

**ANALISIS DE BIOMARCADORES Y GEOPOLIMEROS EN
DIFERENTES ESTRATOS DE PIZARRAS BITUMINOSAS DE
LA CUENCA DE PUERTOLLANO**

por

Joaquín García Mollá

Memoria presentada para optar al Grado
de Doctor en Ciencias Químicas

Fdo. *Joaquín García Mollá*
Licenciado en Ciencias Químicas

Visado en Sevilla, Octubre de 1994

El Catedrático ponente,

Fdo. *A. Giraúm Pérez*
Catedrático de Química Analítica
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad de Sevilla

Directores,

Fdo. *F.J. González Vila*
Investigador Científico
del C.S.I.C

Fdo. *J.C. del Río Andrade*
Investigador Científico
del C.S.I.C.

PROFESOR DOCTOR *D. DIEGO DE LA ROSA ACOSTA*,
DIRECTOR DEL INSTITUTO DE RECURSOS NATURALES Y
AGROBIOLOGIA DE SEVILLA, DEL CONSEJO SUPERIOR DE
INVESTIGACIONES CIENTIFICAS

C E R T I F I C A : Que la presente Memoria de Investigación
titulada "ANALISIS DE BIOMARCADORES Y GEOPOLIMEROS
EN DIFERENTES ESTRATOS DE PIZARRAS BITUMINOSAS
DE LA CUENCA DE PUERTOLLANO", presentada por *D.
Joaquín García Mollá* para optar al Grado de Doctor en Ciencias
Químicas, ha sido realizada en el Departamento de Biogeoquímica y
Dinámica de Contaminantes, bajo la dirección de los Dres. *F.J.
González Vila* y *J. C. del Río Andrade*, reuniendo todas la condiciones
exigidas a los trabajos de Tesis Doctorales.

en Sevilla, a 7 de Octubre de 1994

Deseo expresar mi agradecimiento a las siguientes personas:

Al Prof. Dr. *D. Alfonso Guiraúm Pérez*, Catedrático de Química Analítica de la Universidad de Sevilla, por actuar gentilmente como Ponente de esta Tesis.

A los Drs. *D. Francisco Javier González Vila* y *D. José Carlos del Río Andrade*, bajo cuya dirección se ha efectuado este trabajo y sin cuyas continuas orientaciones y enseñanzas no hubiera sido posible. A ambos les agradezco tanto su inestimable ayuda en la elaboración y discusión de los resultados como su apoyo constante, tanto a nivel profesional como personal.

Asimismo, deseo hacer extensivo mi agradecimiento al Prof. Dr. *D. Francisco Martín Martínez*, quien ha seguido el desarrollo del trabajo desde el principio, aportando numerosas ideas y sugerencias.

Al Consejo Superior de Investigaciones Científicas por permitir su realización en el Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología, y especialmente al actual director de este centro *D. Diego de la Rosa Acosta*.

A *D. José Luis Lozano*, Técnico de ENCASUR (Puertollano) por su ayuda en la toma de muestras.

Al Dr. *D. J. L. Llamas Borrajo* de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Minas de Madrid por la realización de los análisis de Rock-Eval.

Al Prof. Dr. *R.P. Philp* de la Universidad de Oklahoma por las facilidades dadas para la realización de los análisis por GC-MS/MS.

Al Prof. Dr. *H.-D. Lüdemann* de la Universidad de Regensburg (Alemania) por la ayuda prestada en la realización de los espectros de CP\MAS NMR de ^{13}C .

A mi mujer, por haberme suavizado con su sonrisa y buen humor el tiempo de escritura y por su constancia pegando figuras, letras, números.

A todos los compañeros del Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla, que de una manera u otra contribuyeron a la realización de este trabajo, y en especial a *Dña. Trinidad Verdejo Robles* por su valiosa ayuda técnica durante el desarrollo del mismo.

A mi mujer y a mi hijo

RESUMEN

En el presente trabajo se ha abordado la caracterización geoquímico-orgánica de cuatro muestras de pizarras bituminosas de la cuenca de Puertollano (Ciudad Real). Una de ellas fue tomada en la mina Calvo Sotelo (PB) y las otras tres en la mina de carbón Emma (EMMA 1, EMMA 2 y EMMA 3).

La caracterización global de las muestras se llevó a cabo por análisis elemental y pirólisis Rock-Eval. Según estos análisis las pizarras contienen kerógeno del tipo I excepto la EMMA 3 que se clasifica entre los kerógenos de tipo II. Los diagramas de Van Krevelen (H/C vs. O/C) y de índice de Hidrógeno vs. T_{max} sitúan a todas ellas próximas a la ventana de generación de petróleo.

Para una caracterización estructural a nivel molecular de estas pizarras, la materia orgánica se separó en distintas fracciones atendiendo a criterios de solubilidad. Se puso especial énfasis en el análisis de BIOMARCADORES y en la caracterización estructural de los ASFALTENOS y KEROGENOS.

El estudio por Cromatografía de Gases (CG), Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas (GC/MS) y Cromatografía de Gases acoplada a un sistema tándem de Espectrometría de Masas (GC-MS/MS) de la fracción bituminosa, permitió identificar diversas clases de biomarcadores. De su naturaleza y distribución ha sido posible inferir las distintas contribuciones de material orgánico al sedimento, así como el nivel evolutivo o madurez de las muestras.

Los principales tipos de biomarcadores detectados han sido hidrocarburos cíclicos terpénicos entre los que se incluyen sesquiterpenos del tipo drimano, eudesmano y cadinano, diterpenos del tipo abietano y pimarano y triterpenos de los tipos oleanano, ursano y hopano.

La caracterización de las fracciones de kerógeno y asfalteno se llevó a cabo mediante espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear de ^{13}C en estado sólido (CP\MAS-NMR de ^{13}C), técnicas degradativas térmicas basadas en la pirólisis flash y técnicas degradativas químicas tales como la oxidación con permanganato en medio alcalino y la oxidación con tetróxido de Rutenio.

Los resultados obtenidos mostraron un alto grado de alifaticidad en las estructuras de ambos geopolímeros. Se sugiere que este carácter alifático podría deberse a la contribución a la materia orgánica de estos materiales de biopolímeros insolubles, no hidrolizables y altamente alifáticos que están presentes en diversas algas y plantas superiores. También se identificaron diversos productos aromáticos provenientes de ligninas y taninos de plantas superiores indicativos de que la lignina, también resistente a la diagénesis, pudo incorporarse a la estructura del kerógeno.

Palabras claves: pizarras bituminosas, materia orgánica, biomarcadores, asfaltenos, kerógenos, pirólisis, RMN de ^{13}C , degradaciones químicas.

ABSTRACT

ANALYSIS OF BIOMARKERS AND GEOPOLIMERS IN DIFFERENT OIL SHALE STRATA FROM THE PUERTOLLANO BASIN

The aim of this work is the organic-geochemical characterization of different oil shale samples from the Puertollano (Ciudad Real) deposit. One of the samples (corresponding to the seam B; PB) was taken at the Calvo Sotelo mine, whereas three others were taken at the EMMA mine (EMMA 1, 2, 3).

Elemental analysis and Rock-Eval pyrolysis showed that the samples corresponded with kerogens type I, except EMMA 3 that corresponded to the type II. All the samples were near the oil window.

For the structural characterization at a molecular level, the sedimentary organic matter was fractionated according to solubility patterns. Special attention was paid to the identification of biomarkers and the chemical structural features of the geopolymers.

