de sedimentos (asteriscos azules) y medidas de *black carbon* con tratamiento químico y combustión térmica (rombos rojos), en función de la distancia a la línea de costa; (b) Correlación entre la composición isotópica de sedimentos y residuos GBC.

5.7. ANÁLISIS POR ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (CP MAS ¹³C RMN)

La espectrometría de RMN de ¹³C es una herramienta muy útil en la caracterización estructural de la MO, ya que suministra información cualitativa y cuantitativa sobre los diferentes constituyentes de las moléculas que contienen C (González Vila *et al.*, 1976, 1983; Wilson, 1987). A partir de los valores de integración (%) de las principales regiones de los espectros de RMN de ¹³C (Tabla 5.7.1) se pueden caracterizar químicamente los compuestos individuales y el conjunto de la MO (Sanders y Hunter, 1993). Concretamente, la CP MAS RMN de ¹³C se utiliza de forma rutinaria en la medida de la distribución de las distintas formas de C encontradas en la MO natural (Preston, 1996) y se ha empleado de forma particular en la estimación del contenido de BC en suelos y sedimentos (Schmidt *et al.*, 1999; Skjemstad *et al.*, 1999; Simpson y Hatcher, 2004 a y b)

Tabla 5.7.1.- Asignaciones estructurales y denominaciones de los principales desplazamientos químicos en los espectros de RMN de ¹³C.

Desplazamientos químicos (ppm)	Denominación	Asignaciones
185-245	carbonilo	quinonas, cetonas, aldehídos
160-185	carboxilo	carboxilos, ésteres y amidas
140-160	fenólico	C _{aromáticos} sustituidos por grupos funcionales con O ó N, enlaces C _{aromático} con C _{alifático} excepto CH ₃ , subunidades fenólicas y aril-éter de lignina y taninos.
110-140	aromático e insaturado	aromáticos condensados, no sustituidos, sustituidos por grupos alquílicos y formando puentes C-H, C _{aromáticos} -H orto, C _{aromáticos} -O (ligninas, taninos) y olefinas
90-110	di-O-alquilo	anoméricos de polisacáridos
60-90	O-alquilo	alifáticos sustituidos por OH, O y N en polisacáridos y aminoácidos, éteres alifáticos distintos de grupos metoxi o etoxi
45-60	metoxilo y N-alquilo	lignina, aminoácidos y aminoazúcares
0-45	alquílico	C no sustituidos, CH ₂ en hidrocarburos de cadena larga saturados, CH y CH ₂ unidos a anillos aromáticos, CH ₂ en grupos alicíclicos y etilo, péptidos, CH ₃

Tabla 5.7.2.- Valores de integración (%) de las principales regiones de los espectros de ¹³C RMN (CP MAS) y relaciones entre regiones de los sedimentos (S) y sus ácidos húmicos (AH) .

	Región alquílica 0-45 ppm	Región O-alquílica 45-110 ppm	Región aromática 110-160 ppm	Región carbonílica 160-245 ppm	Al/Ar	O-Al/Al	C=O/Ar
S-1	21,9	31,1	28,5	18,6	0,77	1,42	0,65
S-2	25,7	34,4	25,3	14,6	1,02	1,34	0,58
S-3	25,8	32,9	24,3	17,1	1,06	1,28	0,71
S-4	25,6	34,3	24,4	15,7	1,05	1,34	0,65
S-5	24,2	32,9	27,6	15,3	0,88	1,36	0,56
S-6	25,8	33,6	27,6	12,9	0,93	1,30	0,47
S-7	28,9	29,9	22,3	18,9	1,29	1,03	0,85
S-8	29,4	29,9	22,5	18,2	1,30	1,02	0,81
S-9	30,3	29,6	22,2	17,9	1,36	0,98	0,81
S-10	25,2	33,8	25,2	15,8	1,00	1,34	0,63
S-11	25,9	31,9	24,9	17,4	1,04	1,23	0,70
S-12	29,0	28,7	23,0	19,3	1,27	0,99	0,84
S-13	25,9	29,8	22,4	21,9	1,16	1,15	0,98
S-14	30,4	31,1	21,1	17,4	1,44	1,02	0,82
S-15	29,1	31,6	22,1	17,2	1,32	1,08	0,78
AH-1	26,5	22,9	32,8	17,8	0,81	0,86	0,54
AH-2	25,2	22,5	34,8	17,5	0,72	0,89	0,50
AH-3	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
AH-4	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
AH-5	26,3	21,8	33,3	18,6	0,79	0,83	0,56
AH-6	30,7	21,3	29,9	18,1	1,02	0,69	0,61
AH-7	30,7	24,3	28,2	16,8	1,09	0,79	0,60
AH-8	35,8	21,8	27,4	15,0	1,31	0,61	0,55
AH-9	34,7	20,9	28,1	16,3	1,24	0,60	0,58
AH-10	34,9	22,2	28,1	14,8	1,24	0,64	0,52
AH-11	29,3	20,8	31,8	18,1	0,92	0,71	0,57
AH-12	30,2	18,2	33,1	18,5	0,91	0,60	0,56
AH-13	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
AH-14	36,3	18,6	28,1	17,0	1,29	0,51	0,60
AH-15	28,6	28,5	24,8	18,2	1,15	1,00	0,73

n.m.: no medido

5.7.1. Análisis directo de los sedimentos

De acuerdo con los valores de integración de la Tabla 5.7.2, la estructura química de los sedimentos se encuentra mayoritariamente definida por las regiones alquílica (0-45 ppm) y O-alquílica (45-110 ppm), que incluyen la señal de los C no sustituidos (22-30%) y sustituidos (29-34%), respectivamente. La contribución de la región alquílica es ligeramente más significativa en los sedimentos más alejados de la

costa (Fig. 5.7.1), en función del contenido de ácidos grasos, ceras, resinas, cutinas, suberinas y sustituyentes alquílicos en grupos aromáticos o aminoácidos que componen esta región (Polvillo, 2003). Esta banda envolvente refleja también la contribución asignada a C alifáticos de biopolímeros insolubles, no hidrolizables y altamente alifáticos presentes en diversas algas y plantas superiores (Nip *et al.*, 1986 a y b; Tagelaar *et al.*, 1989; de Leeuw *et al.*, 1991). La contribución del C procedente de carbohidratos, lignina, aminoácidos y aminoazúcares (región O-alquilo), por su parte, no muestra un comportamiento tan definido con respecto a la distancia (Fig. 5.7.1). La señal mayoritaria del espectro ($26,9\pm 2,5\%$; Tabla 5.7.2) se localiza en casi todos los sedimentos centrada a 29 ppm (Fig. 5.7.2) y corresponde a los C alifáticos no sustituidos, mientras que a ~ 73 ppm se localiza la segunda señal en importancia ($17,4\pm 0,8\%$; Tabla 5.7.3), correspondiente a los alcoholes primarios y secundarios de los carbohidratos. En torno a 55 y 103 ppm se produce un cierto solapamiento de las señales correspondientes, en el primer caso, a los C de los grupos metoxilo y aminoácidos y, en el segundo caso, a los C anoméricos de carbohidratos (C_1) y los C cuaternarios (C_{4a}) de taninos condensados (Preston, 1996).

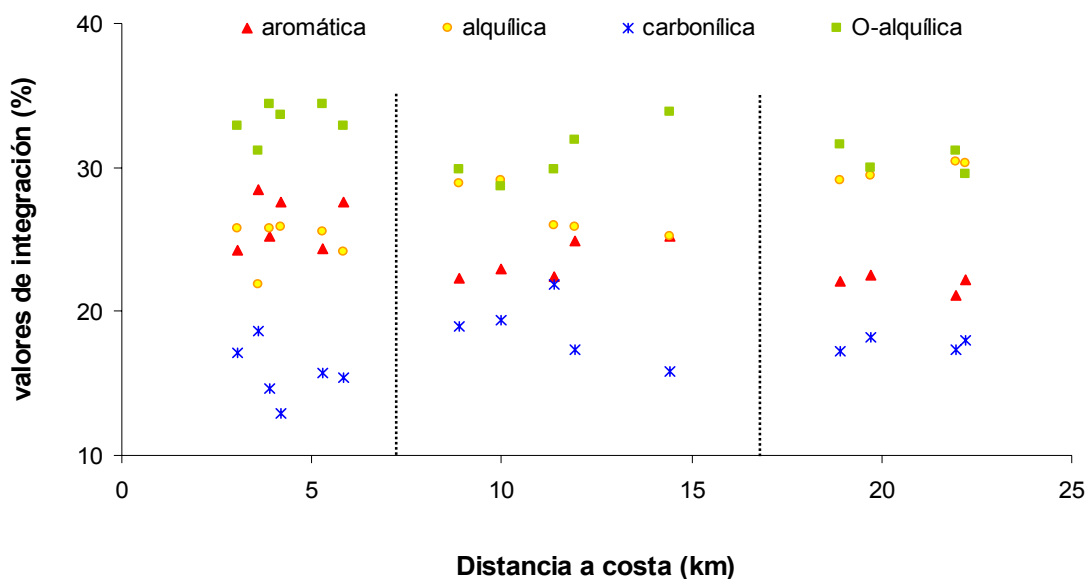


Figura 5.7.1.- Distribución espacial de los valores de integración de RMN de ^{13}C (CP MAS) de las cuatro principales regiones de los sedimentos. Las líneas punteadas facilitan la percepción de la distribución de los sedimentos en términos de cercanía a la costa (próximos, intermedios, lejanos).

La relación entre la señal O-alquílica y alquílica (O-AI/AI; Tabla 5.7.2), fue propuesta por Baldock *et al.* (1997) como indicadora del proceso de biodegradación de los carbohidratos. Los valores de O-AI/AI >1 detectados en la mayoría de los

sedimentos estudiados se aproxima a la unidad cuando los sedimentos se alejan de la costa, sugiriendo una biodegradación preferente de los carbohidratos con respecto a las biomacromoléculas lipídicas a lo largo de este eje.

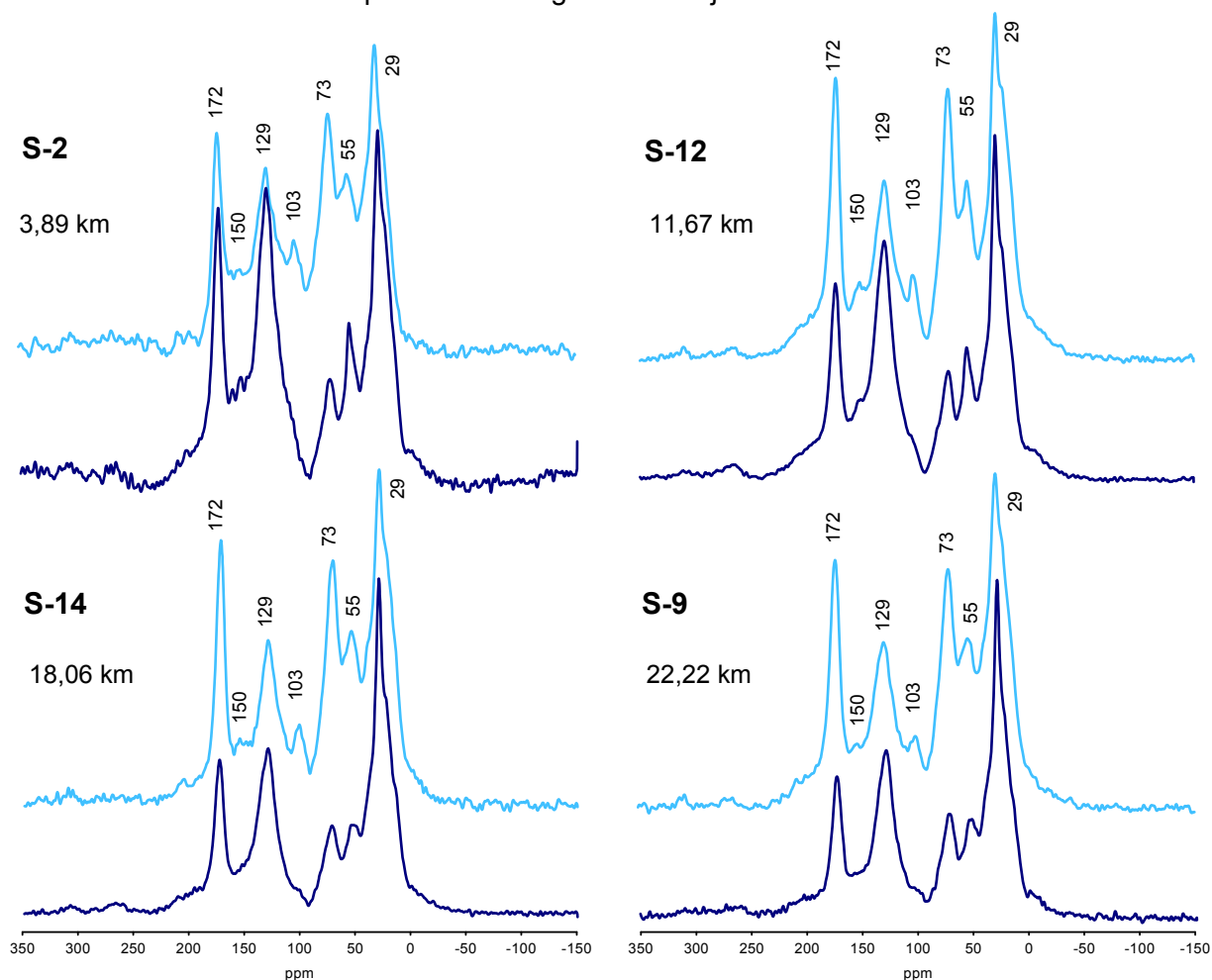


Figura 5.7.2.- Espectros de RMN de ^{13}C (CP MAS) de cuatro sedimentos (azul claro) y sus ácidos húmicos (azul oscuro). Debajo del código de cada muestra se menciona su distancia a la costa.

Por otro lado, los espectros de los sedimentos exhiben importantes picos a 129 ppm, indicativos de C aromático (Fig. 5.7.2). La denominada región aromática se encuentra situada entre 110 y 160 ppm, donde se recogen las señales correspondientes tanto al C aromático (110-140 ppm), como al C aromático sustituido por oxígeno (140-160 ppm). Los valores de integración de esta región (21-29%; Tabla 5.7.2) sugieren una importante contribución del conjunto aromático, que representa una señal media de 14% correspondiente a las estructuras condensadas propias de BC (~129 ppm) y de 6% correspondiente a C aromáticos sustituidos por grupos funcionales de la lignina y los taninos (~150 ppm; Tabla 5.7.3 y Fig. 5.7.2). Dado el significativo contenido de lignina de los sedimentos (sección 5.5), resulta difícil delimitar qué proporción exacta de estructura aromática corresponde al BC y cual a la

lignina u otros compuestos aromáticos no pirogénicos (Simpson y Hatcher, 2004 a), pero parece evidente que existe un contenido importante de estructuras carbonosas condensadas en el material sedimentario. La región 110-160 ppm muestra una tendencia contraria a la alquílica con respecto a la distancia, disminuyendo su contribución a medida que las muestras se alejan de la costa (Fig. 5.7.1) y poniendo de manifiesto la relación existente entre las estructuras aromáticas y las fuentes terrestres. Las tendencias opuestas de las regiones alquílica y aromática dan lugar a una distribución creciente del cociente Al/Ar, inversamente proporcional al grado de aromaticidad, hacia el exterior de la costa ($r^2=0,62$, Fig. 5.7.3), que ilustra el incremento de las estructuras alifáticas en detrimento de las aromáticas, al ir aumentando la contribución marina-autóctona.

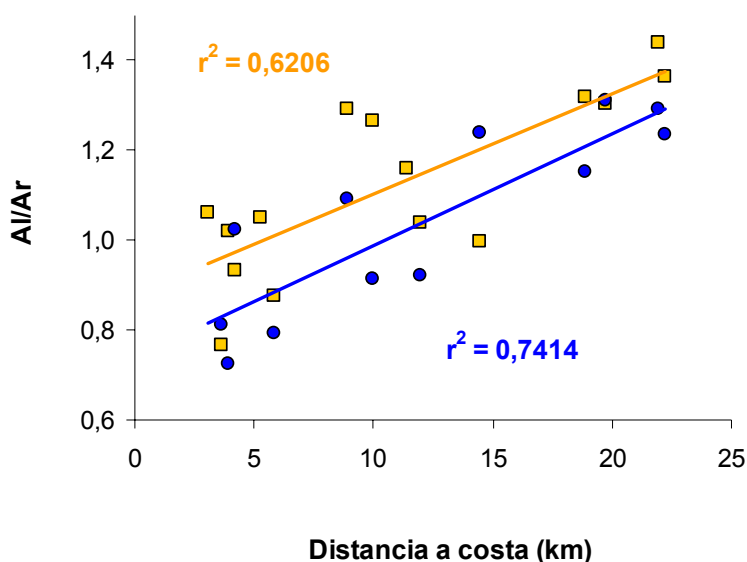


Figura 5.7.3.-Distribución espacial de la relación entre las regiones alquílicas (0-45 ppm, Al) y aromática (110-160 ppm, Ar) en sedimentos (cuadrados naranjas) y ácidos húmicos (círculos azules).