The analysis by Gas Chromatography (GC), Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) and Gas Chromatography-tandem Mass Spectrometry (GC-MS/MS) of the saturated and aromatic fractions isolated from the bitumens, allowed the identification of different series of biomarkers. According to their chemical nature and distribution, it was possible to assess the origin of the different inputs to the sedimentary organic matter, as

well as the maturity level of the samples. The main classes of biomarkers were the cyclic terpenoids, such as the sesquiterpanes drimane, eudesmane and cadinane, the diterpanes with abietane and pimarane skeleton and the triterpenoids with oleanane, ursane and hopane structures.

The structural characterization of the asphaltenes and kerogens has been approached by solid-state ^{13}C -NMR, pyrolytic techniques and chemical degradations with alkaline permanganate and Ruthenium tetroxide. The results showed a high aliphaticity for these samples, that might arise from the contribution of highly resistant, non saponifiable and highly aliphatic biopolymer present in algae and plant cuticles. Several aromatic components, derived from higher plant lignins and tannins were also identified in the structure of these geopolymers, suggesting that lignin, another highly resistant biopolymer, could also survive diagenesis and be incorporated into the kerogen.

Keywords: oil shales, organic matter, biomarkers, asphaltenes, kerogens, pyrolysis, solid-state ^{13}C -NMR, chemical degradations.

INDICE

	Página
I.- INTRODUCCION	1
I.1.- Geoquímica Orgánica. Conceptos básicos y ámbito de aplicación.	3
I.2.- Formación y evolución de la materia orgánica sedimentaria. Ciclos biogeoquímicos.	6
I.3.- Significación geoquímica de las diferentes fracciones de la materia orgánica sedimentaria.	10
I.3.1.- Biomarcadores.	11
I.3.1.1.- Indicadores del origen de la materia orgánica.	12
I.3.1.2.- Indicadores del medio ambiente de deposición.	20
I.3.1.3.- Indicadores del grado de madurez y biodegradación.	25
I.3.1.4.- Nuevas tendencias de la Geoquímica Orgánica de Biomarcadores.	33
(A) <i>Compuestos orgánicos azufrados.</i>	33
(B) <i>Biomarcadores de alto peso molecular.</i>	37
(C) <i>Evaluación de cambios paleoclimáticos.</i>	38
I.3.2.- Geopolímeros. Asfaltenos y kerógenos.	39
I.4.- Geoquímica Orgánica de pizarras bituminosas. Antecedentes y perspectivas de futuro.	53
I.5.- Metodología de fraccionamiento y análisis de la materia orgánica de pizarras bituminosas.	60
II.- JUSTIFICACION DEL ESTUDIO Y OBJETIVOS	69
III.- MATERIAL Y METODOS	75
III.1.- Descripción de la cuenca de Puertollano y de los puntos de muestreo.	77

III.2.- Preparación de las muestras para el análisis.	83
III.3.- Fraccionamiento de la materia orgánica.	83
III.3.1.- Separación de maltenos y asfaltenos.	84
III.3.2.- Separación cromatográfica de los maltenos.	84
III.3.3.- Enriquecimiento en hidrocarburos cíclicos y ramificados.	86
III.3.4.- Separación del kerógeno.	86
III.4.- Técnicas utilizadas en la caracterización de biomarcadores y geopolímeros.	87
III.4.1.- Técnicas cromatográficas.	87
III.4.1.1.- Cromatografía de Gases.	87
III.4.1.2.- Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas, (GC-MS).	88
III.4.1.3.- Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas-Espectrometría de Masas (GC-MS/MS).	90
III.4.2.- Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear de ¹³ C en estado sólido (CP\MAS-NMR de ¹³ C).	91
III.4.3.- Análisis degradativos térmicos.	91
III.4.3.1.- Pirólisis Rock-Eval.	91
III.4.3.2.- Pirólisis flash-Cromatografía de Gases (Py-GC) y Pirólisis flash-Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas (Py-GC-MS).	94
III.4.3.3.- Pirólisis flash-cromatografía de gases de alta temperatura.	95
III.4.3.4.- Pirólisis-metilación.	96
III.4.4.- Análisis degradativos químicos.	96
III.4.4.1.- Oxidación con permanganato en medio alcalino.	96
III.4.4.2.- Oxidación con tetróxido de Rutenio.	97
IV.- RESULTADOS Y DISCUSION	99
IV.1.- Caracterización global de las muestras.	101

IV.1.1.- Pirólisis Rock-Eval.	103
IV.2.- Estudio de la fracción bituminosa.	108
IV.2.1.- Hidrocarburos alicíclicos.	108
IV.2.2.- Alquilciclohexanos.	114
IV.2.3.- Hidrocarburos sesquiterpenoides.	115
IV.2.4.- Hidrocarburos diterpenoides.	131
IV.2.5.- Hidrocarburos triterpenoides.	137
IV.2.5.1.- Triterpenos tricíclicos.	137
IV.2.5.2.- Triterpenos tetra- y pentacíclicos con esqueleto oleanano y ursano.	143
IV.2.5.3.- Triterpenos con esqueleto de tipo hopano.	153
IV.2.5.4.- Triterpenos esteroidales.	173
IV.3.- Estudio de asfaltenos y kerógenos.	182
IV.3.1.- Análisis Elemental.	184
IV.3.2.- Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear de ¹³ C en estado sólido (CP\MAS-NMR de ¹³ C).	187
IV.3.3.- Técnicas degradativas térmicas.	192
IV.3.3.1.- Pirólisis-flash-Cromatografía de Gases.	192
IV.3.3.2.- Pirólisis-flash-Cromatografía de gases de alta temperatura.	198
IV.3.3.3.- Pirólisis-metilación.	203
IV.3.4.- Técnicas degradativas químicas.	218
IV.3.4.1.- Oxidación con permanganato en medio alcalino.	219
IV.3.4.2.- Oxidación con tetróxido de Rutenio.	222
V.- CONCLUSIONES	229
VI.- BIBLIOGRAFIA	237

I.- INTRODUCCION

I.- INTRODUCCION

I.1.- GEOQUIMICA ORGANICA. CONCEPTOS BASICOS Y AMBITO DE APLICACION.

El estudio del origen y evolución de los compuestos orgánicos en la Naturaleza continúa siendo un arduo reto científico, a pesar de los importantes progresos de las últimas décadas. Estos progresos se han debido en gran medida a los enormes avances experimentados por las técnicas instrumentales de análisis y al paralelo desarrollo de una base conceptual que considera a los compuestos orgánicos presentes en la Geosfera como expresión y medida de los fenómenos y procesos que ocurren en el medio natural. De esta forma nace la GEOQUIMICA ORGANICA como disciplina científica independiente

que se ocupa de estudiar la distribución, origen y evolución de compuestos bioquímicos en la Geosfera, incluyendo medios contemporáneos, sedimentos recientes y antiguos, y depósitos de materia orgánica sedimentaria en general.

Las sustancias orgánicas presentes en el medio geológico reflejan el tipo de materia orgánica y las condiciones medioambientales de formación que existieron en el origen del sedimento carbonoso, así como la evolución térmica experimentada por el mismo como consecuencia del enterramiento, incluyendo la actividad microbiana.

Un número restringido de estas sustancias orgánicas, los llamados FOSILES MOLECULARES, MARCADORES BIOLOGICOS o, abreviadamente, BIOMARCADORES, son moléculas directamente heredadas de los organismos vivos que han sido preservadas en los sedimentos sin apenas cambios estructurales. El término BIOMARCADOR surge, por tanto, de la relación producto-precursor que existe entre algunas estructuras químicas presentes en el medio sedimentario y las moléculas de los organismos de los cuales procede. La presencia y origen de estos compuestos orgánicos es altamente dependiente del medio ambiente de deposición y de la historia térmica del sedimento, por lo que su estudio permite reconstruir paleoambientes de deposición y procesos diagenéticos (Seifert y Moldowan, 1978,1981; Moldowan *et al.*, 1985; Philp, 1985a,b; Johns, 1986; Philp y Lewis, 1987; Moldowan

et al., 1992).

Por otra parte, los estudios geoquímico-orgánicos también permiten extraer, cada vez en mayor medida, una información complementaria a la de los biomarcadores, a través del análisis de la materia orgánica polimérica presente en la Geosfera, que constituye la mayor parte de la materia orgánica sedimentaria. Dicho análisis ha sido posible merced al desarrollo de nuevas técnicas analíticas, entre las que destacan la Resonancia Magnética Nuclear (NMR) de ^{13}C en estado sólido, las degradaciones químicas con agentes selectivos o la Pirólisis-flash acoplada a Cromatografía de Gases y Espectrometría de Masas (Larter, 1984; Behar y Pelet, 1985; Wilson, 1987; Philp *et al.*, 1988a; Barakat y Yen, 1990; Eglinton *et al.*, 1990b; Standen *et al.*, 1991; Patience *et al.*, 1992; Trifilief *et al.*, 1992; Miknis *et al.*, 1993; Hartgers *et al.*, 1992,1994).

El estudio de la naturaleza química de estos geopolímeros (ASFALTENOS, SUSTANCIAS HUMICAS Y KEROGENOS), es también de gran importancia para el conocimiento del origen de la materia orgánica, de las condiciones paleoambientales de formación del sedimento y de los procesos de maduración que han experimentado los materiales precursores. De hecho, la materia orgánica presente en estos materiales representa, quizás, una de las formas más fidedignas de la materia orgánica original en los sedimentos, por ser la más fuertemente ligada a la matriz mineral y,

por tanto, su conocimiento químico puede dar información útil de la materia originaria responsable de la formación del sedimento, así como de su diagénesis.

Los estudios geoquímico-orgánicos básicos, como son los que se ocupan de la diagénesis de la materia orgánica y de establecer los orígenes de compuestos específicos aislados del sedimento, tienen como principal objetivo el análisis y reconstrucción de ambientes sedimentarios antiguos y actuales y, en definitiva, el establecimiento de modelos deposicionales. Sin embargo, existe cada vez un mayor interés por la utilización de la Geoquímica Orgánica como soporte de la prospección de recursos geológicos (de hidrocarburos principalmente), hasta tal punto que hoy día forma parte de la estrategia moderna seguida en la exploración de depósitos de combustibles fósiles.

I.2.- FORMACION Y EVOLUCION DE LA MATERIA ORGANICA SEDIMENTARIA. CICLOS BIOGEOQUIMICOS.

La acumulación y preservación de la materia orgánica sedimentaria está controlada por diversos procesos de naturaleza biológica y geológica. En la mayoría de los casos, estos procesos estuvieron restringidos a ambientes acuáticos, con un aporte de material orgánico proveniente de organismos vivos. Diversas condiciones generales, como la presencia de aguas tranquilas o el

desarrollo de condiciones anóxicas, se considera que favorecieron la formación y conservación del sedimento (Yen y Chilingarian, 1976; Speight, 1990).

El conjunto de alteraciones que experimenta la materia orgánica deposicional en tiempos geológicos se denomina **DIAGENESIS**. El término diagénesis se aplica tanto a la metabolización microbiana, producida en las primeras etapas de la sedimentación, como a las transformaciones fisico-químicas que tienden a la desfuncionalización y reestructuración de los compuestos orgánicos al progresar el enterramiento. En el transcurso de esta primera fase de alteraciones aumenta la presión y el sedimento se compacta y consolida, produciéndose una progresiva disminución en el contenido de agua y un aumento de la temperatura.

En la etapa posterior, denominada **CATAGENESIS**, la actividad biológica cesa prácticamente y la alteración de la materia orgánica es mucho mayor debido al aumento de las reacciones inducidas térmicamente como resultado del aumento de las temperaturas. La frontera entre diagénesis y catagénesis no está claramente definida y corresponde aproximadamente al comienzo de la formación del petróleo.

La última fase de alteraciones, posterior a la formación de gas y petróleo, recibe el nombre de **METAGENESIS**, y se encuentra asociada a extremas condiciones térmicas que permiten alcanzar un

alto grado de metamorfismo.

La incorporación de compuestos orgánicos biogénicos al medio geológico tiene importantes implicaciones en los CICLOS BIOGEOQUIMICOS del C y en menor medida en los del N y S.

El ciclo biogeoquímico del C suele considerarse como la unión de dos subciclos, el llamado SUBCICLO BIOQUIMICO, utilización del CO₂ atmosférico por organismos autótrofos para la formación de biomasa merced a su aprovechamiento de la energía solar a través de la fotosíntesis, y el denominado SUBCICLO GEOQUIMICO, incorporación de compuestos orgánicos al medio sedimentario y su preservación durante períodos geológicos.

Un resumen del ciclo biogeoquímico del C se muestra en la Figura I.1, en la que se indican los diferentes compartimentos en los que se encuentra el C, en qué forma y los flujos entre los diferentes depósitos. Las medidas de las reservas y los flujos son aproximadas (Killops y Killops, 1993), pero es de destacar que el C implicado en el ciclo geoquímico (6.4×10^{15} toneladas) tiene mayor importancia cuantitativa que el C presente en el ciclo bioquímico (3×10^{12} toneladas).

En forma resumida, el ciclo global transcurre según las siguientes pautas: los diversos componentes de los organismos, tales como hidratos de carbono, proteínas, lípidos, ligninas, hidrocarburos, etc., experimentan diferentes grados de descomposición durante el proceso de sedimentación, una parte de