La región carbonílica, localizada entre 160 y 245 ppm, representa en conjunto la menor de las contribuciones, con señales que oscilan entre 13 y 22% (Tabla 5.7.2). El pico más significativo (10-14%), centrado a 172 ppm (Fig. 5.7.2), representa la contribución de los ácidos carboxílicos, ésteres y amidas, mientras que entre 185 y 245 ppm se localiza la señal correspondiente a los aldehídos y cetonas (2-7%; Tabla 5.7.3). Una elevada contribución de la región carbonílica es indicativa, en líneas generales, de un cierto grado de oxidación. Los valores de la relación entre las regiones carbonílica y aromática ($\text{C=O}/\text{Ar}$), inferiores a la unidad en el conjunto de los sedimentos, sugieren un estado degradativo poco avanzado (Tabla 5.7.2). Al igual que la región O-alquílica, la carbonílica no muestra tendencia alguna en su distribución a lo

largo del eje tierra-mar. Sin embargo, ambos parámetros presentan cierta correlación negativa ($r^2= 0,68$), que sugiere una disminución del contenido material orgánico lábil (región O-alquílica), a medida que avanzan los signos de oxidación y el estado de degradación (región carbonílica).

Tabla 5.7.3.- Valores de integración (%) de las subregiones de los espectros de ¹³C RMN (CP MAS) de los sedimentos (S) y sus ácidos húmicos (AH) .

muestras	Subregiones						
	45-60 ppm	60-90 ppm	90-110 ppm	110-140 ppm	140-160 ppm	160-185 ppm	185-245 ppm
S-1	8,1	16,4	6,6	15,6	7,5	11,6	4,2
S-2	9,3	18,4	6,7	15,7	6,2	11,0	2,1
S-3	8,8	18,1	6,0	14,1	6,1	12,1	3,4
S-4	9,0	18,9	6,4	14,6	6,3	11,8	2,5
S-5	8,4	17,7	6,8	16,5	7,2	11,2	3,0
S-6	8,9	17,6	7,1	17,4	7,5	10,4	1,8
S-7	8,7	16,6	4,7	12,6	5,1	13,5	4,2
S-8	8,5	17,0	4,4	13,1	5,3	13,0	3,7
S-9	8,7	16,6	4,2	13,3	5,0	12,8	4,0
S-10	9,3	18,4	6,2	15,0	6,4	11,5	3,1
S-11	8,6	17,6	5,6	15,4	6,4	12,6	3,8
S-12	8,1	16,6	3,9	13,6	5,2	13,6	4,8
S-13	8,4	16,7	4,8	11,9	5,4	13,3	6,9
S-14	9,1	17,5	4,5	13,1	5,0	12,8	3,1
S-15	9,1	17,5	5,0	13,3	5,2	12,7	3,1
AH-1	8,4	10,3	4,2	21,2	7,8	12,6	4,2
AH-2	7,7	10,0	4,8	22,4	8,2	12,8	3,2
AH-3	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
AH-4	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
AH-5	7,7	10,2	3,9	20,9	7,5	13,4	4,2
AH-6	8,7	9,6	3,0	18,7	6,7	13,0	3,7
AH-7	8,3	12,1	3,8	18,2	5,9	11,9	3,4
AH-8	7,3	11,4	3,1	16,7	5,2	10,6	3,2
AH-9	7,3	10,9	2,7	17,9	5,7	11,0	4,0
AH-10	7,6	11,0	3,7	17,2	5,8	11,2	2,9
AH-11	7,5	10,2	3,1	21,0	7,3	13,3	3,7
AH-12	7,0	8,8	2,4	21,2	7,4	12,8	4,6
AH-13	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
AH-14	6,8	9,6	2,1	17,6	6,2	11,9	3,9
AH-15	8,5	15,7	4,3	14,9	5,5	12,8	4,5

n.m.: no medido

5.7.2. Análisis de los ácidos húmicos

Al estudiar la composición estructural de los AH (Fig. 5.7.4), se aprecian diferencias en la contribución de las distintas regiones que componen el espectro,

respecto a los sedimentos. Así, se observa una menor contribución de la región O-alquílica en los AH (18-29%) que en los sedimentos (29-34%; Tabla 5.7.2), que se traduce en un menor contenido relativo en los primeros de grupos derivados de la lignina, aminoácidos, aminoazúcares y polisacáridos (Tabla 5.7.1). Parece lógico esperar una menor participación de las estructuras derivadas de la lignina en los AH, puesto que éstos contribuyen sólo con el 2% y 67% de la producción total de lignina de la MOS (Fig. 5.5.2). Sin embargo, tanto la región alquílica como la aromática presentan un cierto enriquecimiento en los AH (Al: 25-36% y Ar: 25-35%) con respecto a los sedimentos (Al: 22-30% y Ar: 21-29%), mientras que la región carbonílica, aunque muestra diferencias a nivel individual, representa similares proporciones tanto en los AH (15-19%), como en los sedimentos (13-22%).

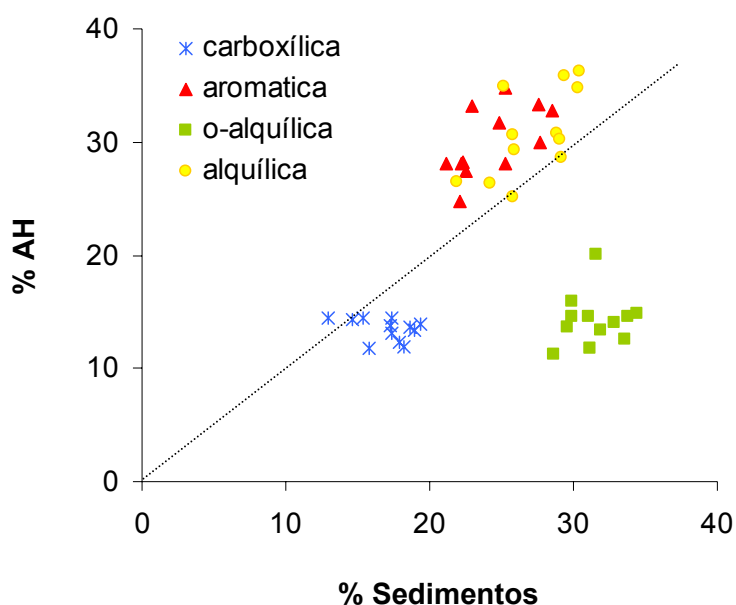


Figura 5.7.4.- Representación de los valores de integración (%) de las regiones principales del espectro de RMN de ^{13}C (CP MAS) de los sedimentos y sus ácidos húmicos (AH). La línea gris representa la bisectriz, a lo largo de la cual coinciden los valores de integración de ambas matrices.

Los AH se caracterizan por presentar una significativa contribución de grupos carboxílicos (~172 ppm) y de estructuras aromáticas condensadas (~130 ppm), más evidentes en las muestras cercanas a la costa (e.g. S-2 y S-12; Fig. 5.7.2). Esto se debe a la mayor resistencia estructural de los anillos aromáticos portadores de grupos carboxílicos, que soportan mejor los procesos de humificación y alteración de la MO (Haumaier y Zech, 1995). De acuerdo con estos autores, las regiones relacionadas con la fracción más joven de la MO, tales como aquellas correspondientes a las

estructuras alquílicas sustituidas (55, 73 y 103 ppm; Fig.5.7.2), presentan resonancias de menor entidad en las muestras de AH, con valores de integración medios (8, 11 y 3%, respectivamente) inferiores a los de los correspondientes sedimentos (9, 17 y 6%, Tabla 5.7.3). No ocurre así, sin embargo, con la región alquílica (29 ppm), cuya señal contribuye de forma importante al espectro de los AH (Fig. 5.7.2), de acuerdo con el marcado carácter alifático descrito en análisis pirolítico de los mismos (sección 5.4.2). Además, existe un incremento de la contribución aromática (130 ppm) en los AH, en detrimento de la señal O-alquílica (45-110 ppm), que indica un enriquecimiento de estructuras aromáticas condensadas, tales como las típicas del BC. La combustión y el calentamiento de la MO del suelo dan lugar a un considerable incremento de la aromaticidad, a expensas de los grupos carboxílicos y las estructuras alifáticas (Almendros *et al.*, 1992). De hecho, Haumaier y Zech (1995) señalaron la posibilidad de que ciertas SH pudieran derivar de estructuras condensadas de BC, mediante la oxidación de estos materiales a formas húmicas altamente aromáticas y carboxiladas. De acuerdo con la composición elemental observada en los AH (Tabla 5.4.1), no se puede descartar su procedencia de materiales carbonizados, que mediante procesos de oxidación y deshidratación, podrían haber alcanzado las firmas húmicas a partir de las bajas relaciones atómicas O/C e H/C propias de los residuos de BC (Fig. 5.4.1).

5.7.3. Análisis de los residuos térmicos de *black carbon* (GBC)

Los residuos GBC analizados por RMN de ¹³C se caracterizan por una contribución casi exclusiva de las regiones aromática y carbonílica (Tabla 5.7.4). El dominio de la señal aromática (130 ppm) pone de manifiesto el alto grado de condensación y aromatización de estos residuos, que reciben una contribución mayor de esta región (49-69%) en comparación con la de los sedimentos (22-29%; Fig. 5.7.5), en detrimento de las resonancias alifáticas, que representan tan sólo un 2% y 14% de media (regiones alquílica y O-alquílica, respectivamente; Tabla 5.7.4). Además, la señal carbonílica revela una mayor presencia de los componentes indicativos del grado de oxidación en los AH (24-29%) que en los sedimentos (15-22%). A pesar del carácter recalcitrante y refractario que se le ha concedido clásicamente al BC, su persistencia ha sido cuestionada (Simpson y Hatcher, 2004 b) y son varios los autores que han descrito evidentes signos de degradación en distintas muestras de BC (e.g. Middelburgh *et al.*, 1999; Masiello, 2004 y referencias citadas). Es de suponer que el transporte y distribución de estos restos pirogénicos desde el continente hasta el fondo marino, pueden contribuir a la oxidación y degradación de los componentes carbonosos más susceptibles, como los grupos de sustitución más

superficiales de la estructura condensada del BC. La proporción del C-aromático (110-140 ppm) de los sedimentos que corresponde a BC varía ampliamente de unas muestras a otras, con porcentajes que oscilan al menos entre el 4 y el 40% (Tabla 5.7.4).

Tabla 5.7.4.- Valores de integración (%) de las principales regiones de los espectros de ^{13}C RMN (CP MAS) de los residuos térmicos de *black carbon* (GBC) de los sedimentos S-1, S-2, S-8 y S-13 y proporción de la región aromática de los sedimentos en forma de BC.

	Región alquílica 0-45 ppm	Región O-alquílica 45-110 ppm	Región aromática 110-160 ppm	Región carbonílica 160-245 ppm	% BC Región aromática
GBC1	0,7	13,4	56,9	29,0	17,3
GBC2	1,5	5,2	68,6	24,7	39,6
GBC8	2,5	14,5	56,2	26,9	9,1
GBC13	3,0	24,3	48,5	24,2	4,3

La CP MAS ^{13}C RMN detecta los núcleos de ^{13}C que se encuentran más próximos a los protones, de forma que la detección cuantitativa de las formas de BC puede ser más o menos eficaz, dependiendo de su naturaleza más o menos condensada (policondensado vs. sustituido por protones; Simpson y Hatcher, 2004 b). De las dos formas de BC definidas por Poirier *et al.* (2000) en la fracción refractaria de la MO (pobremente ordenada y de naturaleza más condensada), la segunda responde de forma menos cuantitativa a la RMN de ^{13}C , debido a su menor contenido de protones y su estructura condensada clásicamente definida como tipo “cebolla”.

En este caso, puesto que los residuos térmicos GBC aislado de los sedimentos se asocian con los compuestos aromáticos más resistentes y refractarios del espectro de BC, es posible que las medidas de RMN pudieran haber infravalorado en cierta medida la señal aromática del BC. Además, aunque la RMN de ^{13}C en estado sólido proporciona una considerable información relativa a la estructura de la MO natural, la interpretación de los resultados resulta complicada como consecuencia del solapamiento de las señales de ciertos componentes, como la lignina y otros compuestos aromáticos no pirogénicos que se solapan con la señal de RMN de ^{13}C del BC (Simpson y Hatcher, 2004 b). Mientras las estructuras del BC producen una señal aguda a aproximadamente a 130 ppm, las de la lignina lo hacen a 55, 130 y 150 ppm. En cualquier caso, aunque no se puede determinar la concentración exacta, parece claro que existe una importante contribución de material aromático asociado a

fuentes pirogénicas (130 ppm), que participan de forma significativa en el conjunto de la MOS (Tabla 5.7.4) y que podrían constituir una fuente potencial de material húmico (Haumaier y Zech, 1995), de acuerdo con lo discutido en la sección 5.4.1.

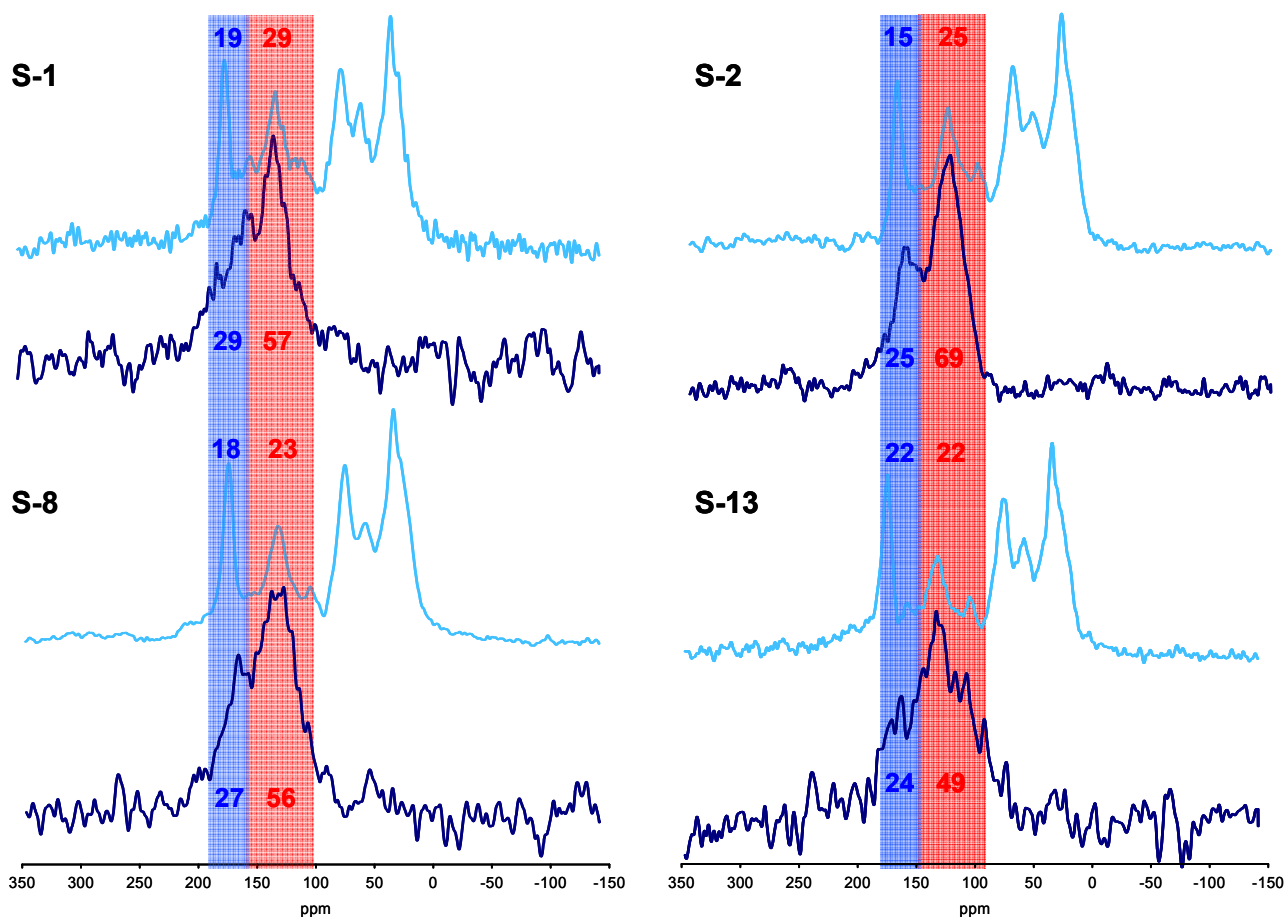


Figura 5.7.5.- Espectros de RMN de ^{13}C (CP MAS) de cuatro sedimentos (azul claro) y sus residuos GBC (azul oscuro). La banda azul representa la región carbonílica (160-245 ppm) y la roja a aromática (110-160 ppm). Los números en azul y en rojo se refieren a los valores de integración obtenidos para ambas regiones (%).

6. CONCLUSIONES

CONCLUSIONS

6. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el conjunto de análisis geoquímicos practicados en los sedimentos del Golfo de Cádiz permiten establecer las siguientes conclusiones:

1. En términos de composición química, la materia orgánica sedimentaria (MOS) estudiada se caracteriza por una contribución mixta de materiales de origen marino, terrestre y bacteriano, dominada por los aportes autóctonos (algas y bacterias) representados por típicas distribuciones de hidrocarburos de cadena corta y enriquecidas firmas isotópicas. El análisis de los productos fenólicos derivados de la oxidación con CuO revelan una importante contribución terrestre en los sedimentos más cercanos al continente, cuyo origen parece estar relacionado principalmente con tejidos no leñosos de plantas angiospermas.
2. La relativa abundancia de compuestos de naturaleza lábil, derivados de proteínas o ácidos grasos monoinsaturados, y las bajas relaciones pristano/fitano observadas en el análisis cromatográfico de los marcadores lipídicos son indicativas del buen estado de conservación de la MOS. También es de destacar los significativos niveles de acumulación observados en elementos sensibles a las condiciones redox del medio, así como la presencia de pirita y azufre elemental en los fragmentos pirolíticos de los ácidos húmicos (AH), que sugieren la presencia de condiciones ambientales subóxicas, en las que los bajos niveles de oxígeno y la rápida acumulación de sedimentos costeros habrían favorecido la relativa preservación de la MO.
3. En términos de aporte de material detrítico-terrestre, los patrones de distribución de las principales familias de marcadores lipídicos y derivados de la lignina evidencian la influencia continental en el medio marino. La combinación de resultados isotópicos, moleculares y estructurales revela una significativa heterogeneidad espacial en la distribución de la MO terrestre en forma de gradiente decreciente en el eje NO-SE. Así, el predominio de fracciones detríticas, estructuras aromáticas, firmas isotópicas ligeras, hidrocarburos de cadena larga o elevados contenidos de lignina, observado en los sedimentos cercanos a la desembocadura del Guadiana, da paso a composiciones ricas en carbonatos, con estructuras predominantemente alquílicas, firmas isotópicas enriquecidas y cadenas cortas de hidrocarburos a medida que nos alejamos de la costa en dirección SE.

4. Aunque el mayor suministro de sedimentos en el área de estudio corresponde al río Guadiana, la elevada concentración de elementos asociados a depósitos sulfurosos (As, Cu, Hg, Pb y Zn) observados en la muestra S-7 pone de manifiesto la influencia ejercida por el históricamente contaminado sistema fluvial Tinto-Odiel en este sedimento. En este sentido, los análisis de clúster y componentes principales evidencian las diferencias en la composición geoquímica de esta muestra, que presenta correlaciones positivas muy significativas entre los citados metales y el contenido de P. Todo ello sugiere un origen común de estos elementos, presumiblemente relacionado con las aguas ácidas provenientes tanto del lavado de explotaciones mineras, como de las corrientes fluviales que drenan de la Faja Pirítica Ibérica y las descargas residuales de las plantas fertilizantes localizadas en el área industrial de la ciudad de Huelva.
5. Los AH estudiados presentan un carácter aromático dominante, relacionado con la preservación preferencial de las estructuras terrestres, junto a una marcada contribución alifática, representada por la distribución constante de pares alcano/alqueno a lo largo de todo el espectro pirolítico. El análisis de los productos de oxidación de la lignina revela, por un lado, un estado de degradación más avanzado de los AH en relación al resto de la MO, posiblemente relacionado con procesos subaéreos de actividad fúngica y, por otro, que la distribución espacial de los indicadores diagenéticos sugieren un transporte preferencial del material más degradado y pobre en lignina hacia puntos más alejados de la costa a lo largo del citado eje NO-SE.
6. La heterogeneidad de resultados derivados del análisis cuantitativo del BC confirma la especificidad de las técnicas empleadas para sus diferentes fracciones. De acuerdo con los valores de reproducibilidad obtenidos, la oxidación térmica con pretratamiento químico resulta la técnica más adecuada para el aislamiento de la fracción refractaria de los sedimentos.
7. El análisis espectroscópico por RMN determina el alto grado de aromaticidad de los residuos térmicos de BC y sugiere importantes contribuciones del mismo a la región aromática de los sedimentos. Además, la significativa contribución de la región carbonílica de la estructura del BC revela un cierto grado de alteración que contrasta con el carácter altamente refractario típicamente adjudicado a este material.

6. CONCLUSIONS

The results achieved from the geochemical analysis applied on marine sediments from the Gulf of Cádiz allow us to establish the following conclusions:

1. In terms of chemical composition, the sedimentary organic matter (SOM) studied is characterized by mixed contributions of marine, terrigenous and bacterial components, being dominated by autochthonous inputs (algae and bacteria), represented by typical short-chain hydrocarbon distributions and light isotopic signatures. The analysis of lignin-associated phenolic compounds derived from the degradative oxidation upon CuO reveal important terrestrial contributions at the near-shore sediments, whose origin seems to be mainly related with non-woody angiosperm vascular vegetation sources.
2. The relative abundance of labile compounds, derived from proteins, carbohydrates or monounsaturated fatty acids, as well as the low pristane/phytane ratios observed from the lipid markers chromatographic analysis, are indicative of a moderate preservation stage of the SOM. The accumulation of redox-sensitive elements and the detection of pyrite and elemental sulphur remains among the humic acids (HA) pyrolytic products suggest suboxic environmental conditions, under which the low oxygen levels and enhanced sedimentation rates would have provided the preservation of the OM.
3. The distribution patterns of the main lipid- and lignin-derived markers provide evidences of the continental influence taking place on the marine system. A combination of isotopic, molecular and structural signatures of SOM reveals a significant spatial heterogeneity in the distribution of the terrigenous OM delivery along a NW-to-SE decreasing gradient. Thus, the predominance of detritic fractions, aromatic structures, lighter isotopic signatures, long-chain hydrocarbons and enriched lignin yields detected close-to-Guadiana mouth became predominance of carbonate-rich components, alkylic structures, enhanced isotopic signatures and short-chain hydrocarbons southeastern-basinwards.
4. Despite the main role developed by the Guadiana River regarding the sediments supply, a high concentration of elements associated to sulphide deposits (As, Cu, Hg, Pb y Zn) was observed at sample S-7, showing up the influence that the historically polluted Tinto-Odiel system exerts at this station. In this context, the cluster and principal components analyses applied reveal differences on the geochemical composition of this sample, which displays significant positive

correlations between the mentioned metals and the phosphorous amounts. According to this, all these elements seem to derive from a common origin, potentially related with acid mine drainage in the Iberian Pyritic Belt and with the phosphate industry developed in the city of Huelva.

5. A dominant aromatic character, presumably related with the preferential preservation of terrestrial compounds, together with a marked aliphatic contribution, represented by constant alkane/alkene pairs along the pyrolytic spectrum, was observed for the HA. The analysis of lignin-derived products reveals a higher degradation extent of the HA in comparison with the bulk SOM, potentially related to sub-aerial fungal processes. On the other hand, the spatial distribution of lignin-derived diagenetic ratios suggests a preferential transport of lignin-poorer-more-degraded materials basinwards.
6. The heterogenic results derived from the BC quantitative analyses confirm the methods specificity to different analytical windows of the BC continuum. The best reproducibility of the thermal oxidation values suggest a better suitability of this method, along with a chemical pretreatment, to the isolation of BC in this suite of samples.
7. Spectroscopic NMR analyses show up the dominant aromatic composition of the thermal-derived BC residues and suggest important contributions of this structure to the bulk sediments aromatic signal. Furthermore, the significant carbonylic signal measured for the BC residues, reveal certain alteration signs contrasting with the typically high refractory nature reported for this material.

7. BIBLIOGRAFÍA

7. BIBLIOGRAFÍA.

- A.M.A., (1994). Informe Esturión. Agencia del Medio Ambiente de Andalucía. Preliminary report 1.
- Accardi-Dey, A.M., (2003). Black Carbon in marine sediments: quantification and implications for the sorption of polycyclic aromatic hydrocarbons. Tesis Doctoral. Massachussets Institute of Technology. Cambridge, Massachussets, USA.
- Aiken, G.R., McKnight, D.T., Wershaw, R.L. y McCarthy, P., (1985). Humic substances in soil, sediment and water. Geochemistry, isolation and characterization. Wiley, New York.
- Akhter, M.S., Chughtai, A.R. y Smith, D.M., (1985). The structure of hexane soot I: spectroscopic studies. *Applied Spectroscopy* 39, 143–153.
- Albaigés, J., Algaba, J. y Grimalt, J., (1984). Extractable and bound neutral lipids in some lacustrine sediments. *Organic Geochemistry* 6, 223–236.
- Albro, P.W., (1976). Bacterial Waxes. En: Kolattukudy, P.E. (ed.), *Chemistry and Biochemistry of natural waxes*. Elsevier Science, Amsterdam, 419–445.
- Allan, J. y Douglas, A.G., (1977). Variations in the content and distribution of n-alkanes in a series of carboniferous vitrinites and sporinites of bituminous rank. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 41, 1223–1230.
- Allard, B., Templier, J. y Largeau, C., (1998). An improved method for the isolation of artifact-free algaenans from microalgae. *Organic Geochemistry* 28, 543–548.
- Almendros, G., Sanz, J., González-Vila, F.J. y Martin, F., (1991). Evidence for a polyalkyl nature of soil humin. *Naturwissenschaften* 78, 359–362
- Almendros, G., González-Vila F. J., Martin F., Fründ R. y Lüdemann H.-D. (1992). Solid state NMR studies of fire-induced changes in the structure of humic substances. *Sciences of the Total Environment* 117/118, 63–74.
- Almendros, G. y Sanz, J., (1992). A structural study of alkyl polymers in soil after perborate degradation of humin. *Geoderma* 153, 79–95.
- Almendros, G., (1995). Sorptive interactions of pesticides in soils treated with modified humic acids. *European Journal of Soil Science* 46, 287–301.
- Almendros, G., Sanz, J. y Velasco, F., (1996). Signatures of lipid assemblages in soils under continental Mediterranean forest. *European Journal of Soil Science* 47, 183–196.

- Altabet, M.A., (1988). Variations in nitrogen isotopic composition between sinking and suspended particles: Implications for nitrogen cycling and particle transformation in the open ocean. *Deep-Sea Research Part A- Oceanographic Research Papers* 35, 535–554.
- Altabet, M.A. y Francois, R., (1994). Sedimentary nitrogen isotopic ratio as a recorder for surface ocean nitrate utilization. *Global Biogeochemical Cycles* 8, 103–116.
- Álvarez-Covelas, M. y Zarco-Lechado, J., (1989). Lipids in microalgae. A review I. *Biochemistry. Grasas y Aceites* 40, 118–145.
- Anas, R.E., (1974). Heavy metals in the Northern Fur seal *Callorhinus ursinus* and Harbor seal *Phoca vitulina richardi*. *Fishery Bulletin* 72, 133–137.
- Andreae, M.O., Andreae, T.W., Ferek, R.J. y Raemdonck, H. (1984). Long-range transport of soot carbon in the marine atmosphere. *Sciences of the Total Environment* 36, 73–80.
- Bai, Y., Fang, X., Wang, Y., Kenig, F., Miao, Y. y Wang, Y., (2006). Distribution of aliphatic ketones in Chinese soils: Potential environmental implications. *Organic Geochemistry* 37, 860–869.
- Baldock, J.A., Oades, J.M., Nelson, P.N, Skene, T.M., Golchin, A. y Clarke, P., (1997). Assessing the extent of decomposition of natural organic materials using soil-state ¹³C NMR spectroscopy. *Australian Journal of Soil Research* 35, 1061–1083.
- Bergamaschi, B.A., Tsamakis, E., Keil, R.G., Eglington, T.I., Montluçon, D.B. y Hedges, J.I., (1997). The effect of grain size and surface area on organic matter, lignin and carbohydrate concentration, and molecular compositions in Peru Margin sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 61, 1247–1260.
- Blumer, M., Mullin, M.M. y Thomas, D.W., (1964). Pristane and zooplankton. *Science* 140, 974.
- Boon, J.J., de Lange, F., Schuyl, P.J.W. y de Leeuw, J.W., (1977 a). Organic geochemistry of Walvis Bay diatomaceous ooze. II. Occurrence and significance of the hydroxy fatty acids. En: Campos, R. y Goñi, J. (ed.), *Advances in Organic Geochemistry 1979*. Enadinsa. Madrid, 255–272.
- Boon, J.J., de Leeuw J.W., Hoeck V.G. y Vosjan J. H. (1977 b). The significance of taxonomical value of iso- and anteiso-monoenic fatty acids and branched b-hydroxy acids in *Desulfovibrio desulfuricans*. *Journal of Bacteriology* 129, 1183–1191.

- Borrego, J., Morales, J.A., Pendón, J.G. y Romero-Segura, M.J., (1990). Evolución del contenido en algunos metales pesados en la Ría del Piedras (Huelva, España). *Consecuencias ambientales*. *Geolis* 4, 21–29.
- Borrego, J., Morales, J.A. y Pendón, J.G., (1993) Holocene filling of an estuarine lagoon along the mesotidal coast of Huelva: the Piedras river-mouth, southwestern Spain. *Journal of Coastal Research* 9, 242–254.
- Borrego, J., López, M., Pendón, J.G. y Morales, J.A., (1998). C/S Ratios in estuarine sediments of the Odiel River-mouth, S.W. Spain. *Journal of Coastal Research* 14, 1276–1283.
- Borrego, J., Ruiz, F., González-Regalado, M.L., Pendón, J.G. y Morales, J.A., (1999). The Holocene transgression into the estuarine central basin of the Odiel River mouth (Cadiz Gulf SW Spain): lithology and faunal assemblages. *Quaternary Science Reviews* 18, 769–788.
- Borrego, J., Morales, J.A., de la Torre, M.L. y Grande, J.A., (2002). Geochemical characteristic of heavy metal pollution in surface sediments of the Tinto and Odiel river estuary (southwestern Spain). *Environmental Geology* 41, 785–796.
- Borrego, J., López-González, N. y Carro, B., (2004). Geochemical signature as paleoenvironmental markers in Holocene sediments of the Tinto river estuary (southwestern Spain). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 61, 631–641.
- Boström, K., (1973). The origin and fate of ferromanganoan active ridge sediments. *Stockholm Contribution to Geology* 27, 149–243.
- Böttcher, M.E. y Huckriede, H., (1997). First occurrence and stable isotope composition of authigenic γ -MnS in the central Gotland Deep (Baltic Sea). *Marine Geology* 137, 201–205.
- Böttcher, M.E., Oelschläger, B., Höpner, T., Brumsack, H.J. y Rullkötter, J., (1998). Sulphate reduction related to the early diagenetic degradation of organic matter and black spot formation in tidal sandflats of the German Wadden Sea (southern North Sea): Stable isotope (^{13}C , ^{34}S , ^{18}O) and other geochemical results. *Organic Geochemistry* 29, 1517–1530.
- Bourbonniere, R.A. y Meyers, P.A., (1996). Sedimentary geolipid records of historical changes in the watersheds and productivities of Lakes Ontario and Erie. *Limnology and Oceanography* 41, 352–359.
- Boutron, C. y Delmas, R., (1980). Historical record of global atmospheric pollution in Polar ice sheets. *Ambio* 9, 210–215

- Bracewell, J.M. y Robertson, G.W., (1984). Quantitative comparison of the nitrogen-containing pyrolysis products and amino acid composition of soil humic acids. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 6, 19–29.
- Bracewell, J.M., Abbt-Braun, G., de Leeuw, J.W., Hayes, M.H.B., Nimz, H.H., Norwood, D.L., Perdue, E.M., Schnitzer, M., Visser, S.A., Wilson, M.A. y Ziechmann, W., (1988). The characterization and validity of structural hypotheses. En: Frimmel, F.H. y Christman, R.F. (ed.), *Humic Substances and their Role in the Environment*. Wiley, Chichester, 151–164.
- Brandão, C. y Rodrigues, R., (2000). Hydrological simulation of the international catchment of Guadiana River. *Physics and Chemistry of the Earth. Part B: Hydrology, Oceans and Atmosphere* 25, 329–339.
- Braungardt, C.B., Achterberg, E.P. y Nimmo M., (1998). Behaviour of dissolved trace metals in the Rio Tinto/Rio Odiel estuarine system. En: Morales J.A. y Borrego J. (ed.). *European land-ocean interaction studies. Second Annual Scientific Conference, Abstracts*, p. 51.
- Brodowski, S., Rodionov, A., Haumaier, L., Glaser, B. y Amelung, W., (2005). Revised black carbon assessment using benzene polycarboxylic acids. *Organic Geochemistry* 36, 1299–1310.
- Bruchet, A., (1985). Applications de la technique de pyrolyse-GC-SM à l'étude des matières organiques non volatiles des eaux naturelles ou en cours de traitement. Thèse 3 ème cycle, Université Poitiers, France.
- Brumsack, H.J. (2006). The trace metal content of recent organic carbon-rich sediments: Implications for Cretaceous black shale formation. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology* 232, 344–361.
- Brunow, G., (1965). Origin of benzenepolycarboxylic acids from oxidized wood lignin. *Finska Kemistsamfundets Meddelanden* 74, 20–23.
- Byers, J.D. y Erdman, J.G., (1983). Low temperature degradation of carotenoids as a model for early diagenesis in recent sediments. En: M. Bjoroy *et al.* (ed.), *Advances in Organic Geochemistry 1981*. Wiley-Heyden, 725–732.
- Cachier, H., Lioussé, C., Buat-Ménard, P. y Gaudichet, A., (1995). Particulate content of savanna fire emissions. *Journal of Atmospheric Chemistry* 22, 123–148.
- Calvert, S.E. y Pedersen, T.F., (1996). Sedimentary geochemistry of manganese: implications for the environment of formation of manganiferous black shales. *Economic Geology* 91, 36–47.