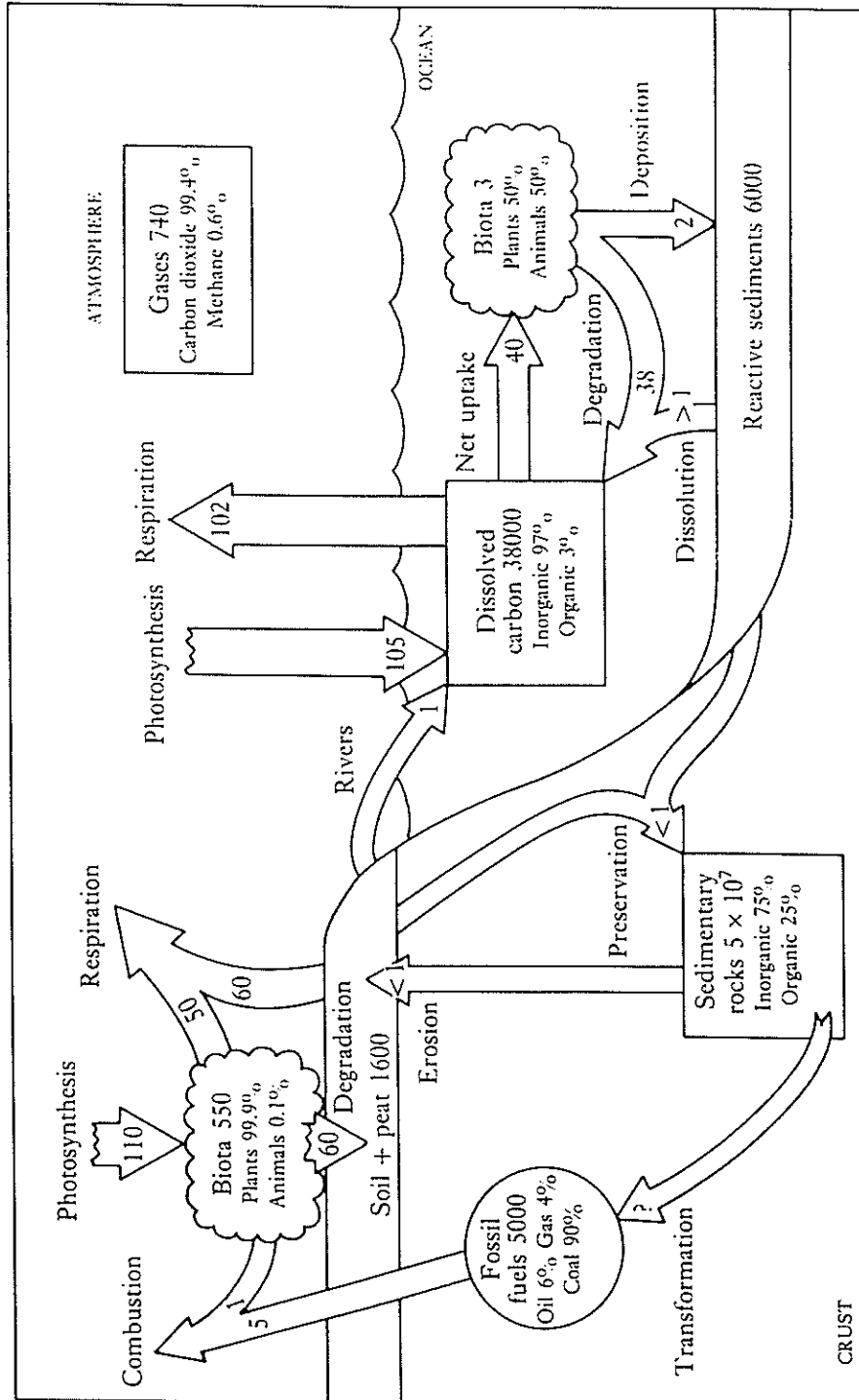


Figura I.1.- Esquema del ciclo global del Carbono, mostrando los tamaños de los principales compartimentos y los flujos anuales (Flechas) en unidades Gt (10^9 t.) de carbono (Killops y Killops, 1993).

estos productos son reciclados por microorganismos, que los usan como fuente de energía, dando lugar a moléculas simples, tales como CO_2 , H_2O , CH_4 , NH_3 , SH_2 , etc, que se forman como consecuencia de los procesos metabólicos; otra parte de la materia orgánica es utilizada por los propios microorganismos para sintetizar los constituyentes de sus células, que a su vez pueden incorporarse a la materia orgánica sedimentaria. Una parte de los componentes de los organismos experimenta una serie de reacciones consecutivas y aleatorias de repolimerización y policondensación, mientras otra parte de la materia orgánica escapa a los procesos de alteración y es incorporado al sedimento.

I.3.- SIGNIFICACION GEOQUIMICA DE LAS DIFERENTES FRACCIONES DE LA MATERIA ORGANICA SEDIMENTARIA.

La materia orgánica sedimentaria suele dividirse, atendiendo a criterios de solubilidad, en dos grandes fracciones: BITUMEN, materia orgánica soluble en disolventes orgánicos, y KEROGENO, residuo polimérico insoluble en disolventes orgánicos. De la fracción bituminosa, formada principalmente por hidrocarburos con peso molecular menor de 600 uma, se obtiene por precipitación con *n*-pentano la llamada fracción de ASFALTENOS, material de naturaleza polimérica similar al kerógeno pero de menor peso molecular. Analizaremos por separado el estado actual de

conocimientos sobre las implicaciones geoquímico-orgánicas de cada una de estas fracciones. En la primera de ellas, la fracción bituminosa, nos centraremos en el estudio de los BIOMARCADORES, mientras que las otras dos serán consideradas conjuntamente bajo el epígrafe de GEOPOLIMEROS.

I.3.1.- BIOMARCADORES.

La introducción del concepto de biomarcador se remonta a los años treinta, cuando el químico alemán Alfred Treibs aisló e identificó una serie de metaloporfirinas, correlacionables con tetrapirroles de clorofilas, en pizarras bituminosas y petróleos. Esta fue la primera evidencia de que el origen del petróleo era, en parte, biológico y de que en su formación no intervinieron necesariamente elevadas temperaturas (Treibs, 1934). Sin embargo, tuvieron que pasar más de treinta años hasta que Eglinton y Calvin, (1967) formularon y desarrollaron el concepto tal como hoy día se conoce.

La geoquímica de biomarcadores ha experimentado importantes reevaluaciones en la última década y tan sólo haremos una breve revisión de los datos existentes sobre el uso de la distribución de biomarcadores para inferir el origen de la materia orgánica sedimentaria, la naturaleza del medio ambiente deposicional, la madurez térmica y el grado de biodegradación del sedimento.

I.3.1.1.- Indicadores del origen de la materia orgánica.

Los biomarcadores identificados en sedimentos pueden ser específicos de un origen biológico único o múltiple, tales como algas (principalmente en sedimentos marinos o lacustres), plantas superiores (principalmente en sedimentos con gran aporte terrestre) o bacterias (ubíquos en todo tipo de sedimentos). La mayoría de los marcadores biológicos presentes en los sedimentos pueden adscribirse a uno de estos orígenes. Sin embargo, un determinado biomarcador puede ser específico de una especie, género o clase de organismos, o bien estar ampliamente distribuido en diferentes familias y tener un origen menos específico.

Los principales biomarcadores pertenecen químicamente al grupo de los hidrocarburos. En general, el esqueleto carbonoso preservado de estas moléculas pertenece a grandes tipos estructurales, tales como esteroides, terpenos cíclicos o no cíclicos, etc. Estas estructuras pueden proceder directamente de los organismos vivos (sin alteración química) o pueden experimentar algunos cambios durante la diagénesis que suelen asociarse a pérdida de grupos funcionales y/o estabilización de la molécula por hidrogenación, aromatización e isomerización.

En la Tabla I.1 se presentan algunos de los biomarcadores más representativos, específicos o no específicos, de los tres posibles orígenes mencionados.

Los hidrocarburos saturados lineales del tipo *n*-alcano

Tabla I.1.- Algunos ejemplos de biomarcadores.





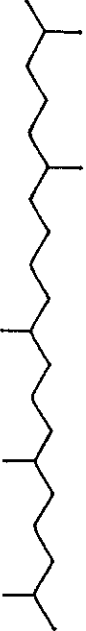

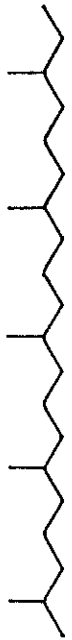
COMPUESTO	ESTRUCTURA	FUENTE
Heptadecano (n-C ₁₇)		ALGAS
Nonacosano (n-C ₂₉)		PLANTAS SUPERIORES
7-metilheptadecano		CIANOBACTERIAS
7-metilpentadecano		CIANOBACTERIAS
2,6,10,15,19-pentametilicosano		ARCAEBACTERIAS
Licopano		ARCAEBACTERIAS
2,6,10,14,18-pentametilicosano		HALOBACTERIAS

Tabla I.1.- (continuación).

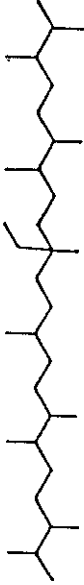
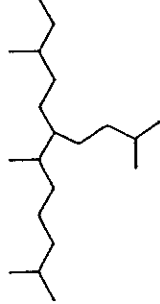
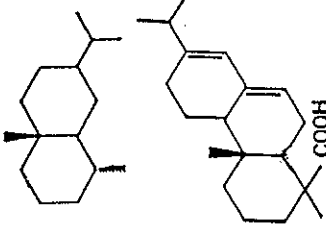
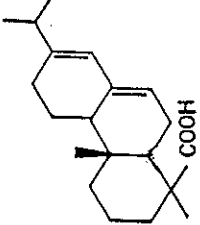

Botriococano		<u>Botryococcus braunii</u>
2,6,10-trimetil-7-(3-metilbutil)-dodecano		<u>Enteromorpha prolifera</u>
4β(H)-Eudesmano		PLANTAS SUPERIORES
Derivados del Acido Abiético		RESINAS DE CONIFERAS
Isopimarano Rimuano		RESINAS DE <u>Podocarpaceae</u>

Tabla I.1.- (continuación).

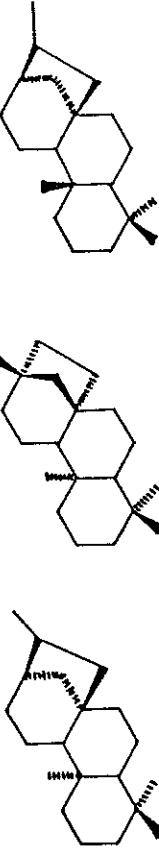
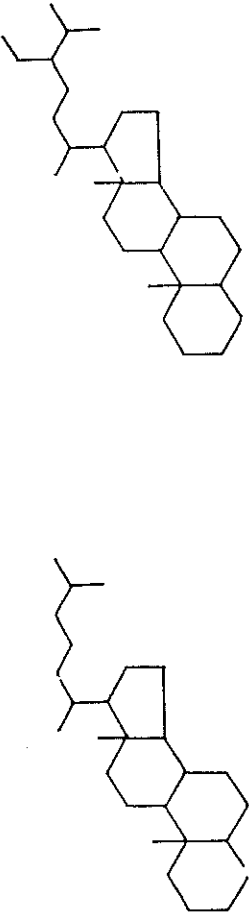
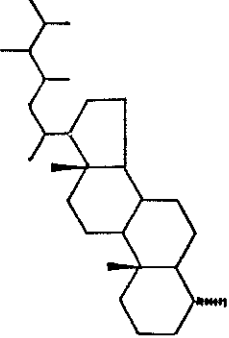
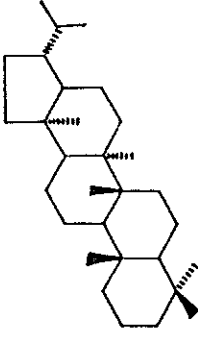
<p>Kaurano Beyerano Filocladano</p>		<p>RESINAS DE <u>Podocarpaceae</u> <u>Araucariaceae</u> <u>Cupressaceae</u></p>
<p>Esteranos C₂₇ y C₂₉</p>		<p>C₂₇ ALGAS C₂₉ PLANTAS SUPERIORES</p>
<p>Dinosterano</p>		<p>ALGAS DINOFALGELADAS</p>
<p>Hopano</p>		<p>BACTERIAS</p>

Tabla I.1.- (continuación).

BACTERIA <u>Beggiatoa</u>		28, 30-Bisnorhopano
HELECHOS		Fernano Adianano Filicano
ANGIOSPERMAS		Oleanano Ursano Lupano

presentes en la materia orgánica sedimentaria pueden provenir de la incorporación directa de alcanos presentes en organismos vivos o bien, de reacciones de descarboxilación de los ácidos grasos presentes en los organismos vivos. Es conocido que las plantas superiores presentan un predominio de *n*-alcanos impares de alto peso molecular (C_{27} , C_{29} , C_{31}) (Eglinton, 1968), mientras que el fitoplancton se caracteriza por un predominio de *n*-alcanos de menor peso molecular, principalmente del alcano C_{17} (Gelpí *et al.*, 1970).

Los **hidrocarburos ramificados** también pueden ser producidos directamente por organismos vivos. Así, alcanos con el sustituyente metilo en la posición C-7 ó C-8, se encuentran en las cianobacterias halotolerantes (Cardoso *et al.*, 1978; ten Haven *et al.*, 1985; Albaiges *et al.*, 1985).

Los principales componentes lipídicos específicos de bacterias son los isoprenoides acíclicos unidos por enlaces tipo éter a moléculas de glicerol, característicos de las membranas celulares de las arqueobacterias, como el C_{25} isoprenoide **2,6,10,15,19-pentameteicosano** y el **licopano** (C_{40}), que reflejan la contribución de arqueobacterias metanogénicas a la formación del sedimento (Brassell *et al.*, 1981). También el **2,6,10,14,18-pentameteicosano** es un biomarcador característico de bacterias halófilas (Brassell *et al.*, 1981). Otro hidrocarburo isoprenoide, el botriococeno, y su análogo saturado, el **botriococano**, son característicos de algas verdes y más concretamente de *Botryococcus*

braunii (Moldowan y Seifert, 1980). Otro alcano altamente ramificado, el **2,6,10-trimetil-7-(3 metilbutil)-dodecano**, también ha sido identificado exclusivamente en el alga verde *Enteromorpha prolifera* (Rowland *et al.*, 1985).

Por otra parte, un típico representante de alcanos bicíclicos, el **4 β (H)-eudesmano**, ha sido descrito como homólogo contemporáneo saturado del eudesmanol, que es un constituyente de plantas superiores y, por tanto, indicativo de este tipo de aportes al sedimento (Philp, 1985a,b).

Los diterpenos son un grupo de compuestos asociados a plantas superiores. En concreto, los **derivados del ácido abiético** son constituyentes principales de las resinas de coníferas (Barnes *et al.*, 1983). Diterpenos con esqueleto de **isopimarano** y **rimuano** son biomarcadores característicos de la clase *Podocarpaceae* (Noble *et al.*, 1985), mientras que los alcanos tetracíclicos saturados con esqueleto **kaurano**, **beyerano** y **filocladano** son también biomarcadores específicos de resinas de las coníferas de las clases *Podocarpaceae*, *Araucariaceae* y *Cupressaceae* (Noble *et al.*, 1985).

Los **esteroles** son un complejo grupo de compuestos bioquímicos ampliamente distribuidos en la naturaleza. Son relativamente estables en los ambientes sedimentarios y el tipo y distribución varía de un organismo a otro. En general, en las plantas terrestres superiores predominan los esteroles C₂₉, mientras que en el fitoplancton predominan los esteroles C₂₇ (Huang y Meinschein,

1979). 4-metil esteroides, como el dinosterol, son específicos de algas dinoflageladas (Robinson *et al.*, 1984), por lo tanto la identificación de sus homólogos saturados como el **dinosterano** es indicativa de su contribución al sedimento.

Por otra parte, la presencia en muestras geológicas de triterpenos pentacíclicos con el anillo E de ciclopentano, los denominados **hopanoides**, está relacionada principalmente con la actividad microbiana y también con la presencia de algas verde-azuladas (Ourisson *et al.*, 1979,1987; Rohmer *et al.*, 1984,1992). Los principales precursores de los hopanoides son los polihidroxi-hopanos, característicos de bacterias. Otro compuesto hopanoide, el **28,30-bisnorhopano**, proviene del 28,30-bisnorhop-17(18)-eno, un constituyente característico y específico de la bacteria *Beggiatoa* (Seifert *et al.*, 1978).