-
- Canfield, D.E., Raiswell, R. y Bottrell, S., (1992). The reactivity of sedimentary iron minerals toward sulfide. *American Journal of Science* 292, 659–683.
 - Canuel, E.A., Freeman, K.H. y Wakeham, S.G., (1997). Isotopic composition of lipid biomarker compounds in estuarine plants and surface sediments. *Limnology and Oceanography* 42, 1570–1583.
 - Cardoso, J.N. y Chicarelli, M.I., (1983). The organic Geochemistry of the Paraíba Valley and Muran oil shales. En: M. Bjoroy *et al.* (ed.), *Advances in Organic Geochemistry*, 1981. John Wiley, Chichester, 828–833.
 - Chaffee, A.L., Perry, G.J. y Johns, R.B., (1981). Carboxylic acids and coal structure, En: Gorbaty, M.L. y Ouchi, K. (ed.), *Coal structure*. American Chemical Society. Washington, 113–131.
 - Chang, T.L. y Mead, T.E., (1971). Mass spectra of diterpene resin acids methyl esters. *Journal of American Oil Chemist's Society* 48, 455–461.
 - Chester, R. y Hughes, M.J., (1967). A chemical technique for the separation of ferromanganese minerals, carbonate minerals and adsorbed trace elements from pelagic sediments. *Chemical Geology* 3, 199–212.
 - Chester, R., (2000). *Marine Geochemistry*. Segunda Edición. Blackwell Science.
 - Chicarelli, M.I., Damasceno, L.P. y Cardoso, J.N., (1984). Diagenetic chemistry of the Paraíba Valeey oil shale. En: Schenck, P.A., de Leeuw, J.W. y Lijmbach, G.W.M. (ed.), *Advances in Organic Geochemistry 1983*, *Organic Geochemistry* 6, 153–155.
 - Christman, R.F. y Oglesby, R.T., (1971). Microbial degradation and the formation of humus. In: Sarkanen, K.V., Ludwig, C.H. (ed.), *Lignin: Occurrence, Formation, Structure and Reactions*. Wiley-Interscience, New York, 769–796.
 - Christman, R.F. y Gjessing, E.T., (1983). *Aquatic and terrestrial humic materials*. Ann Arbor Science Publishers. Michigan.
 - Civis, J., Sierro, F.J., Flores, J.A., Andrés, I., Porta, J. y Valle, M.F., (1987). El Neógeno marino de la provincia de Huelva: antecedentes y definición de las unidades litoestratigráficas. En: Universidad de Salamanca (ed.), *Paleontología del Neógeno de Huelva (W. Cuenca del Guadalquivir)*, 9–23.
 - Clark, R.B., (1997). *Marine Pollution*. Clarendon Preess. Oxford.
 - Coles, J.M. y Harding, A.F., (1979). *The Bronze Age in Europe. An Introduction to the Prehistory of Europe C. 2000-700 BC*. St Martin Press, London.

- Cook, J. y Pass, H.E., (2000). Ancient Pacific Margin Part V. Preliminary results of Geochemical Studies for VMS Deposits in the Big Salmon Complex. Northern British Columbia; En: Geological Fieldwork 1999. B.C. Ministry of Energy and mines. Paper 2000-I, 71–106.
- Costa Neto, C., (1983). Geochemistry of Brazilian oil shales. En: Miknis, F.P. y McKay, J.F. (ed.), Geochemistry and Chemistry of oil Shales. American Chemical Society, Washington, 13–36.
- Cranwell, P.A., (1973). Chain-length distribution of n-alkanes from lake sediments in relation to post-glacial environmental change. *Freshwater Biology* 3, 259–265.
- Cranwell, P.A., (1978). Extractable and bound lipid components in a freshwater sediment. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 42, 1523–1532.
- Cranwell, P.A., (1982). Lipids of aquatic sediments and sedimenting particulates. *Progress in Lipid Research* 21, 271–308.
- Cranwell, P.A., (1985). Long-chain unsaturated ketones in recent lacustrine sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 49, 1545–1551.
- Cranwell, P.A., Eglinton, G. y Robinson, N., (1987). Lipids of aquatic organisms as potential contributors to lacustrine sediments-II. *Organic Geochemistry* 11, 513–527.
- Crutzen, P.J. y Andreae, M.O., (1990). Biomass burning in the tropics: impact on atmospheric chemistry and biogeochemical cycles. *Science* 250, 1669–1678.
- Cubero, F., (1985). Caracterización de las fracciones que constituyen la materia orgánica del lignito de Puentes de García Rodríguez. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla, España.
- Currie, L.A., Better Jr., B.A., Kessler, J.D., Klinedinst, D.B., Klouda, G.A., Marolf, J.V., Slater, J.F., Wise, S.A., Cachier, H., Cary, R., Chow, J.C., Watson, J., Druffel, E.R.M., Masiello, C.A., Eglinton, T.I., Pearson, A., Reddy, C.M., Gustafsson, Ö., Quinn, J.G., Hartmann, P.C., Hedges, J.I., Prentice, K.M., Kirchstetter, T.W., Novakov, T., Puxbaum, H. y Schmid, H., (2002). A critical evaluation of interlaboratory data on total, elemental and isotopic carbon in the carbonaceous particle reference material, NIST SRM 1649a. *Journal of Research of the National Institute of Standards and Technology* 107, 279–298.
- Davis R.A., Welty A.T., Borrego J., Morales J.A., Pendón J.A. y Ryan J.G., (2000). Rio Tinto estuary (Spain): 5000 years of pollution. *Environmental Geology* 39, 1107–1116.

-
- de Leeuw de, J.W., van der Meer, F.W., Rijpstra, W.I.C. y Schenck, P.A., (1980). On the occurrence and structural identification of long chain unsaturated ketones and hydrocarbons in sediments. En: Douglas Maxwell (ed.), *Advance in Organic Geochemistry 1979*. Pergamon Press, 211–217.
 - de Leeuw de, J.W., van Bergen, P.F., van Aarssen, B.O.K., Oatellier, J.P.L.A., innighe Damsté, J.S. y Collison, M.T., (1991). Resistant biomacromolecules as major contributors to kerogen. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*. 333, 329–337.
 - de Leeuw de, J.W. y Largeau, C., (1993). A review of macromolecular organic compounds that comprise living organisms and their role in kerogen, coal and petroleum formation. En: Engel, M.H. y Macko, S. (ed.), *Organic Geochemistry*. Plenum Press, New York, 23–63.
 - Dean, W.E., (1999). The carbon cycle and biogeochemical dynamics in lake sediments. *Journal of Paleolimnology* 21, 375–393.
 - Debyser, Y. y Gadel, F., (1977). Etude géochimique des composés humiques et des kérogènes. En: *Géochimie Organique des Sédiments Marins Profonds*. Mer de Norvège C.N.R.S., Paris, 247–268.
 - Degens, E.T., Beherendt, M., Gotthardt, B. y Reppmann, E., (1968). Metabolic fractionation of carbon isotopes in marine plankton—parte II. *Deep-Sea Research* 15, 11–20.
 - del Río-Andrade, J.C., (1989). Carácter geoquímico-orgánico de carbones de bajo rango de la cuenca miocénica de Granada. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla, España.
 - Derenne, S., Largeau, C., Casadevall, E., Sinninghee Damsté, J.S., Tagelaar, E.W. y de Leeuw, J.W., (1990). Characterization of Estonian Kukursite by spectroscopy and pyrolysis: Evidence for abundant alkyl phenolic moieties in an Ordovician, marine, type II/I kerogen. En: Duran, B. y Behar, F. (ed.), *Advances in Organic Geochemistry 1989*, *Organic Geochemistry* 16, 873–888.
 - Derenne, S., Le Berre, F., Largeau, C., Hatcher P., Connan, J. y Raynaud, J.F., (1992). Formation of ultralaminae in marine kerogens via selective preservation of thin resistant outer walls of microalgae. *Organic Geochemistry* 19, 345–350.
 - Derenne, S., Largeau, C., Hetenyi, M., Brukner-Wein, A. Connan, J. y Lugardon, B., (1997). Chemical structure of the organic matter in a Pliocene maar-type shale: implicated *Botryococcus* race strains and formation pathways. *Geochimica et*

- Cosmochimica Acta 61, 1879–1889.
- Dickens, A.F., Gélinas, Y., Masiello, C.A., Wakeham, S. y Hedges, J.I., (2004). Reburial of fossil organic carbon in marine sediments. *Nature* 427, 336–339.
 - Didyk, B.M., Simoneit, B.R.T., Brassell, S.C. y Eglinton, G., (1978). Organic geochemical indicators of palaeoenvironmental conditions of sedimentation. *Nature* 272, 216–222.
 - Dittmar, T. y Lara, R.J., (2001). Molecular evidence for lignin degradation in sulfate-reducing mangrove sediments (Amazonia, Brazil). *Geochimica et Cosmochimica Acta* 65, 1417–1428.
 - Dong, J.Z., Vorkink, W.P. y Lee, M.L., (1993). Origin of long-chain alkylcyclohexanes and alkylbenzenes in a coal-bed wax. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 57, 837–849.
 - Douglas, A.G., Sinninghe Damsté, J.S., Fowler, M.G., Eglinton, T.I. y de Leeuw, J.W., (1991). Unique distributions of hydrocarbons and sulphur compounds released by flash pyrolysis from the fossilised alga *Gloeocapsomorpha prisca*, a major constituent in one of four Ortovician kerogens. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 55, 275–291.
 - Durand, B., (1980). *Kerogen-Insoluble Organic Matter from Sedimentary Rocks*. Editions Technip. Paris.
 - Edlund A., Nichols P.D., Roffey R. y White D.C., (1985). Extractable and lipopolysaccharide fatty acid and hydroxy acid profiles from *Desulfovibrio* species. *Journal of Lipid Research* 26, 982–988.
 - Eglinton, G. y Hamilton, R.J., (1963). The distribution of alkanes. En: Swain (ed.), *Chemical Taxonomy*. Academic Press, 187–208.
 - Eglinton, G. y Calvin, M., (1967). Chemical fossils. *Scientific America* 216, 32–43.
 - Eglinton, G. y Hamilton, R.J., (1967). Leaf epicuticular waxes. *Science* 156, 1322–1334.
 - Eglinton, G., Maxwell, J.R. y Philp, R.P., (1974). En: Tissot, B. y Bienner, G. (ed.), *Advances in Organic Geochemistry 1973*. Editions Technip, Paris, 941–961.
 - Eglinton, T.I., Irvine, J.E., Vairavamurthy, A., Zhou, W. y Manowitz, B., (1994). Formation and diagenesis of macromolecular organic sulphur in Peru margin sediments. En: N. Telnaes et al. (ed.), *Advances in Organic Geochemistry 1993*, *Organic Geochemistry* 22, 781–799.

-
- Ekman, R., (1979). Modified resin acids in the reaction zone of fone annous affected sapwood of Norway spruce. *Acta Academiae Aboensis Ser. B.* 39, 1–20.
 - Ekman, R. y Ketola, M., (1981). Analysis of lipid components in peat from a Finnish Sphagnum bog. *Kemia Kemi* 7–8, 488–493.
 - Elbaz-Poulichet, F. y Leblanc, M. (1996). Transfer de me'taux d'une province minie`re a' l'oce'an par des fleuves acides (Rio Tinto, Espagne). *Comptes Rendus de l'Academie des Sciendes de Paris* 322, 1047–1052.
 - Elbaz-Poulichet, F., Braungardt, C.B., Achterberg, E.P., Morley, N.H. y Cossa, D., (1999 a). A synthesis of the results of TOROS and CANIGO projects on metal contamination in the Tinto-Odiel Rivers (southern Spain) and the Gulf of Cadiz. En: Pacyma, J.M., Kremer, H., Pirrone, N. y Barthel, K (ed.) *Socioeconomic aspects of fluxes of chemicals into marine environment*. European Commission. Project Report of the Energy, Environment and Sustainable Development, N° 19089, 101–109.
 - Elbaz-Poulichet, F., Morley, N.H., Cruzado, A., Velásquez, Z., Achterberg, E.P. y Braungardt, C.B., (1999 b) Trace metal and nutrient distribution in an extremely low pH (2.5) river-estuarine system, the Ria of Huelva (south-west Spain). *The Science of Total the Environment* 227, 73–83.
 - Elderfield, H., (1976). Hydrogenous material in marine sediments: excluding manganese nodules. En: Riley, J.P. y Chester, R. (eds), *Chemical Oceanography* 5, 137–215. London, Academic Press.
 - Elmquist, M., Gustafsson, Ö. y Andersson, P., (2004). Quantification of sedimentary black carbon using the chemothermal oxidation method: an evaluaton of ex situ pretratments and standard additions approaches. *Limnology and Oceanography* 2, 417–427.
 - Emerson, S. y Hedges, J.I., (1988). Processes controlling the organic carbon content of open ocean sediments. *Paleoceanography* 3, 621–634.
 - Eriksson, K.E., Blanchette, R.A. y Ander, P., (1990). *Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components*. Springer-Verlag. Berlin.
 - Ertel, J.R. y Hedges, J.I., (1984). The lignin component of humic substances: distribution among soil and sedimentary humic, fulvic, and base-insoluble fractions. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 48, 2065–2074.
 - Ertel, J.R. y Hedges, J.I., (1985). Sources of sedimentary humic substances: vascular plant debris. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 49, 2097–2107.

- Fairbridge, R.W., (1980). The estuary: its definition and geodynamic cycle. En: Olausson, Cato (ed.), Chemistry and Biogeochemistry of Estuaries. John Wiley, 1–35.
- Farella, N., (1998). Impacts du Déboisement sur les Sols et les Sédiments de la Région du Rio Tapajós (Amazonie brésilienne) Illustrés par des Biomarqueurs. Master's thesis, Université du Québec à Montréal, Canada.
- Farella, N. Lucotte, M., Louchouart, P. y Roulet, M., (2001). Deforestation modifying terrestrial organic transport in the Río Tapajós, Brazilian Amazon. Organic Geochemistry 32, 1443–1458.
- Fengel, D. y Wegener, G., (1984). Wood. Chemistry, Ultrastructure, Reactions. Walter de Gruyter. Berlín.
- Fernández Salas, L.M., Rey, J., Pérez-Vázquez, E., Ramírez, J.L., Hernández-Molina, F.J., Somoza, L., De Andrés, J.R. y Lobo, F.J., (1999). Morphology and characterization of the relict facies on the internal continental shelf in the Gulf of Cadiz between Ayamonte and Huelva (Spain). Boletín del Instituto Español de Oceanografía 15, 123–132.
- Fernández-Caliani, J.C., Ruiz, F. y Galán, E., (1997). Clay mineral and heavy metal distributions in the lower estuary of Huelva and adjacent Atlantic shelf, SW Spain. Science of the Total Environment 198, 181–200.
- Ferrero, M.D., (1988) Los conflictos de Febrero de 1888 en Rio Tinto: distintas versiones de los hechos. Huelva Hist 2, 603–623.
- Ficken, K.J., Street-Perrott, F.A., Perrott, R.A., Swain, D.L., Olago, D.O. y Eglinton, G., (1998). Glacial/interglacial variations in carbon cycling revealed by molecular and isotope stratigraphy of Lake Nkunga, Mt. Kenya, East Africa. Organic Geochemistry 29, 1701–1719
- Ficken, K.J., Li, B., Swain, D.L. y Eglinton, G., (2000). An *n*-alkane proxy for the sedimentary input of submerged/floating freshwater aquatic macrophytes. Organic Geochemistry 31, 749–754.
- Flaig, W., Beutelspacher, H. y Rietz, E., (1975). Chemical composition and physical properties of humic substances. En: Gieseking, J.E. (ed.), Soil Components: Vol. I. Organic Components. Springer-Verlag, New York, 1–211.
- Förstner, U. y Wittman, G.T.W., (1983). Metal pollution in the aquatic environment. Springer-Verlag, New York.

- Freedman, B., (1995). *Environmental Ecology. The ecological effects of pollution, disturbance and other stresses.* Academic Press. INC.
- Freudenberg, K., Chen, C.-L., Harkin, J.M., Nimz, H. y Renner, H., (1965). Observations on lignin. *Chemical Communications (London)* 1965, 224–225.
- Freudenthal, T., Wagner, T., Wenzhöfer, F., Zabel, M. y Wefer, G., (2001). Early diagenesis of organic matter from sediments of the eastern subtropical Atlantic: evidence from stable nitrogen and carbon isotopes. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 65, 1795–1808.
- Fry, B., Scalan, R.S. y Parker, P.L. (1977). Stable carbon isotope evidence for two sources of organic matter in coastal sediments: seagrasses and plankton. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 41, 1875–1877.
- Gadel, F. y Bruchet, A., (1987). Application of pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry to the characterization of humic substances resulting from decay of aquatic plants in sediments and waters. *Water Research* 21, 1195–1206.
- Galán, E., Carretero, M. y Fernández-Caliani, J.C., (1999). Effects of acid mine drainage on clay minerals suspended in the Tinto River (Río Tinto, Spain). An experimental approach. *Clay Minerals* 34, 99–108.
- Galán, E., Gómez-Ariza, J.L., González, I., Fernández-Caliani, J.C., Morales, E. y Giráldez, I., (2003). Heavy metal partitioning in river sediments severely polluted by acid mine drainage in the Iberian Pyrite Belt. *Applied Geochemistry* 18, 409–421.
- Ganeshram, R.S., Pedersen, T.F., Calvert, S.E., McNeill, G.W. y Fontugne, M.R., (2000). Glacial/interglacial variability in denitrification in the world's oceans: causes and consequences. *Paleoceanography* 15, 361–376.
- Ganor, E., Foner, H.A., Brenner, S., Neeman, E. y Lavi, N., (1991). The chemical composition of aerosols settling in Israel following dust storms. *Atmospheric Environment* 25, 2665–2670.
- Gelin, F., Boogers, I., Noordeloos, A.A.M., Hatcher, P.G., Sinninghe Damsté, J.S. y de Leeuw, J.W., (1996). Novel, resistant microalgal polyethers: An important sink of organic carbon in the marine environments? *Geochimica et Cosmochimica Acta* 60, 1275–1280.
- Gelin, F., Boogers, I., Noordeloos, A.A.M., Sinninghe Damsté, J.S., Riegman, R. y de Leeuw, J.W., (1997). Resistant biomacromolecules in marine microalgae of the classes Eustigmatophyceae and Chlorophyceae: Geochemical implications. *Organic Chemistry* 26, 659–676.

- Gélinas, Y., Prentice, K.M, Baldock, J.A. y Hedges, J.I., (2001). An improved thermal oxidation method for the quantification of soot/graphitic black carbon in sediments and soils. *Environmental Science and Technology* 35, 3519–3525.
- Glaser, B., Haumaier, L., Guggenberger, G. y Zech, W., (1998). Black carbon in soils: the use of benzenecarboxylic acids as specific markers. *Organic Geochemistry*, 29, 811–819.
- Goldberg, E.D., (1954). Marine geochemistry. Chemical scavengers of the sea. *Journal of Geology* 62, 249–255.
- Goldberg, E.D., (1985). *Black Carbon in the Environment: Properties and Distribution*. John Wiley & Sons. Interscience, New York.
- Goldblatt, C.J. y Anthony, R.G., (1983). Heavy Metals in northern Fur Seals *Callorhinus ursinus* from the Pribilof slands, Alaska. *Journal of Environmental Quality* 12, 478–482.
- Gonzalez, R., Dias, J.M.A. y Ferreira, Ó., (2001). Recent rapid evolution of the Guadiana Estuary (Southern Portugal/Spain). *Journal of Coastal Research* SI 34, 516–527.
- González, R., Dias, J.M.A., Lobo, F. y Mendes, I., (2004). Sedimentological and paleoenvironmental characterisation of transgressive sediments on the Guadiana Shelf (Northern Gulf of Cádiz, SW Iberia). *Quaternary International* 120, 133–144.
- González, R., Araújo, M.F., Burdloff, D., Cachão, M., Cháscales, J., Corredeira, C., Dias, J.M.A., Fradique, C., Ferreira, J., Gomes, C., Machado, A., Mendes, I. y Rocha, F., (2006). Sediment and pollutant transport in the Northern Gulf of Cádiz: a multi-proxy approach. *Journal of Marine Systems*, doi:10.1016/j.jmarsys.2006.10.007.
- González-Vila, F.J., Lentz, H. y Lüdeman, H.D., (1976). FT-¹³C NMR spectra of natural humic substances. *Biochemical and biophysical research communications*. 72, 1063–1069.
- González-Vila, F.J., Lentz, H., Lüdeman, H.D., Martín, F., (1983). ¹³C NMR structural features of soil humic acids and their methylated, hydrolyzed and extracted derivatives. *Geoderma* 31, 3–15.
- González-Vila, F.J., Polvillo, O., Boski, T., Moura, D. y de Andrés, J.R., (2003). Biomarker patterns in a time-resolved Holocene/Terminal Pleistocene sedimentary sequence from the Guadiana river estuarine area (SW Portugal/Spain border). *Organic Geochemistry* 34, 1601–613.

-
- Goñi, M.A. y Hedges, J.I., (1992). Lignin dimers: structures, distribution, and potential geochemical applications. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 56, 4025–4043.
 - Goñi, M.A., Nelson, B., Blanchette, R.A. y Hedges, J.I., (1993). Fungal degradation of wood lignins: geochemical perspectives from CuO-derived phenolic dimers and monomers. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 57, 3985–4002.
 - Goñi, M.A. y Hedges, J.I. (1995). Sources and reactivities of marine-derived organic matter in coastal sediments as determined by alkaline CuO oxidation. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 59, 2965–2981.
 - Goñi, M.A., Ruttenger, K.C. y Eglinton, T.I., (1997). Sources and contribution of terrigenous organic carbon to surface sediments in the Gulf of Mexico. *Nature* 389, 275–278.
 - Goñi, M.A., Ruttenger, K.C. y Eglinton, T.I., (1998). A reassessment of the sources and importance of land-derived organic matter in surface sediments from the Gulf of Mexico. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 62, 3055–3075.
 - Goñi, M.A. y Montgomery, S., (2000). Alkaline CuO oxidation with a microwave digestion system: Lignin analyses of geochemical samples. *Analytical Chemistry* 72, 3116–3121.
 - Goñi, M.A., Yunker, M.B., Macdonald, R.W. y Eglinton, T.I., (2000). Distribution and sources of organic biomarkers in Arctic sediments from the Mackenzie River and Beaufort Shelf. *Marine Chemistry* 71, 23–51.
 - Goossens, H., de Leeuw, J.W., Schenck, P.A. y Brassell, S.C., (1984). Tocopherols as likely precursors of pristane in ancient sediments and crude oils. *Nature* 312, 440–442.
 - Gough, L.J., (1964). Conifer resin constituents. *Chemistry and Industry (London)*, 2059–2060.
 - Gough, M.A., Fauzi, R., Mantoura, C. y Preston, M., (1993). Terrestrial plant biopolymers in marine sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 57, 945–964.
 - Grande, J.A., Borrego, J. y Morales, J.A., (2000). A study of heavy metal pollution in the Tinto-Odiel estuary in southwestern Spain using factor analysis. *Environmental Geology* 39, 1095–1101.
 - Grice, K., Schouten, S., Nissenbaum, A., Charrach, J. y Sinninghe Damsté, (1998). Isotopically heavy carbon in the C₂₁ to C₂₅ regular isoprenoids in halite-rock

- deposits from the Sdom Formation, Dead Sea Basin, Israel. *Organic Geochemistry* 28, 349–359.
- Grimalt J, J. Albaigés, A.A.Z. Douabul y H.T. Al-Saad (1985). Alkane distributions in surface sediments from the Arabian Gulf. *Naturwissenschaften* 72, 35–37.
 - Grimalt, J.O. y Albaigés, J. (1987). Sources and occurrence of C₁₂–C₂₂ n-alkane distributions with even carbon number preference in sedimentary environments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 51, 1379–1384.
 - Grimalt, J.O., Torras, E. y Albaigés, J. (1988). Bacterial reworking of sedimentary lipids during simple storage. *Organic Geochemistry* 13, 741–746.
 - Grimalt, J. O., Yruela, I., Saiz-Jimenez, C., Toja, J., de Leeuw, J. W. y Albaigés, J. (1991). Sedimentary lipid biogeochemistry of an hypereutrophic alkaline lagoon. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 55, 2555–2577.
 - Grossi, V., Hirschler, A., Raphel, D., Rontani, J.F., de Leeuw, J.W. y Bertrand, J. C., (1998). Biotransformation pathways of phytol in recent anoxic sediments. *Organic Geochemistry* 29, 845–861.
 - Gschwend, P.M., Zafiriou, O.C., Mantoura, R.F.C., Schwarzenbach, R.P. y Gagosian, R.B., (1982). Volatile organic compounds at a coastal site 1. Seasonal variations. *Environmental Science and Technology* 16, 31–38.
 - Guieu, C., Martín, J.M., Tankéré, S.P.C., Mousty, F., Trincherini, P., Bazot, M. y Dai, M.H., (1998). On trace metal geochemistry in the Danube River and western Black Sea. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 47, 471–485.
 - Gunstone, F. D. y Padley, F. B., (1967). Glyceride studies. Part. 7. The component glycerides of maturing sunflower seeds. *Chemistry and Physics of Lipids* 1, 429–433.
 - Gustafsson, Ö., Haghseta, K., Chan, F., McFarlane, A. y Gschwend, P.M. (1997). Quantification of the dilute sedimentary soot phase: implications for PAH speciation and bioavailability. *Environmental Science and Technology* 31, 203–209.
 - Gustafsson, Ö. y Gschwend, P.M. (1998). The flux of black carbon to surface sediments on the New England continental shelf. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 62, 465–472.
 - Gustafsson, Ö., Bucheli, T. D., Kukulska, Z., Andersson, M., Largeau, C., Rouzaud, J. N., Reddy, C. M. y Eglinton, T. I., (2001). Evaluation of a protocol for the quantification of black carbon in sediments. *Global Biogeochemical Cycles* 15,

- 881–890.
- Hadas, O., Pinkas, R., Malinsky-Rushansky, N., Markel, D. y Lazar, B., (2001). Sulfate-reduction in lake Agmon, Israel. *Sciences of the Total Environment* 266, 202–209.
 - Haddad, R.I., Newell, S.Y., Martens, C.S. y Fallon, R.D., (1992). Early diagenesis of lignin-associated phenolics in the salt marsh *Spartina alterniflora*. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 56, 3751–3764.
 - Hamilton, S.E. y Hedges, J.I., (1988). The comparative geochemistries of lignins and carbohydrates in an anoxic fjord. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 52, 129–142.
 - Hartnett, H.E., Keil, R.G., Hedges, J.I. y Devol, A.H., (1998). Influence of oxygen exposure time on organic carbon preservation in continental margin sediments. *Nature* 391, 572–574.
 - Harwood, J.L. y Russell, N.J., (1984). *Lipids in plants and microbes*. George Allen y Unwin, London.
 - Hashimoto, N., Adyama, T. y Shioiri, T., (1981). New methods and reagents in organic synthesis. A simple efficient preparation of methyl esters with trimethylsilyldiazomethane (TMSCHN₂) and its application to gas chromatographic analysis of fatty acids. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 29, 1475–1478.
 - Haumaier, L. y Zech, W., (1995). Black carbon—possible source of highly aromatic components of soil humic acids. *Organic Geochemistry* 23, 191–196.
 - Hayase, F. y Kato, H., (1981). Volatile components formed by thermal degradation of non-dialyzable melanoidins prepared from sugar-amino acid reaction systems. *Agricultural and Biological Chemistry* 45, 2559–2567.
 - Hayatsu, R., Scott, R. G. y Winans, R. E. (1982). Oxidation of coal. En: Trahanovsky, W. S. (ed.), *Oxidation in Organic Chemistry. Part D*. Academic Press, New York, 279–354.
 - Hayes, J.M., (1993). Factors controlling ¹³C contents of sedimentary organic compounds: principles and evidences. *Marine Geology* 113, 111–125.
 - Hayes, M.H.B. y Swift, R.S., (1978). The Chemistry of Soil Organic Colloids. En: Greenland, D.J. y Hayes, M.H. (ed.), *The Chemistry of Soil Constituents*. John Wiley & Sons, London. 179–185.
 - Heath, G.R., Moore, T.C. y Dauphin, J.P., (1977). Organic carbon in deep-sea

- sediments. En: Anderson, N.R. y Malahoff, A. (ed.), *The fate of fossil fuels CO₂ in the oceans*. New York: Plenum, 605–625.
- Hedges, J.I. y Mann, D.C., (1979). The lignin geochemistry of marine sediments from the southern Washington coast. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 43, 1809–1818.
 - Hedges, J.I. y Ertel, J.R., (1982). Characterization of lignin by gas capillary chromatography of cupric oxidation products. *Analytical Chemistry* 54, 174–178.
 - Hedges, J.I., Turin, H.J. y Ertel, J.R., (1984). Sources and distributions of sedimentary organic matter in the Columbia River drainage basin, Washington and Oregon. *Limnology and Oceanography* 29, 39–46.
 - Hedges, J.I., Cowie, G.L., Ertel, J.R., Barbour, R.J. y Hatcher, P.G., (1986). Degradation of carbohydrates and lignins in buried woods. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 49, 701–711.
 - Hedges, J.I., Blanchette, R.A., Weliky, K. y Devol, A.H., (1988 a). Effects of fungal degradation on the CuO oxidation products of lignin: A controlled laboratory study. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 52, 2717–2726.
 - Hedges, J.I., Clark, W.A. y Cowie, G.L., (1988 b). Organic matter sources to the water column and surficial sediments of a marine bay. *Limnology and Oceanography* 33, 1116–1136.
 - Hedges, J.I., Clark, W.A. y Cowie, G.L., (1988 c). Fluxes and reactivities of organic matter in a coastal marine bay. *Limnology and Oceanography* 33, 1137–1152.
 - Hedges, J.I. y Prahl, F.G. (1993). En: Engel, M.H. y Macko, S.A. (ed.), *Organic Geochemistry, Principles and Applications*. Plenum Press, New York, 237–253.
 - Hedges, J.I. y Keil, R.G., (1995). Sedimentary organic matter preservation: an assessment and speculative synthesis. *Marine Chemistry* 49, 81–115.
 - Hedges, J.I. y Keil, R.G. (1997). What happens to terrestrial organic matter in the ocean? *Organic Geochemistry*, 27, 195–212.
 - Hedges, J.I. y Keil, R.G., (1999). Organic geochemical perspectives on estuarine processes: sorption reaction and consequences. *Marine Chemistry* 65, 55–65.
 - Hedges, J.I., Mayorga, E., Tsamakis, E., McClain, M.E., Aufdenkampe, A., Quay, P., Richey, J.E., Benner, R., Opsahl, S., Black, B., Pimentel, T., Quintanilla, J. y Maurice, L. (2000). Organic matter in Bolivian tributaries of the Amazon River: a comparison to the lower mainstream. *Limnology and Oceanography* 45, 1449–

- 1466.
- Heidenreich, R.D., Hess, W.M. y Ban, L.L., (1968). A test objetct and criteria for high resolution electron microscopy. *Journal of Applied Crystallography* 1, 1–19.
 - Hempfling, R. y Schulten, H.R., (1989). Selective preservation of biomolecules during humification of forest litter studied by pyrolysis-field ionization mass spectrometry. *Science of the Total Environment* 81, 31–40.
 - Hempfling, R., Schulten, H.R. y Horn, R., (1990). Relevance of humus composition to the physical/mechanical stability of agricultural soils: a study by direct pyrolysis-mass spectrometry. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 17, 275–281
 - Hernández, M.E., Mead, R., Peralba, M.C. y Jaffé, R., (2001). Origin and transport of *n*-alkan-2-ones in a subtropical estuary: potential biomarkers for seagrass-derived organic matter. *Organic Geochemistry* 32, 21–32.
 - Hernes, P.J. y Benner, R., (2003). Photochemical and microbial degradation of dissolved lignin phenols: Implications for the fate of terrigenous dissolved organic matter in marine environments. *Journal of Geophysical Research–Oceans* 108, 1–9.
 - Herring, J.R. (1985). Charcoal fluxes into sediments of the North Pacific Ocean: the Cenozoic record of burning. En: Sundquist, E.T. y Broecker, W.S. (ed.), *The Carbon Cycle and Atmospheric CO₂: Natural Variations Archean to Present*. AGU, Washington DC, 419–442.
 - Herron, M.M., (1988). Geochemical classification of terrigenous sand and shales from core or log data. *Journal of Sedimentary Petrology* 58, 820–829.
 - Hesketh, N., Malcolm, Jones, N. y Tipping, E., (1996). The interaction of some pesticides and herbicides with humic substances. *Analytica Chimica Acta* 327, 191–201.
 - Hoffmann, P, Ricken, W., Schwark, L. y Leythaeuser, D., (2001). Geochemical signature and related climatic-oceanographic processes for early Albian black shales: Sites 417D, North Atlantic Ocean. *Cretaceous Research*, 222, 243–257.
 - Holmes, M.E., Eichner, C., Struck, U. y Wefer, G., (1999). Reconstruction of surface nutrient utilization using stable nitrogen isotopes in sinking particles and sediments. En: Fischer, G. y Wefer, G. (ed.), *The Use of proxies in Paleoceanography: Examples from the South Atlantic*. Springer, 447–468.
 - Houel, S., Louchouart, P., Lucotte, M., Canuel, R. y Ghaleb, B., (2006).