Triterpenoides pentacíclicos con diversos esqueletos son también característicos de la contribución de plantas terrestres superiores al sedimento. Se presentan generalmente como compuestos funcionalizados y no son específicos de clases individuales de organismos vivos. En angiospermas son característicos los triterpenos pentacíclicos con esqueleto de **oleanano**, **ursano** y **lupano**, la mayoría de ellos en forma de ceto e hidroxiderivados. Por otra parte, en helechos se encuentran triterpenos pentacíclicos con esqueleto de **fernano**, de **adianano** y de **filicano** (Global, 1981).

En resumen, cabe afirmar que la presencia de marcadores específicos puede proporcionar una indicación del origen biológico de la materia orgánica sedimentaria. Esta aproximación, sin embargo, no permite valorar directamente las proporciones relativas de la contribución de diferentes organismos biológicos, ya que los componentes individuales difieren indudablemente en su resistencia a la degradación microbiana en los sedimentos y, por tanto, sus abundancias comparativas están influenciadas por la extensión y naturaleza de estas alteraciones.

I.3.1.2.- Indicadores del medio ambiente de deposición.

La diagénesis o evolución de los compuestos bioquímicos presentes en la Geosfera depende, en gran parte, del medioambiente deposicional, por lo que una importante aplicación del estudio de biomarcadores es la reconstrucción del paleoambiente sedimentario de una cuenca.

Como hemos visto anteriormente, en muchos casos la presencia de un biomarcador característico puede atribuirse a organismos específicos que crecen o se desarrollan en unas condiciones medioambientales peculiares, por lo que se podría inferir el paleoambiente deposicional del sedimento. Así, por ejemplo, la presencia del hidrocarburo isoprenoide Botriococano, característico del alga de agua dulce *Botryococcus braunii*, sería indicativo de un ambiente de deposición lacustre.

Igualmente Huang y Meinschein (1979) propusieron diferenciar ambientes de deposición con la ayuda de un diagrama triangular semiempírico de esteroides (o esteranos), en el que se representa en cada vértice las abundancias relativas de los homólogos C_{27} , C_{28} y C_{29} (Figura I.2). Este diagrama permite diferenciar ambientes marinos, de estuario, lacustres y terrestres, basándose en el predominio de esteroides C_{27} en algas y esteroides C_{29} en plantas superiores.

Por otro lado, en ambientes hipersalinos la distribución de biomarcadores está caracterizada por la presencia de concentraciones relativamente grandes de fitano, β -carotenos, hopanos saturados C_{34} y C_{35} y gammacerano. Además el *n*-alcano C_{22} , es también, a veces, muy abundante (ten Haven *et al.*, 1985).

Los compuestos bioquímicos de cadena isoprénica, como la cadena de fitol de la clorofila, pueden experimentar diferentes rutas de degradación en función del medio ambiente deposicional, concretamente del carácter óxico o anóxico. Por tanto, el estudio de los productos de degradación del fitol se puede usar como un indicador del grado de oxicidad/anoxicidad de un medio deposicional. Como se observa en la Figura I.3, el fitol origina en medio oxidante ácido fiténico que, por descarboxilación, genera pristeno y finalmente pristano (Pr). En medio reductor el fitol se reduce a dehidrofitol que, por deshidratación y posterior reducción, se convierte en fitano (Fi) (Didyk *et al.*, 1978). La relación

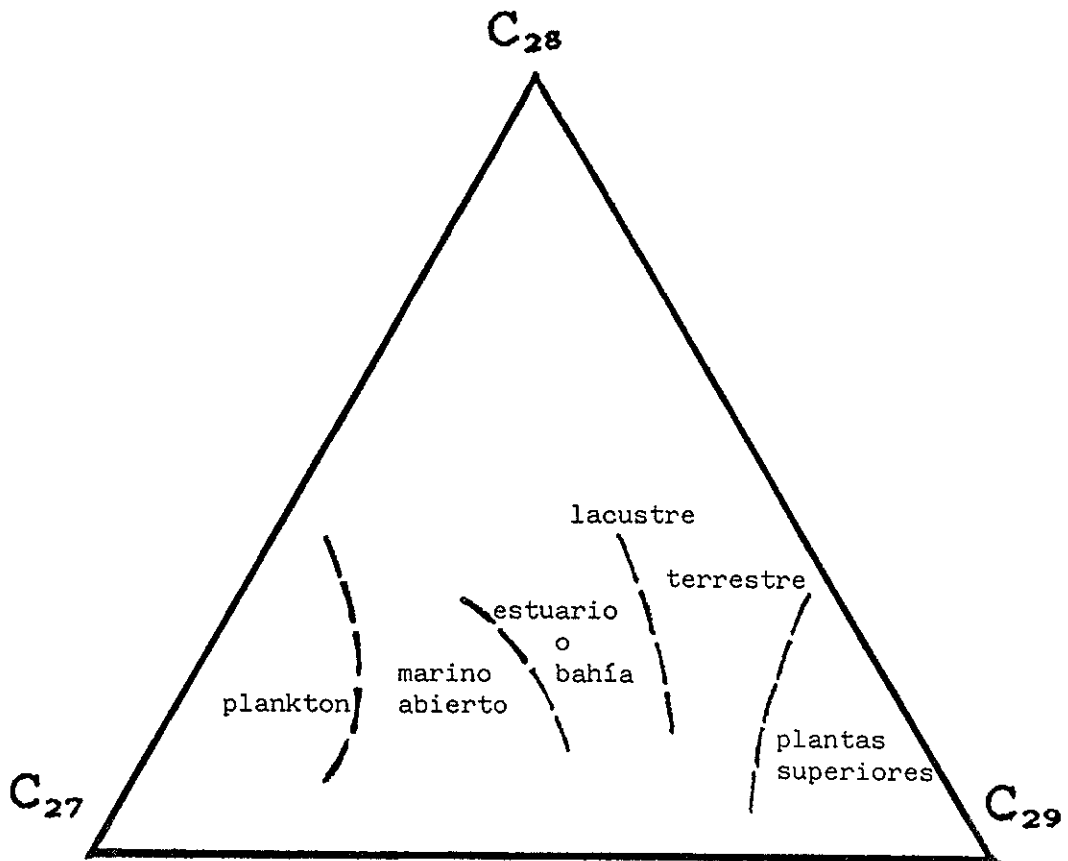


Figura I.2.- Diagrama triangular de Huang y Meinschein, (1979) en el que se infiere el origen y medio de deposición según la distribución relativa de esteroides.