- Translocation of soil organic matter following reservoir impoundment in boreal systems: implications for in situ productivity. *Limnology and Oceanography* 51, 1497–1513.
- IGME, (1974). Investigación minera submarina en el Subsector Huelva I, Golfo de Cadiz. Servicio de Publicaciones del Ministerio de Industria.
 - Ikan, R., Baedecker, M.J. y Kaplan, I.R., (1973). C₁₈-isoprenoid ketone in a recent marine sediment. *Nature* 244, 154–155.
 - Ikan, R., Baedecker, M.J. y Kaplan, I.R., (1975). Thermal alteration experiments on organic matter in recent marine sediment III. Aliphatic and steroidal alcohols. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 39, 195–203.
 - Ikan, R., Rubinsztain, Y., Ioselis, P., Aizenshtat, Z., Pugmire, R., Anderson, L.L. y Woolfenden, W.R., (1986). Carbon-13 cross polarized magic-angle samples spinning nuclear magnetic resonance of melanoidins. *Organic Geochemistry* 9, 199–212.
 - Ishida, Y., Yokoi, H., Isomura, S., Ohtani, H., Tsuge, S., Sekino, T., Nakanishi, M. y Kimoto, T., (1998). Correlation analysis between fatty acid compositions of zooplankton individuals, fed on different phytoplankton species by means of pyrolysis-gas chromatography combined with online methylation. *Journal of Chromatography, B: Biomedical Science Application* 716, 39–45.
 - Ishiwatari, R. y Hanya, T., (1975). Organic geochemistry of a 200 m core sample from Lake Biwa. Vertical distribution of mono and dicarboxylic acids and polynuclear aromatic hydrocarbons. *Proceedings of the Japan Academy Series B-Physical and Biological Sciences* 51, 436–441.
 - Ishiwatari, R. y Uzaki, M., (1987). Diagenetic changes of lignin compounds in a more than 0.6 million-year-old lacustrine sediment (Lake Biwa, Japan). *Geochimica et Cosmochimica Acta* 51, 321–328.
 - Ishiwatari, R., Yamada, K., Matsumoto, K., Houtatsu, M. y Naraoka, H., (1999). Organic molecular and carbon isotopic records of the Japan Sea over the past 30 kyr. *Paleoceanography* 14, 260–270.
 - Jaffé, R., Cabrera, A., Hausmann, K. y Carvajal-Chitty, H., (1993). On the origin and fate of n-alkane-2-ones in freshwater environments. En: Manning, D. (ed.), *Organic Geochemistry: Applications in Energy and the Natural Environment*. Manchester University Press, Manchester, UK, 356–359.
 - Jaffé, R., Wolff, G.A., Cabrera, A.C. y Carvajal-Chitty, H., (1995). The

- biogeochemistry of lipids in rivers from the Orinoco Basin. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 59, 4507–4522.
- Jaffé, R., Cabrera, A., Hajje, N. y Carvajal-Chitty, H., (1996). Organic biogeochemistry of a hypereutrophic tropical, freshwater lake Part I: particle associated and dissolved lipids. *Organic Geochemistry* 25, 227–240.
 - Jaffé, R., Mead, R., Hernández, M.E., Peralba, M.C. y DiGuida, O.A., (2001). Origin and transport of sedimentary organic matter in two subtropical estuaries: a comparative, biomarker-based study. *Organic Geochemistry* 32, 507–526.
 - Jefferies, H.P., (1970). Seasonal composition of temperate plankton communities, Fatty acids. *Limnology and Oceanography* 15, 419–426.
 - Johns, R.B., Belsky, T., McCarthy, E.D., Burlingame, A.L., Haug, P., Schnoes, H.K., Richter, W. y Calvin, M., (1966). The organic geochemistry of ancient sediments II. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 30, 1191–1122.
 - Johns, R.B., Gillian, F.T. y Volkmann, J.K., (1980). Early diagenesis of phytol esters in a contemporary temperate intertidal sediment. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 44, 183–188.
 - Kaneda, T., (1991). Iso- and anteiso-fatty acids in bacteria: biosynthesis, function, and taxonomic significance. *Microbiological Reviews* 55, 288–302.
 - Kawamura, K., Ishiwatari, R. y Yamazaki, M., (1980). Identification of polyunsaturated fatty acids in surface lacustrine sediments. *Chemical Geology* 23, 31–39.
 - Kawamura, K. e Ishiwatari, R., (1981). Polyunsaturated fatty acids in a lacustrine sediment as a possible indicator of paleoclimate. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 45, 149–155.
 - Kawamura, K. e Ishiwatari, R., (1984). Fatty acid geochemistry of a 200m sediment core from lae Biwa Japan. Early diagenesis and paleoenvironmental information. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 48, 251–266.
 - Keil, R.G., Tsamakis, E., Fuh, C.B., Giddings, J.C. y Hedges, J.I., (1994). Mineralogical and textural controls on the organic composition of coastal marine sediments: hydrodynamic separation using SPLITT-fractionation. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 58, 879–893.
 - Keil, R.G., Mayer, L.M., Quay, P.D., Richey, J.E. y Hedges, J.I., (1997). Loss of organic matter from riverine particles in deltas. *Geochimica et Cosmochimica Acta*

- 61, 1507–1511.
- Keil, R.G., Tsamakis, E., Giddings, J.C. y Hedges, J.I., (1998). Biochemical distributions (amino acids, neutral sugars, and lignin phenols) among size-classes of modern marine sediments from the Washington coast. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 62, 1347–1364.
 - Kennedy, I.M., (1997). Models of soot formation and oxidation. *Progress in Energy and Combustion Science* 23, 95–132.
 - Kerndorff, H. y Schnitzer, M., (1980). Sorption metals on humic acid. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 44, 1701–1708.
 - Killops, S.D. y Killops, V.J., (1993). An introduction to organic geochemistry. Longman Scientific and Technical. Harlow.
 - Klap, V.A., Louchouart, P., Boon, J.J., Hemminga, M.A. y Soelen, J., (1999). Decomposition dynamics of six salt marsh halophytes as determined by cupric oxide oxidation and direct temperature-resolved mass spectrometry. *Limnology and Oceanography* 44, 1458–1476.
 - Knicker, H. y Lüdemann, H.-D., (1995). N-15 and C-13 CP/MAS and solution NMR studies of N-15 enriched plant material during 600 days of microbial degradation. *Organic Geochemistry* 23, 329–341.
 - Knicker, K., González-Vila, F.J., Polvillo, O., González, J.A. y Almendros, G., (2005). Fire-induced transformation of C- and N- forms in different organic soil fractions from a Dystric Cambisol under a Mediterranean pine forest (*Pinus pinaster*). *Soil Biology and Biochemistry* 37, 701–718.
 - Kolattukudy, P.E., (1976). Chemistry and biochemistry of natural waxes. Elsevier Science. Amsterdam.
 - Koopmans, M. P., de Leeuw, J. W., Lewan, M. D. y Sinninghe Damsté, J. S., (1996). Impact of dia- and cata-genesis on sulphur and oxygen sequestration of biomarkers as revealed by artificial maturation of an immature sedimentary rock. *Organic Geochemistry* 25, 391–426.
 - Kotra, R.K. y Hatcher, P.G., (1988). Pyrolysis -gas chromatographic studies of the origins of the insoluble aliphatic component of peat. *Naturwissenschaften* 75, 196–198.
 - Krüge, M.A. y Permanyer, A., (2004). Application of pyrolysis-GC/MS for rapid assessment of organic contamination in sediments from Barcelona harbour.

- Organic Geochemistry 35, 1395–1408.
- Kuhlbusch T.A.J. y Crutzen P.J. (1995). Towards a global estimate of black carbon residues of vegetation fires representing a sink of atmospheric CO₂ and a source of O₂. *Global Biogeochemical Cycles* 9, 491–501.
 - Kuhlbusch T.A.J. (1998). Black carbon and the carbon cycle. *Science* 280, 1903–1904.
 - Kusunose, E., Kusunose, M. y Coon, M.J., (1964). Enzymatic ω-oxidation of fatty acids. *Journal of Biological Chemistry* 239, 1374–1380.
 - Kvenvolden, K.A., (1966). Molecular Distributions of Normal Fatty Acids and Paraffins in Some Lower Cretaceous Sediments. *Nature* 209, 573–577.
 - Largeau, C., Derenne, S., Casadevall, F., Kadouri, A. y Sellier, N., (1986). Pyrolysis of immature Torbanite and of the resistant biopolymer (PRB A) isolated from extant alga *Botryococcus braunii*. Mechanism of formation and structure of Torbanite. *Advances in Organic Geochemistry* 10, 1023–1032.
 - Larter, S.R., Solli, H. y Douglas, A.G., (1978). Analysis of kerogens by Pyrolysis-Gas Chromatography-Mass spectrometry using selective ion detection. *Journal of Chromatography* 167, 421–431.
 - Leblanc, M., Morales, J.A., Borrego, J. y Elbaz-Poulichet, E., (2000). 4,500- years-old mining pollution in southwestern Spain: long-term implications for modern mining pollution. *Economic Geology* 95, 655–662.
 - Lee, M.L., Prado, G.P., Howard, J.B. y R.A. Hites (1977). Source identification of urban airborne polycyclic aromatic hydrocarbons by gas chromatography mass spectrometry and high resolution mass spectrometry. *Biomedical Mass Spectrometry* 4, 182–186.
 - Lehmann M.F., Bernasconi S.M., Barbieri A. y McKenzie J.A., (2002). Preservation of organic matter and alteration of its carbon and nitrogen isotope composition during simulated and in situ early sedimentary diagenesis. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 66, 3573–3584.
 - Leif, R.N. y Simoneit, B.R.T., (1995). Ketones in hidrothermal petroleums and sediment extracts from Guaymas Basin, Gula of California. *Organic Geochemistry* 23, 889–904.
 - Leistel, J.M., Marcoux, E., Thiéblemont, D., Quesada, C., Sánchez, A., Almodóvar, G.R., Pascual, E. y Sáez, R., (1998). The volcan-hosted massive sulphide deposits

- of the Iberian Pyrite belt. *Mineralium Deposita* 33, 2–30.
- Liaaen-Jensen, S., (1978). Marine carotenoids. En: Faulkner, D.J. y Fenical, W.H. (ed.), *Marine Natural Products*. Academic Press, 2–73.
 - Lichtfouse, E., Udziński, H., Garrigues, P. y Eglington, T.I. (1997). Ancient polycyclic aromatic hydrocarbons in modern soils: ^{13}C , ^{14}C and biomarker evidence. *Organic Geochemistry* 26, 353–359.
 - Lijmbach, G.W.M., (1975). On the origin of petroleum. *Proceedings of the 9th World Petroleum Conference*. London, Applied Science Publishers 2, 357–369.
 - Lim, B. y Cachier, H.P., (1996). Determination of black carbon by chemical oxidation and thermal treatment in recent marine and lake sediments and Cretaceous-Tertiary clays. *Chemical Geology* 131, 143–154.
 - Liñán, C.C., de Alvaro, M., Apalategui, O., Baena, J., Balcells, R., Barnolas, A., Barrera, J.L., Bellido, F., Cueto, L.A., Díaz de Neira, A., Elízaga, E., Fernández-Gianotti, J.R., Ferreira, E., Gabaldón, V., García-Sansegundo, J., Gómez, J.A., Heredia, N., Hernández-Urroz, J., Hernández-Samaniego, A., Lendínez, A., Leyva, F., Lopez-Olmedo, F.L., Lourenzo, S., Martín, L., Martín, D., Martín-Serrano, A., Matas, J., Monteserín, V., Nozal, F., Olive, A., Ortega, E., Piles, E., Ramírez, J.I., Robador, A., Roldán, F., Rodríguez, L.R., Ruiz, P., Ruiz, M.T., Sánchez-Carretero, R. y Teixell, A., (1994). *Mapa Geológico de la Península Ibérica, Baleares y Canarias*. Escala 1:1.000.000. IGME (ed.). Madrid.
 - Lobo, F.J., Hernández-Molina, F.J., Somoza, L. y Díaz del Río, V., (2001). The sedimentary record of the post-glacial transgression on the Gulf of Cádiz continental shelf (Southwest Spain). *Marine Geology* 178, 171–195.
 - Lobo, F.J., Sánchez, R., Gonzalez, R., Dias, J.M.A., Hernández-Molina, F.J., Fernández-Salas, L.M., Díaz del Río, V. y Mendes, I., (2004). Contrasting styles of Holocene highstand sedimentation and inferred dispersal system on a sector of the Gulf of Cadiz shelf. *Continental Shelf Research* 24, 461–482.
 - López-González, N., Borrego, F., Ruiz, F., Carro, B., Lozano-Soria, O. y Abad, M. (2006). Geochemical variations in estuarine sediments: Provenance and environmental changes (Southern Spain). *Estuarine Coastal and Shelf Science* 67, 313–320.
 - Louchouart, P., (1997). *Cycle biogéochimique de composés naturels et anthropiques dans les sédiments récents d'un environnement côtier: Le système du Saguenay-St. Laurent, Canada*. Tesis Doctoral, University of Quebec in

Montreal, Canada.

- Louchouart, P., Lucotte, M., Canuel, R., Gagné, J.-P. y Richard, L.P., (1997). Sources and early diagenesis of lignin and bulk organic matter in the sediments of the Lower St. Lawrence Estuary and the Saguenay Fjord. *Marine Chemistry* 58, 3–26.
- Louchouart, P. y Lucotte, M. (1998). A historical reconstruction of organic and inorganic contamination events in the Saguenay Fjord/St. Lawrence system from preindustrial times to the present. *The Science of the Total Environment* 213, 139–150.
- Louchouart, P., Lucotte, M. y Farella, N., (1999). Historical and geographical variations of sources and transport of terrigenous organic matter within a large-scale coastal environment. *Organic Geochemistry* 30, 675–699.
- Louchouart, P., Opsahl, S. y Benner, R., (2000). Isolation and quantification of dissolved lignin from natural waters using solid-phase extraction (SPE) and GC/MS Selected Ion Monitoring (SIM). *Analytical Chemistry* 72, 2780–2787.
- Macdonald, R.W., Solomon, S.M., Cranston, R.E., Welch, H.E., Yunker, M.B. y Gobeil, C., (1998). A sediment and organic carbon budget for the Canadian Beaufort Shelf. *Marine Geology* 144, 255–273.
- Macko, S. y Estep, M.L.F., (1984). Microbial alteration of stable nitrogen and carbon isotopic compositions of organic matter. *Organic Geochemistry* 6, 787–790.
- Macko, S., Ángel, M.H. y Parker, P.L., (1993). Early diagenesis of organic matter in sediments. Assessment of mechanisms and preservation by the use of isotopic molecular approaches. En: Ángel, M.H. y S.A. Macko, S.A. (ed.), *Organic Geochemistry* Oleum, 211–224.
- Maldonado, A. y Zamarreño, I., (1983). Modelos sedimentarios en las plataformas continentales del Mediterraneo español: factores de control, facies y procesos que rigen su desarrollo. En: Castellví, P. (ed.), *Estudio Oceanográfico de la Plataforma Continental*. E.O.P.C.: Seminario Científico, Cadiz, 15–52.
- Martín, F., Saiz-Jiménez, C. y González-Vila, F.J., (1979). Pyrolysis gas chromatography-mass spectrometry of lignins. *Holzforshung* 11, 210–212.
- Martín F. y González-Vila, F.J., (1983). Persulfate oxidation of humic acids extracted from three different soils. *Soil Biology and Biochemistry* 16, 207–210.
- Martín, F., González-Vila, F.J., Cubero, F. y Verdejo, T., (1987). Organic

- geochemical significance of the humic acid fraction isolated from a Spanish lignite. En: Rodríguez-Clemente, Y. (ed.), *Geochemistry and Mineral Formation in the Earth Surface*. Tardy CSIC-CNRS. 441–447
- Masiello C.A. y Druffel E.R.M. (1998). Black carbon in deep-sea sediments. *Science* 280, 1911–1913.
 - Masiello C.A., (2004). New directions in black carbon organic geochemistry. *Marine Chemistry* 92, 201–213.
 - Mayer, L.M., (1994). Relationships between mineral surfaces and organic carbon concentrations in soils and sediments. *Chemical Geology* 114, 347–363.
 - Meyers, P.A. e Ishiwatary, R., (1993). Lacustrine organic geochemistry: an overview of indicators of organic matter sources and diagenesis in lake sediments. *Organic Geochemistry* 20, 867–900.
 - Meyers, P.A., (1994). Preservation of elemental and isotopic source identification of sedimentary organic matter. *Chemical Geology* 114, 289–302.
 - Meyers, P.A., (1997). Organic geochemical proxies of paleoceanographic, paleoclimnologic and paleoclimatic processes. *Organic Geochemistry* 27, 213–250.
 - Meyers, P.A. y Bernasconi, S.M. (2005). Carbon and nitrogen isotope excursions in mid-Pleistocene sapropels from the Tyrrhenian Basin: Evidence for climate-induced increases in microbial primary production. *Marine Geology* 220, 41–58.
 - Middelburg, J.J., Nieuwenhuize, J. y van Breugel, P. (1999). Black carbon in marine sediments. *Marine Chemistry* 65, 245–252.
 - Mihalynuk, M.G. y Peter, J.M., (2001). A hydrothermal origin for “crinkle chert” of the Big Salmon Complex. *Geological Fieldwork 2000. Paper 2001-I: Victoria, B.C., Ministry of Energy and Mines*.
 - Moita, I., (1986). *Noticia Explicativa da Carta dos Sedimentos Superficiais da Plataforma, Folha SED 8. Instituto Hidrográfico*.
 - Moldowan, J.M., Albrecht, P. y Philp, R.P., (1992). *Biological Markers in Sediments and Petroleum*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.
 - Mongenot, T., Riboulleau, A., Garcette-Lepecq, A., Derenne, S., Pouet, Y., Baudin, F. y Largeau, C., (2001). Occurrence of proteinaceous moieties in S- and O-rich Late Tithonian kerogen (Kashpir oil shales, Russia). *Organic Geochemistry* 32, 199–203.
 - Morales, J.A., (1995). *Sedimentología del Estuario del Río Guadinana*. Tesis

- Doctora. Universidad de Huelva, España. Publicaciones de la Universidad de Huelva. Colección Alonso Barba Nº2.
- Morales, J.A., (1997). Evolution and facies architecture of the mesotidal Guadiana River delta (S.W. Spain – Portugal). *Marine Geology* 138, 127–148.
 - Morales, J.A., Borrego, J., Jiménez, I., Monterde, J. y Gil, N., (2001). Morphostratigraphy of an ebb-tidal delta system associated with a large spit in the Piedras Estuary mouth (Huelva Coast, Southwestern Spain). *Marine Geology* 172, 225–241.
 - Moreno, C., (1993). Postvolcanic Paleozoic of the Iberian pyrite belt: an example of Basin morphologic control on sediment distribution in a turbidite basin. *Journal of Sedimentary Petrology* 63, 1118–1128.
 - Moucawi, J., Fusthec, E. y Jambu, P., (1981). Decomposition of lipids in soils. Free and sterified fatty acids, alcohols and ketones. *Soil Biology and Biochemistry* 13, 342–55.
 - Müller G., (1979). Schwermetalle in den sedimenten des Rheins – Veränderungen seit 1971. *Umschau* 79, 107–126.
 - Müller, P.J., (1977). C/N ratios in Pacific deep-sea sediments: effect of inorganic ammonium and organic nitrogen compounds sorbed by clays. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 41, 765–776.
 - Müller, P.J., Erlenkeuser, H. y von Grafenstei, R. (1983). Glacial-interglacial cycles in oceanic productivity inferred from organic carbon contents in eastern North Atlantic sediments. En: Thiede, J. y Suess, E. (ed.), *Coastal Upwelling. Its Sediment Record. Part B: Sedimentary Records of Ancient Coastal Upwelling*, NATO Conference Series, Serie IV: Marine Science 10b, Plenum, 365–398.
 - Navale, V., (1992). A study of chemical transformation of glycerol ether lipids to hydrocarbons by flash and hydrous pyrolysis. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 23, 121–133.
 - Nelson, B.C., Goñi, M.A., Hedges, J.I. y Blanchette, R.A., (1995). Soft-rot fungal degradation of lignin in 2700 year old archaeological woods. *Holzforschung* 49, 1–10.
 - Nelson C.H. y Lamothe P.J., (1993). Heavy metals anomalies in the Tinto and Odiel River Estuary System, Spain. *Estuaries* 16, 496–511.
 - Nelson, C.H., Baraza, J., Maldonado, A., Rodero, J., Escutía, C. y Barber Jr., J.H.,

- (1999). Influence of the Atlantic inflow and Mediterranean outflow currents on Late Quaternary sedimentary facies of the Gulf of Cadiz continental margin. *Marine Geology* 155, 99–129.
- Nguyen, T.H., Brown, R. y Ball., W.P., (2004). An evaluation of thermal resistance as a measure of black carbon content in diesel soot, wood char and sediment. *Organic Geochemistry* 35, 217–234.
 - Nieuwenhuize, J., Maas, Y.E.M. y Middelburg, J.J., (1994). Rapid analysis of organic carbon and nitrogen in particulate materials. *Marine Chemistry* 45, 217–224.
 - Nip, M., Tegelaar, E.W., Briukhuis, H., de Leeuw, J.W., Schenk, P.A. y Holloway, P.J., (1986 a). 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. *Organic Geochemistry* 10, 769–778.
 - Nip, M., Tegelaar, E.W., de Leeuw, J.W., Schenk, P.A. y Holloway, S.P.J., (1986 b). A new non-saponifiable highly aliphatic and resistant biopolymer in plant cuticles. Evidence from pyrolysis and ¹³C NMR analysis of present day and fossil plants. *Naturwissenschaften* 73, 579–585.
 - Nip, M., de Leeuw, J.W. y Schenck, P.A., (1988). The characterization of eight maceral concentrates by means of Curie point pyrolysis-gas chromatography and curie point pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 52, 637–648.
 - Nishimoto, S., (1974). A chemotaxonomic study of n-alkane in aquatic plants. *Journal of Science Hiroshima University Series A* 38, 159–163.
 - Nissebaum, A. y Kaplan, I.R., (1972). Chemical and isotopic evidence for the in situ origin of marine humic substances. *Limnology and Oceanography* 17, 570–582.
 - O'Leary, M.H. (1988). Carbon isotopes in photosynthesis. *Bioscience* 38, 328–336.
 - Ogren, J.A. y Charlson, R.J., (1983). Elemental carbon in the atmosphere: cycle and lifetime. *Tellus* 35, 241–254.
 - Oldeburg, T.B.P., Rullkötter, J., Böttcher, M.E. y Nissenbaum, A., (2000). Molecular and isotopic characterization of organic matter in recent and sub-recent sediments from the Dead Sea. *Organic Geochemistry* 31, 251–265.
 - Opsahl, S. y Benner, R., (1995). Early diagenesis of vascular plant tissues: lignin and cutin decomposition and biogeochemical implications. *Geochimica et*

- Cosmochimica Acta 59, 4889–4904.
- Opsahl, S. y Benner, R., (1998). Photochemical reactivity of dissolved lignin in river and ocean waters. *Limnology and Oceanography* 43, 1297–1304.
 - Orians, K.J. y Bruland, K.W., (1986). The biogeochemistry of aluminium in the Pacific Ocean. *Earth and Planetary Science Letters* 78, 397–410.
 - Oró, J., Nooner, D.W., Zlatkis, A., Wikstrom, S.A. y Barghoorn, E.S., (1965). Hydrocarbons of biological origin in sediments about two billion years old. *Science* 148, 77–79.
 - Otto, A. y Simoneit, B.R.T., (2001). Chemosystematics and diagenesis of terpenoids in fossil conifer species and sediment from the Eocene Zeitz formation, Saxony, Germany. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 65, 3505–3527.
 - Park, C. y Berger, L.R., (1967). Fatty acids of extractable and bound lipids of *Rhodocyclidium vannielli*. *Journal of Bacteriology*. 93, 230–236.
 - Patience, R.L. y Wilson, M.A., (1990). Practical applications of solid state ¹³C NMR to the structural elucidation of sedimentary organic matter. *TrAC-Trends Analytical Chemistry* 9, 26–31.
 - Peakall, D.B., (1975). Phthalate esters: occurrence and biological effects. *Residue Reviews* 54, 1–41.
 - Pendón, J.G., Morales, J.A., Borrego, J., Jimenez, I. y Lopez M. (1998). Evolution of estuarine facies in a tidal channel environment, SW Spain: evidence for a change from tide- to wave-domination. *Marine Geology* 147, 43–62
 - Perry, G.J., Volkman, J.K., Johns, R.B. y Bavor, H.J., (1979). Fatty acids of bacterial origin in contemporary marine sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 43, 1715–1725.
 - Peter, J.M. y Goodfellow, W.D., (1996). Mineralogy, bulk and rare earth element geochemistry of massive-sulphide associated hydrothermal sediments of the Brunswick Horizon, Bathurst Mining Camp, New Brunswick. *Canadian Journal of Earth Sciences* 33, 252–283.
 - Peters, K.E., Sweeney, R.E. y Kaplan, I.R., (1978). Correlation of carbon and nitrogen stable isotope ratios in sedimentary organic matter. *Limnology and Oceanography* 23, 598–604.
 - Peterson, B.J. y Howarth, R.W., (1987). Sulphur, carbon and nitrogen isotopes used to trace organic matter flow in the salt-marsh estuaries of Sapelo Island,

- Georgia. *Limnology and Oceanography* 32, 1195–1213.
- Pettijohn, F.J., (1975). *Sedimentary Rocks*. Tercera Edición. Harper and Row, New York.
 - Philp, R.P. y Calvin, M., (1976). Possible origin for insoluble organic (kerogen) debris in sediments from insoluble cell-wall materials of algae and bacteria. *Nature* 262, 134–136.
 - Philp, R.P., Rusell, N.J. y Gilbert, T.D., (1981). Hydrogenation of Tasmanian alginate, analysis of hexane-soluble products by thermal distillation-gas chromatography-mass spectrometry. *Fuel* 60, 937–944.
 - Philp, R.P., Gilbert, T.D. y Russell, N.J., (1982). Characterization by pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry of the insoluble organic residues derived from the hydrogenation of *Tasmanites* sp. oil shale. *Fuel* 61, 221–226.
 - Philp, R.P., (1985). Biological markers in fossil fuel production. *Mass Spectrometry Reviews* 4, 1–54.
 - Philp, R.P. y Lewis, C.A., (1987). Organic geochemistry of biomarkers. *Annual Review of Earth and Planetary Science*. 15, 363–395.
 - Poirier, N., Derenne, S., Rouzaud, J.N., Largeau, C., Mariotti, A., Balesdent, J. y Maquet, J., (2000). Chemical structure and sources of the macromolecular, resistant, organic fraction isolated from a forest soil (Lacadee, southwest France). *Organic Geochemistry* 31, 813–827.
 - Polvillo, O. (2003). Análisis geoquímico-orgánico de sedimentos del estuario del río Guadiana y su relación con la detección de cambios ambientales en el Holoceno. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla, España.
 - Prahl, F.G., Bennett, J.T. y Carpenter, R., (1980). The early diagenesis of aliphatic hydrocarbons and organic matter in sedimentary particules from dabob Bay, Washington. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 44, 1967–1976.
 - Prahl, F.G. y Pinto, L.A., (1987). A geochemical study of long-chain n-aldehydes in Washington coastal sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 51, 1573–1582.
 - Prahl, F.G., Ertel, J.R., Goñi, M.A., Sparrow, M.A. y Eversmeyer, B., (1994). Terrestrial organic carbon contributions to sediments on the Washington margin. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 58, 3048–3055.
 - Prahl, F.G., de Lange, G.J., Scholten, S. y Cowie, G.L., (1997). A case of post-depositional aerobic degradation of terrestrial organic matter in turbidite deposits

- from the Madeira Abyssal Plain. *Organic Geochemistry* 27, 141–152.
- Prahl, F.G., Cowie, G.L., de Lange, G.J. y Sparrow, M.A., (2003). Selective organic matter preservation in “burn-down” turbidites on the Madeira Abyssal Plain. *Paleoceanography* 18, 1052.
 - Premuzic, E.T., Benkovitz, C.M., Gaffney, J.S. y Walsh, J.J., (1982). The nature and distribution of organic matter in the surface sediments of world oceans and seas. *Organic Geochemistry* 4, 63–77.
 - Preston, C.M., Dudley, R.L., Fyfe, C.A. y Mathur, S.P., (1984). Effects of variations in contact times and copper contents in a ^{13}C CP/MAS NMR study of samples of four organic soils. *Geoderma* 33, 245–253.
 - Preston, C.M., (1996). Applications of NMR to soil organic matter analysis: history and perspectives. *Soil Science* 161, 144–166.
 - Qu, W., Dickman, M., Sumin, W., Ruijin, W., Pingzhong, Z. y Jianfa, C., (1999). Evidence for an aquatic origin of ketones found in Taihu Lake sediments. *Hydrobiologia* 397, 149–154.
 - Raiswell, R. y Berner, R.A., (1985). Pyrite formation in euxinic and semi-euxinic sediments. *American Journal of Science* 285, 710–724.
 - Readman, J.W., Mantoura, R.F.C., Llewellyn, C.A., Preston, M.R. y Reeves, A.D., (1986). The use of pollutant and biogenic markers as source discriminants of organic inputs to estuarine sediments. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 27, 29–54.
 - Rey, J. y Medialdea, T., (1989). Morfología y sedimentos recientes del margen continental de Andalucía Occidental. *El Cuaternario en Andalucía Occidental. AEQUA Monografías* 1, 133–144.
 - Rhead, M.M., Eglinton, G., Draffan, G.H. y England, P.J., (1971). Conversion of oleic acid to saturated fatty acids in Severn estuary Sediments. *Nature* 232, 327–330.
 - Riboulleau, A., Perenne, S., Sarret, G., Largeau, C., Baudin, F. y Connan, J., (2000). Pyrolytic and spectroscopic study of a sulphur-rich kerogen from the “Kashpir oil shales” (Upper Jurassic, Russian platform). *Organic Geochemistry* 31, 1641–1661.
 - Rieley, G., Collier, R.J., Jones, D.M. y Eglinton, G., (1991). The biogeochemistry of Ellesmere Lake, UK-I: source correlation of leaf wax inputs to the sedimentary lipid

- record. *Organic Geochemistry* 17, 901–912.
- Rodríguez, I.M., (2006). Caracterización química de fibras de plantas herbáceas utilizadas en la fabricación de pastas de papel de alta calidad. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla, España.
 - Rontani, J.F. y Bonin, P.C., (2000). Aerobic bacterial metabolism of phytol in seawater: effect of particle association on an abiotic intermediate step and its biogeochemical consequences. *Organic Geochemistry* 31, 489–496.
 - Rontani, J.F. y Volkman, J.K., (2003). Phytol degradation products as biogeochemical tracers in aquatic environments. *Organic Geochemistry* 34, 1–35.
 - Rowland, S. J. (1990). Production of acyclic isoprenoid hydrocarbons by laboratory maturation of methanogenic bacteria. *Organic Geochemistry* 15, 9–16.
 - Rudakov, R.S., Savoskin, M.V. y Rudakova, R.I., (1986). Condensation mechanism of formation of mellitic acid precursors during acid-catalytic oxydestruction of organic materials and coals. *Soviet Progress in Chemistry: the Faraday Press cover-to-cover translation of Ukrainskii Khimicheskii Zhurnal* 52, 109–113.
 - Ruiz, F., González-Regalado, M.L., Borrego, J., Morales, J.A., Pendón, J.G. y Muñoz, J.M., (1998). Stratigraphic sequence, elemental concentrations and heavy metal pollution in Holocene sediments from the Tinto-Odiel estuary, south-western Spain. *Environmental Geology* 34, 270–278.
 - Ruiz, F., (2001). Trace metals in estuarine sediments from the Southwestern Spanish Coast. *Marine Pollution Bulletin* 2, 482–490.
 - Ruiz de la Torre, J. (1990). Mapa Forestal de España, Memoria General. Escala 1:200.000. ICONA (ed.). Madrid.
 - Saiz-Jiménez, C., Haider, K. y Meuzelaar, H.L.C., (1979). Comparisons of soil organic matter and its fractions by pyrolysis-mass spectrometry. *Geoderma* 22, 25–37.
 - Saiz-Jiménez, C. y de Leeuw, J.W., (1984). Pyrolysis chromatography-mass spectrometry of soil polysacchar soil fulvic acids and polymaleic acid. *Organic Geochemistry* 6, 287–293.
 - Saiz-Jiménez, C. y de Leeuw, J.W., (1986). Lignin pyrolysis products, their structures and their significance as biomarkers. *Organic Geochemistry* 10, 869–876.
 - Saiz-Jiménez, C. y de Leeuw, J.W., (1987). Nature of plant components identified

- in soil humic acids. *Science of the Total Environment* 62, 115–119.
- Sanders, J.K.M. y Hunter, B.K., (1993). *Modern NMR Spectroscopy. A guide for Chemists*. Oxford University Press, New York.
 - Sarkanen, K.V., Ludwig, C.H., (1971). *Lignins. Occurrences, Formation, Structure and Reactions*. Wiley-Interscience, New York.
 - Schaumann, E., (2006 a). Soil organic matter beyond molecular structure Part I: Macromolecular and supramolecular characteristics. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 169, 145–156. DOI: 10.1002/jpln.200521785.
 - Schaumann, E., (2006 b). Soil organic matter beyond molecular structure Part II: Amorphous nature and physical aging. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 169, 157–167. DOI: 10.1002/jpln.200521791.
 - Schmidt, M.W.I., Skjemstad, J.O., Gehrt, E. y Kögel-Knabner, I., (1999). Charred organic carbon in German chernozemic soils. *European Journal of Soil Science* 50, 351–365.
 - Schmidt, M.W.I. y Noack, A.G., (2000). Black carbon in soils and sediments: analysis, distribution, implications and current challenges. *Global Biochemical Cycles* 14, 777–793.
 - Schmidt, M.W.I., Skjemstad, J.O., Czimczik, C.I., Glaser, B., Prentice, K.M., Gélinas, Y. y Kuhlbusch, T.A.J., (2001). Comparative analysis of black carbon in soils. *Global Biogeochemical Cycles* 15, 163–167.
 - Schnetger, B., (1992). Chemical composition of loess from a local and worldwide view. *Neues Jahrbuch für Mineralogie-Monatshefte* 1992, 29–47.
 - Schnitzer, M. y Khan, S.U., (1972). *Humic Substances in the Environment*. Marcel Dekker Inc., New York.
 - Schnitzer, M. (1978). Humic substances: chemistry and reactions. En: M. Schnitzer, M. y Khan, S. U. (ed.), *Soil Organic Matter*. Elsevier, Amsterdam, 1–64.
 - Schnitzer, M. y Khan, S.U., (1978). *Soil organic matter*. Elsevier, Amsterdam.
 - Schnitzer, M., (1991). Soil organic matter -The next 75 years. *Soil Science* 151, 41–58.
 - Schoemaker, H.E., Tuor, U., Muheim, A., Schmidt, H.W.H. y Leisola, M.S.A., (1991). White rot degradation of lignin and xenobiotics. En: Betts, W. B. (ed.), *Biodegradation. Natural and Synthetic Materials*. Springer-Verlag. London, 157–173.