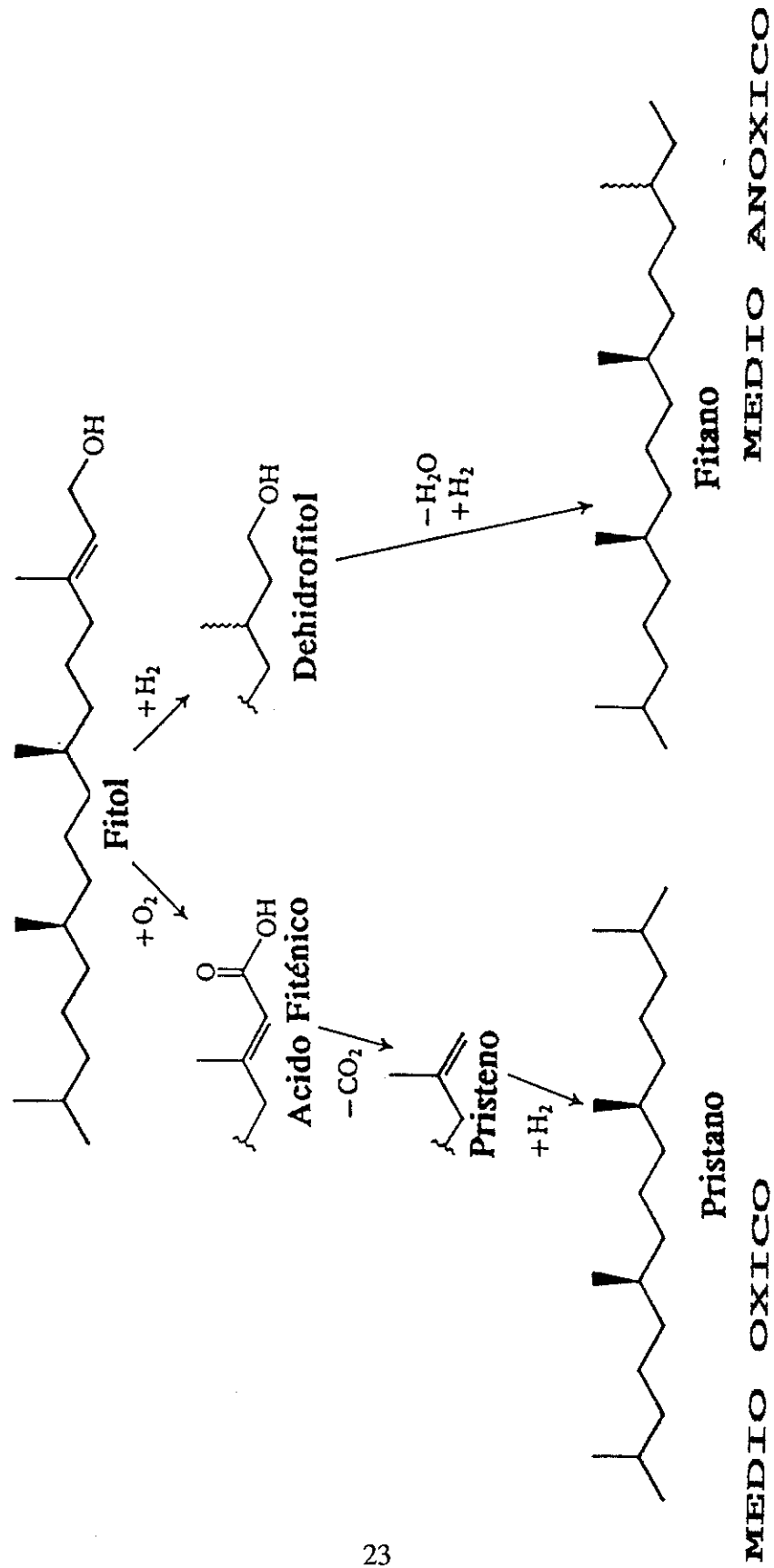


Figura I.3.- Ruta degradativa del fitol, según el carácter óxico/anóxico del medio deposicional.

pristano/fitano (Pr/Fi) proporciona, por tanto, una medida de la naturaleza óxica o anóxica de un medio ambiente sedimentario. Valores de la relación Pr/Fi < 1 indicarán un medioambiente reductor y valores > 1 indicarán que el sedimento se ha producido en condiciones oxidantes. Hay que advertir, no obstante, que el fitano y el pristano pueden provenir de otras fuentes distintas, tales como los fitanil éteres en lípidos de arcaebacterias para el fitano y la vitamina E (tocoferoles) para el pristano (Goossens *et al.*, 1984; ten Haven *et al.*, 1987). También hay que tener en cuenta que durante la catagénesis la relación tiende a aumentar por el aporte adicional de pristano que se genera a partir del kerógeno (Goossens *et al.* 1988a,b). A pesar de estas posibles restricciones, el uso de la relación Pr/Fi nos da una aproximación a las condiciones redox del ambiente deposicional.

Como se dijo anteriormente, los ácidos grasos presentes en los organismos vivos, principalmente de cadena par de átomos de carbono, sufren reacciones de descarboxilación y forman el correspondiente *n*-alcano de cadena impar de átomos de carbono. Sin embargo, se ha observado que los sedimentos asociados a medioambientes carbonatados muestran generalmente un sorprendente predominio de *n*-alcanos pares, lo que parece estar relacionado con la naturaleza altamente reductora de estos ambientes que sería responsable de que los ácidos grasos precursores se reduzcan para producir los correspondientes *n*-alcanos pares, en

lugar de sufrir reacciones de descarboxilación (Palacas *et al.*, 1984).

I.3.1.3.- Indicadores del grado de madurez y biodegradación.

La presencia de un biomarcador en sedimentos es, como hemos señalado, altamente dependiente del material original y del medioambiente de deposición. No menos importante es la evolución térmica que éste haya experimentado. Los compuestos orgánicos identificados en los sedimentos pueden ser tanto los productos biogénicos inalterados, como derivados de éstos que se forman como consecuencia de procesos diagenéticos y catagenéticos, y que retienen elementos estructurales que demuestran claramente su origen biológico. Por otra parte, la distribución de biomarcadores se puede usar también como indicador del nivel de biodegradación del sedimento y de la migración de hidrocarburos.

A continuación vamos a describir con detalle cómo afecta la diagénesis a algunos de los precursores bioquímicos y cómo se pueden correlacionar los resultados de estas alteraciones con cambios en la madurez y en el estado de biodegradación de un sedimento.

A) Compuestos alifáticos lineales.

Los compuestos alifáticos funcionalizados (ácidos grasos, alcoholes, etc) experimentan fundamentalmente reacciones de

desfuncionalización progresiva, con posteriores roturas y pérdidas de átomos de carbono de la molécula para formar, en última instancia, hidrocarburos alifáticos. Por esta razón, una de las clases de biomarcadores más ampliamente usados son los *n*-alcanos, que se encuentran en relativamente alta concentración en los sedimentos y son fácilmente detectados por cromatografía gaseosa.

La distribución de *n*-alcanos se ha usado también como indicador del grado de madurez de sedimentos. Así, los sedimentos poco maduros y recientes presentan normalmente una distribución de *n*-alcanos con un predominio impar acusado, mientras que al aumentar la madurez se produce una distribución de *n*-alcanos sin preferencia par/impar. Para cuantificar el predominio de los homólogos de número impar de átomos de carbono sobre los de número par se utiliza el denominado índice de preferencia de carbono (IPC), que es el cociente de la suma de homólogos impares respecto a los homólogos pares en el mismo rango. El IPC se usa comúnmente como parámetro de madurez del sedimento (Allan y Douglas, 1977). En sedimentos recientes el IPC es mayor que 1, mientras que se acerca a la unidad al aumentar la madurez del sedimento.

La biodegradación del material orgánico sedimentario puede también influir significativamente en la distribución de *n*-alcanos en un sedimento. Así, las primeras etapas de la degradación bacteriana de un sedimento se caracterizan por la eliminación preferencial de

los *n*-alcanos respecto de los hidrocarburos ramificados como los isoprénicos, por lo que las razones Pr/C₁₇ y Fi/C₁₈ se pueden usar como parámetros para medir la extensión de la biodegradación en un sedimento (Didyk *et al.*, 1978).

B) Triterpenos Hopanoides.

La presencia ubicua de triterpenos con esqueleto hopanoide en muestras geológicas está relacionada principalmente con la actividad microbiana (Ourisson *et al.*, 1979,1987; Rohmer *et al.*, 1984,1992). Los principales precursores de los hopanoides son los polihidroxihopanos, que en las primeras etapas de la diagénesis producen cetonas y ácidos carboxílicos. Como se observa en la Figura I.4, la reducción de los ácidos hopanoicos y los polioles produce los hopanos con la configuración biológica precursora 17β(H),21β(H). Además, en la posición C-22 del anillo E de los polioles precursores hay un centro quiral que es biosintetizado con la configuración R. Generalmente los hopanos se producen en el rango C₂₇-C₃₅, originados por la fragmentación de la cadena lateral (Schmitter *et al.*, 1982; Mackenzie, 1984; Brassell, 1985).