- Schulten, H.R., Plage, B. y Schnitzer, M. (1991). A chemical structure for humic substances. *Naturwissenschaften* 78, 311–312.
- Schulten, H.R. y Schitzer, M., (1993). A state of the art structural concept for humic substances. *Naturwissenschaften* 80, 29–30.
- Schulten, H.R., (1995). The three-dimensional structure of humic substances and soil organic matter studied by computational analytical chemistry. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 351, 62–73.
- Schulten, H.R. y Schnitzer, M., (1997). Chemical model structures for soil organic matter and soil. *Soil Science* 162, 115–130.
- Schwark, L., Zink, K. y Lechterbeck, J., (2002). Reconstruction of postglacial to early Holocene vegetation history in terrestrial Central Europe via cuticular lipid biomarkers and pollen records from lake sediments. *Geology* 30, 463–466.
- Sein, L.T.J., Varnum, J.M. y Jansen, S.A., (1999). Conformational modelling of a new building block of humic acid: Approaches to the lowest energy conformer. *Environmental Science and Technology* 33, 546–552.
- Sekiguchi, Y., Frye, J.S. y Shafizadeh, F. (1983) Structure and formation of cellulosic chars. *Journal of Applied Polymer Science* 28, 3513–3525.
- Senesi, N. y Loffredo, E., (1999). The chemistry of soil organic matter. En: Sparks, D.L. (ed.), *Soil physical chemistry*, Segunda Edición. CRC press, Boca Ratón, 239–370.
- Shephard, F.P. (1954). Nomenclature based on sand-silt-clay ratios. *Journal of Sedimentary Petrology* 21, 151–158.
- Shindo, H. (1991). Elementary composition, humus composition and decomposition in soil of charred grassland plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 37, 651–657.
- Sigman, D.M., Altabet, M.A., McCorkle, D.C., Francois, R. y Fisher, G., (2000). The $\delta^{15}\text{N}$ of nitrate in the Southern Ocean: nitrogen cycling and circulation in the ocean interior. *Journal of Geophysical Research-Oceans* 105, 19.599–19.614.
- Silliman, J.E., Meyers, P.A. y Bourbonniere, R.A., (1996). Record of postglacial organic matter delivery and burial in sediments of Lake Ontario. *Organic Geochemistry* 24, 463–472.
- Silva, A.J., Dias, J.A., Bebianno, M.J., Santos, A.I., Garcia, A.C., Cravo, A., Rosa, L.A., Madureira, M., Gonzalez, R. y Machado, A., (2000). Building a reference prior

- to Alqueva. Project SIRIA: one- and-a-half years of results. Tercer Simpósio sobre a Margem Continental Ibérica Atlántica, Faro (Algarve, Portugal) Vol. 24–27, 225–226.
- Simmonds, P.G., Schulman, G.P. y Stenbridge, C.H., (1969). Organic analysis by pyrolysis gas chromatography-mass spectrometry. Candidate experiment for the biological exploration of Mars. *Journal of Chromatographic Science* 7, 36–41.
 - Simoneit, B.R.T., (1977). Diterpenoid compounds and other lipids in deep sea sediments and their geochemical significance. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 41, 463–476.
 - Simoneit, B.R.T., (1978). The organic chemistry of marine sediments. En: Riley, J.P. y Chester, R. (eds.), Vol. 7, *Chemical Oceanography*. London: Academic Press. 233–311.
 - Simoneit, B.R.T., Mazurek, M.A., Brenner, S., Crisp, P.T. y Kaplan, I.R., (1979). Organic geochemistry of recent sediments from Guaymas Basin, Gulf of California. *Deep-Sea Research Part A- Oceanographic research papers* 26A, 879–891.
 - Simoneit, B.R.T. y Mazurek, M.A., (1982). Organic matter of the troposphere. II. Natural background of biogenic lipid matter in aerosols over the rural western United States. *Atmospheric Environment* 16, 2139–2159.
 - Simoneit, B.R.T., Vuchev, V.T. y Grimalt, J.O., (1984). Organic matter along the sedimentary sequences of the Moroccan continental margin. Leg 79 sites 545 and 547. En: Hinz *et al.* (ed.), *Initial Reports of the Deep Sea Drilling Project*, Vol 79. U.S. Government. Printing Office Washington D.C., 807–824.
 - Simoneit, B.R.T., (1985). Application of molecular marker analysis to vehicular exhaust for source reconciliations. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 22, 203–233.
 - Simpson, M.J. y Hatcher, P.G. (2004 a). Overestimates of black carbon in soils and sediments. *Naturwissenschaften* 91, 436–440.
 - Simpson, M.J. y Hatcher, P.G. (2004 b). Determination of BC in natural matter by chemical oxidation and solid-state ^{13}C -NMR spectroscopy. *Organic Geochemistry* 35, 923–935.
 - Skjemstad, J.O., Clarke, P., Taylor, J.A., Oades, J.M. y Newman, R.H., (1994). The removal of magnetic materials from surface soils. A solid state ^{13}C CP/MAS NMR study. *Australian Journal of Soil Research* 32, 1215–1229.

- Skjemstad, J.O., Taylor, J.A. y Smernik, R.J., (1999). Estimation of charcoal (char) in soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 30, 2283–2298.
- Slemr, F. y Langer, E., (1992). Increase in global atmospheric concentrations of mercury inferred from measurements over the Atlantic Ocean. *Nature* 355, 434–437.
- Smith, D.J., Eglinton, G., Morris, R.J. y Poutanen, E.L., (1983). Aspects of the steroid geochemistry of an interfacial sediment from the Peruvian upwelling. *Oceanologica Acta* 6, 211–219.
- Soil Survey Staff, (1999). *Keys to Soil Taxonomy*. USDA, EEUU.
- Sporstol S., Gjos, N., Lichtenthaler, R.G., Gustavsen, K.O., Urdal, K., Oreid, F. y Skei, J., (1983). Source identification of aromatic hydrocarbons in sediments using GC/MS. *Environmental Science Technology* 17, 282–286.
- Stevenson, F.J., (1994). *Humus Chemistry. Genesis, Composition, Reactions*. Segunda Edición. Wiley Interscience. New York.
- Stout, S. A., Boon, J. J. y Spackman, W. G., (1988). Molecular aspects of the peatification and early coalification of angiosperm and gymnosperm woods. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 52, 405–414.
- Strauss, G.K., Madel, J. y Alonso, F.F., (1977). Exploration practice for strata-bound volcanogenic sulfide deposits in the Spanish-Portuguese pyrite belt. En: Klemm, D.D. y Scheinder, H-J. (ed.). *Time and strata-bound ore deposits*. Springer, Berlin Heidelberg New York, 55–93.
- Struck, U., Emeis, K.C., Voss, M., Krom, M.D. y Rau, G.H., (2001). Biological productivity during sapropel S₅ formation in the eastern Mediterranean Sea: evidence from stable isotopes of nitrogen and carbon. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 65, 3249–3266.
- Suman, D.O., Kuhlbusch, T.A.J., Lim, B., Clarck, J.S., Cachier, H, Goldhammer, J.G. y Stock, B. (1996). *Sediments records of biomass burning and global change*. Springer-Verlag, New York, 271–293.
- Summons, R.E. y Powell, T.G., (1987). Identification of aryl isoprenoids in source rocks and crude oils: biological markers from the green sulphur bacteria. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 51, 557–566.
- Sun, M.Y., Lee, C. y Aller, R.C., (1993). Laboratory studies of oxic and anoxic degradation of chlorophyll-a in Long Island Sound sediments. *Geochimica et*

- Cosmochimica Acta 57, 147–157.
- Sutton, R. y Sposito, G., (2005). Molecular structure in soil humic substances: The new view. *Environmental Science and Technology* 39, 9009–9015.
 - Takada, H. e Ishiwatari, R., (1987). Linear alkylbenzenes in urban riverine environments in Tokyo: distribution, source and behavior. *Environmental Science and Technology* 21, 875–883.
 - Taylor, S.R. y McLennan, S.M., (1985). *The Continental Crust: Its Composition and Evolution*. Blackwell, Oxford.
 - Tegelaar, E.W., de Leeuw, J.W. y Saiz-Jiménez, C., (1989). Possible origin of aliphatic moieties in humic substances. *Science of the Total Environment* 81/82, 1–17.
 - ten Haven, H.L., (1986). Organic and inorganic geochemical aspects of Mediterranean Late Quaternary sapropels and Messinian evaporitic deposits. Tesis Doctoral. Universidad de Delft, Netherlands.
 - ten Haven, H.L., de Leeuw, J.W., Rullkötter, J. y Sinninghe Damsté, J.S., (1987). Restricted utility of the pristane/phytane ratio as a paleoenvironmental indicator. *Nature* 330, 641–643.
 - Thiel, V., Peckmann, J., Seifert, R., Wehrung, P., Reitner, J. y Michaelis, W. (1999). Highly isotopically depleted isoprenoids: molecular markers for ancient methane venting. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 63, 3959–3966.
 - Thomas, P.J., (1970). Modern and fossil plant resins. En: Harborne, J.B. (ed.), *Phytochemical Phylogeny*. Academic Press, London, 59–79.
 - Thompson, S. y Eglinton, G., (1978). The fractionation of a recent sediment for organic geochemical analysis. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 42, 199–207.
 - Thurman, E.M., (1985). *Organic Geochemistry of Natural Waters*. Martines Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers. AH Dordrecht. The Netherlands.
 - Tinoco, P., (2000). Caracterización molecular de la material orgánica de suelos afectados por distintos tipos de degradación en la Comunidad de Madrid. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Madrid, España.
 - Tissot, B.P. y Welte, D.H., (1984). *Peroleum formation and occurrence*. Berlin: Springer-Verlag.
 - Tolosa, I., (1993). Contribució al coneixement del cicle biogeoquímic deis contaminants orgànics a la Mediterrània nord-occidental. Tesis Doctoral,

- Universidad de Barcelona, España.
- Tulloch, A.P., Spencer, J.F.T. y Gorin, P.A.J., (1976). Chemistry of waxes of higher plants En: Kolattukudy, P.E. (ed.), Chemistry and Biochemistry of natural waxes. Elsevier Science, Amsterdam, 236–289.
 - Turekian, K.K. y Wedepohl, K.H., (1961). Distribution of the elements in some major units of the Earth's crust. *Geology Society of American Bulletin* 72, 1751–191.
 - Tyson, R.V., (1995). *Sedimentary Organic Matter*. Chapman & Hall, London.
 - Ugolini, F.C., Reanier, R.E., Rau, G.H. y Hedges, J.I., (1981). Pedological, isotopic, and geochemical investigations of the soils at the boreal forest and alpine tundra transition in Northern Alaska. *Soil Science* 131, 359–374.
 - Uzaky, M. e Ishiwatari, R., (1986). Carbohydrates in the sediment of lake Yunoko: vertical distribution and implication to their origin. *Japan Journal of Limnology* 47, 257–267.
 - van Geen, A., Adkins, J.F., Boyle, E.A., Nelson, C.H. y Palanques, A., (1997). A 120 yr record of widespread contamination from mining of the Iberian pyrite belt. *Geology* 25, 291–294.
 - van Krevelen, D.W., (1950). Graphical-statistical method for the study of structure and reaction processes of coal. *Fuel* 29, 269–284.
 - Vandergrift, G.F., Winans, R.E., Scott, R.G. y Horwitz, E.P., (1980). Quantitative study of the carboxylic acids in Green River oil shale bitumen. *Fuel* 59, 627–633.
 - Vella, A.J. y Holzer, G., (1992). Distribution of isoprenoid hydrocarbons and alkylbenzenes in immature sediments: evidence for direct inheritance from bacterial/algal sources. *Organic Geochemistry* 18, 203–210.
 - Venkatesan, M.I., (1988). Organic geochemistry of marine sediments in Antarctic region: Marine lipids in McMurdo Sound. *Organic Geochemistry* 12, 13–27.
 - Verardo, D.J. y Ruddiman, W.F., (1996). Late Pleistocene charcoal in tropical Atlantic deep-sea sediments: climatic and geochemical significance. *Geology* 24, 855–857.
 - Vine, J.D. y Tourtelot, E.B., (1970). Geochemistry of black shale deposits—a summary report. *Economic Geology* 65, 253–272.
 - Visser, S.A., (1983). Application of Van Krevelen's graphical-statistical method for the study of aquatic humic material. *Environmental Science and Technology* 17,

- 412–417.
- Volkman, J.K., Johns, R.B., Gillan, F.T., Perry, G.J. y Bavor Jr, H.J., (1980). Microbial lipids of an intertidal sediment—I. Fatty acids and hydrocarbons. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 44, 1133–1143.
 - Volkman, J.K., Farrington, J.W., Gagosian, R. y Wakeham, S.G., (1983). Lipid composition of coastal sediments from the Peru up welling region. En: Bjorøy, M. John Wiley and Sons (ed.), *Advances in Organic Geochemistry 1981*. New York, 228–240.
 - Volkman, J.K., (1986). A review of sterol markers for marine and terrigenous organic matter. *Organic Geochemistry* 9, 83–99.
 - Volkman, J.K. y Maxwell, J.R., (1986). Acyclic isoprenoids as biological markers. En: Johns, R.B. (ed.), *Biological Markers in the Sedimentary Record*. Elsevier Science, Amsterdam, 1–42.
 - Volkman, J.K., Burton, H.R., Everitt, D.A. y Allen, D.I. (1988). Pigment and lipid compositions of algal and bacterial communities in Ace Lake, Vestfold Hills, Antarctica. *Hydrobiologia* 165, 41–57.
 - Volkman, J.K., Jeffrey, S.W., Rogers, G.I., Nichols, P.D. y Garland, C.D., (1989). Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 128, 219–240.
 - Volkman, J.K., Barrett, S.M., Blackburn, S.I., Manssur, M.P., Sises, E.L. y Gelin, F. (1998). Microalgal biomarkers: a review of recent research developments. *Organic Geochemistry* 29, 1163–1179.
 - Voß, M. y Struck, U., (1997). Stable nitrogen and carbon isotopes as indicator of eutrophication of the Oder River (Baltic Sea). *Marine Chemistry* 59, 35–49.
 - Walkley, A. y Black, I.A., (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37, 29–38.
 - Walkley, A., (1947). A critical examination of a rapid method for determining organic carbon in soils-effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents. *Soil Science* 63, 251–264.
 - Wakeham, S.G., Schaffner, C. y Giger, W., (1980). Polycyclic aromatic hydrocarbons in recent lake sediments II. Compounds derived from biogenic precursors during early diagenesis. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 44, 415–

429.

- Wakeham, S.G., (1990). Algal and bacterial hydrocarbons in particulate matter and interfacial sediment of the Cariaco Trench. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 54, 1325–1336.
- Wakeham, S.G., Beier, J.A. y Clifford, C.H., (1991). Organic matter sources in the Black Sea as inferred from hydrocarbon distributions. En: Izdar, E. y Murray, J.W. (ed.), *Black Sea Oceanography*. Kluwer Academic Publishing, Dordrecht, 319–341.
- Waksman, S.A., (1932). *Humus*. Williams and Wilkins, Baltimore.
- Wedepohl, K.H., (1971). Environmental influences on the chemical composition of shales and clays. En: Ahrens, L.H., Press, F., Runcorn, S.K. y Urey, H.C., (ed.), *Physics and Chemistry of the Earth*. Pergamon, Oxford, 307–331.
- Wedepohl, K.H., (1991). The composition of the upper Earth's crust and the natural cycles of selected metals. *Metals in natural raw materials. Natural Resources*. En: Merian, E. (ed.), *Metals and their compounds in the Environment*. VCH, Weinheim, 3–17.
- Weete, J.D., (1976). Algal and fungal waxes. En: Kolattukudy, P.E. (ed.), *Chemistry and Biochemistry of natural waxes*. Elsevier Science, Amsterdam, 349–418.
- Wehausen, R. y Brumsack, H.J., (1999). Cyclic variations in the chemical composition of Eastern Mediterranean sediments: A key for understanding sapropel formation. *Marine Geology* 153, 161–176.
- Wehausen, R. y Brumsack, H.J., (2002). Astronomical forcing of the East Asian monsoon mirrored by the composition of Pliocene South China Sea sediments. *Earth Planetary Science Letters* 201, 621–636.
- Weltje, G.J. y Eynatten, H.V., (2004). Quantitative provenance analysis of sediments: review and outlook. *Sedimentary Geology* 171, 1–11.
- Wershaw, R.L., (1986). A new model for humic materials and their interactions with hydrophobic organic chemicals in the soil-water or sediment-water systems. *Journal of Contaminant Hydrology* 1, 29–45.
- White, C. y Gadd, G.M., (2000). Copper accumulation by sulfate-reducing bacterial biofilms. *FEMS Microbiology Letters* 183, 313–318.
- Wils, E.R.J., Hulst, A.G. y Den Hartog, J.C., (1982). The occurrence of plants wax constituents in airborne particulate matter in an urbanized area. *Chemosphere* 11

- 1087–1096.
- Wilson, M.A., Philip. R.P., Gillam, A.H., Gilbert, T.D. y Take, K.R., (1983). Comparison of the structures of humic substances from aquatic and terrestrial sources by pyrolysis gas chromatography-mass spectrometry. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 47, 497–502.
 - Wilson, M.A., (1987). *NMR Techniques and Applications in Geochemistry and Soil Chemistry*. Pergamon Press. New York.
 - Wolbach, W.S. y Anders, E., (1989). Elemental Carbon in Sediments: determination and isotopic analysis in the presence of kerogen. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 53, 1637–1647.
 - Ying, G.G. y Fan, P., (1993). Origin of ketones in sediments of Qinghai Lake. *Science in China Series B-Chemistry* 36, 237–241.
 - Yunker, M.B., Macdonald, R.W., Cretney, W.J., Fowler, B.R. y McLaughlin, F.A., (1993). Alkane, terpene and polycyclic aromatic hydrocarbon geochemistry of the Mackenzie River and Mackenzie shelf: riverine contributions to Beaufort Sea coastal sediment. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 57, 3041–3061.
 - Zang, X. y Hatcher, P.G. (2002). A Py-GC-MS and NMR spectroscopy study of organic nitrogen in Mangrove Lake sediments. *Organic Geochemistry* 33, 201–211.
 - Zheng, M., Wan, T.S.M., Fang, M. y Wang, F., (1997). Characterization of the non-volatile organic compounds in the aerosols of Hong Kong-identification, abundance and origin. *Atmospheric Environment* 31, 227–237.
 - Ziegler, F., Kögel, I. y Zech, W., (1986). Alteration of gymnosperm and angiosperm lignin during decomposition in forest humus layers. *Z. Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* 149, 323–331.

ANEXO

ANEXO

Vegetación halófila de marismas:

Salicornia europaea
Anthrosmum fruticosum
Anthrosmum glaucum
Plantago sp.L
imoniastrum monopetalum
Suaeda sp.
Cotulo coronopifolia
Cyperus sp.
Seirpus maritimus
Scirpus maritimus
Scirpus lacustris
Thyphalatifolia sp.
Phragmites sp.
Sora vermiculata

Vegetación de pastizal:

Gramíneas:

Agropyrum junceiforme
Agropyrum pungens
Agropyrum elongatum
Briza minor
Dactylis glomerata
Poa bulbosa
Gandinia fragilis
Ammophila arenaica
Phleum arenarium

Leguminosas:

Lupinus angustifolius
Lupinus lusitanicus
Lathyrus japonica
Ononis reclinata
Medicago marina

Trifolium arvense

Lotus creticus

Otras anuales:

Atriplex hastate

Astragalus lusitanicus

Astragalus maxiliensis

Salicornia europaea

Salsola soda

Aizoon hispanicum

Vegetación espontánea de matorral:

Cistus sp. (jara)

Thymus sp. (tomillo)

Pistacea lentiscus (lentisco)

Lavandula pedunculata (cantueso)

Retama sphaerocarpa (retama)

Rosmarinus officinalis (romero)

Genista sp. (aulaga)