La configuración biológica 17β(H),21β(H) es la menos estable termodinámicamente y se convierte rápidamente durante la diagénesis y maduración en los isómeros 17β(H),21α(H) y 17α(H),21β(H), más estables termodinámicamente (van Dorsselaer *et al.*, 1977; Ensminger *et al.*, 1977). La otra posible

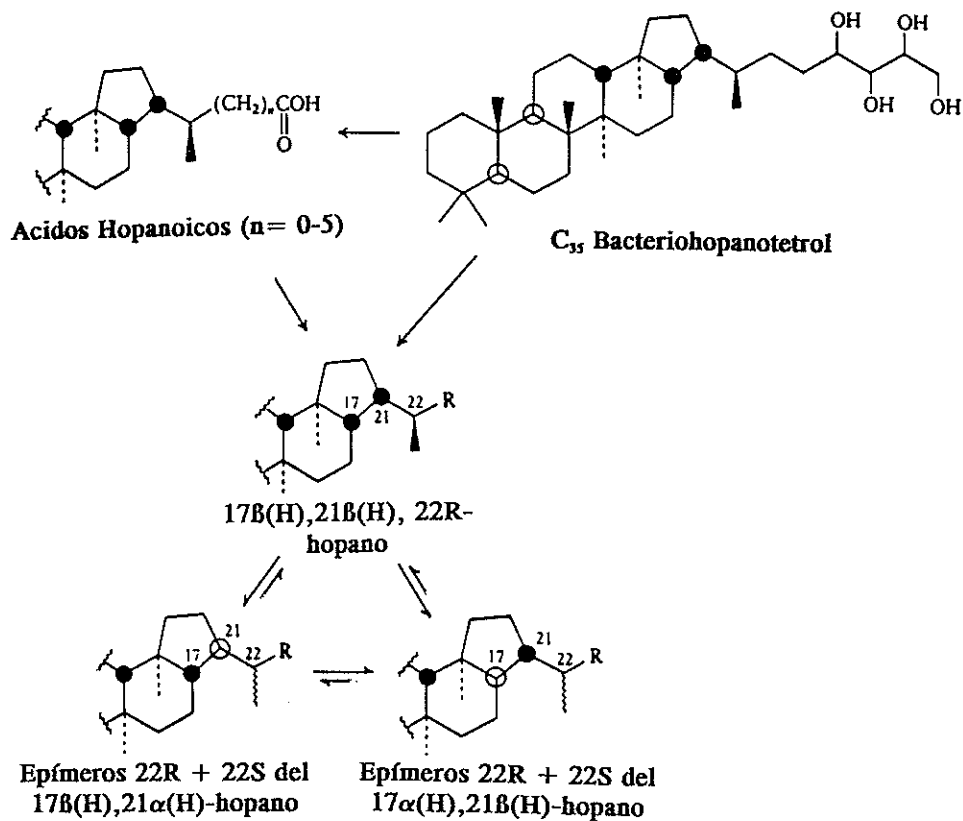


Figura I.4.- Ruta diagenética de formación de hopanos saturados a partir de bacteriohopanotetrol (Schmitter *et al.*, 1982; Mackenzie, 1984; Brassell, 1985)

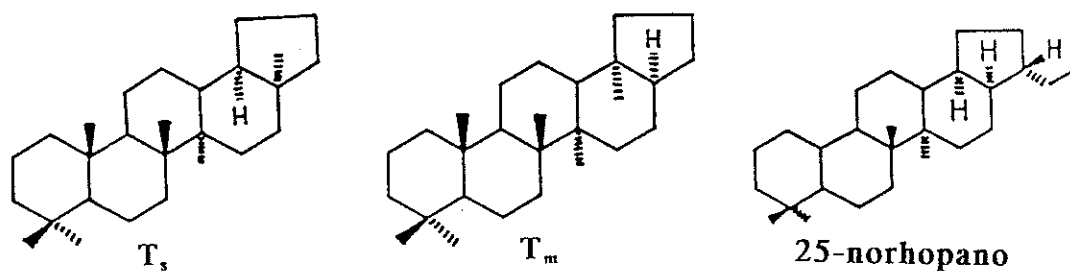


Figura I.5.- Estructuras de los hopanoides T_s (18 α (H)- C_{27} -hopano), T_m (17 α (H)- C_{27} -hopano) y de los 25-norhopanos.

configuración, $17\alpha(\text{H}),21\alpha(\text{H})$, no se forma en ningún momento. Con el aumento de la temperatura, la configuración $17\beta(\text{H}),21\alpha(\text{H})$ se convierte casi en su totalidad en la más estable $17\alpha(\text{H}),21\beta(\text{H})$ y al final se obtiene una mezcla en equilibrio dominada por esta última. La relación entre las concentraciones relativas de los hopanos de configuración $17\beta(\text{H}),21\alpha(\text{H})$ y $17\alpha(\text{H}),21\beta(\text{H})$ se puede usar, por tanto, como un indicador de la madurez del sedimento (Seifert *et al.*, 1978; Seifert y Moldowan, 1978,1981; Philp, 1985a,b). En los hopanos extendidos ($\text{C}_{31}\text{-C}_{35}$), la configuración biológica 22R queda preservada en las primeras etapas de la diagénesis. Posteriores isomerizaciones originan la configuración 22S, resultando finalmente una mezcla en equilibrio conteniendo un mayor predominio del isómero 22S (60:40) (Mackenzie *et al.*, 1980). Por tanto, la relación entre las concentraciones relativas de ambos isómeros 22R/22S, para un mismo hopano puede ser también usada como un indicador de madurez.

Hay otros parámetros derivados del análisis de la distribución de hopanos que se pueden usar como parámetros de madurez. Este es el caso de dos hopanos C_{27} de diferente configuración, los denominados T_m ($17\alpha(\text{H})\text{-C}_{27}\text{-hopano}$) y T_s ($18\alpha(\text{H})\text{-C}_{27}\text{-hopano}$) (Figura I.5). El primero se forma de igual manera que los demás hopanos y su concentración relativa se ve afectada por los cambios de madurez. El T_s tiene un origen distinto y no se ve afectado por los cambios en la madurez. La relación T_m/T_s puede usarse,

entonces, como otro indicador del grado de madurez del sedimento (Seifert y Moldowan, 1978).

La biodegradación es otro factor que también puede afectar significativamente a la distribución de hopanos, siendo el primer efecto observado la desmetilación en la posición C-25 y la formación de los correspondientes 25-norhopanos (Figura I.5). Estos compuestos se forman únicamente en condiciones extremas de biodegradación, por lo que su presencia relativa con respecto a los demás hopanos se usa como parámetro para evaluar la extensión de la biodegradación de un sedimento (Seifert y Moldowan, 1978; Philp, 1983; Volkman *et al.*, 1983).

C) Triterpenos Esteroidales.

La degradación de los esteroides después de la deposición y acumulación de la materia orgánica es extremadamente compleja. Muchas transformaciones diagenéticas han sido analizadas para identificar los mecanismos de degradación que experimentan los esteroides en los sedimentos (Mackenzie *et al.*, 1982; de Leeuw y Baas, 1986; Peakman y Maxwell, 1988). Como se observa en la Figura I.6, en las primeras etapas de la diagénesis se produce la hidrogenación (reducción) de los esteroides (Δ^5 3 β -estanoles) a estanoles bajo condiciones anaeróbicas y actividad microbiana (Wakeham, 1989). La reducción puede producirse por la hidrogenación directa del doble enlace produciendo

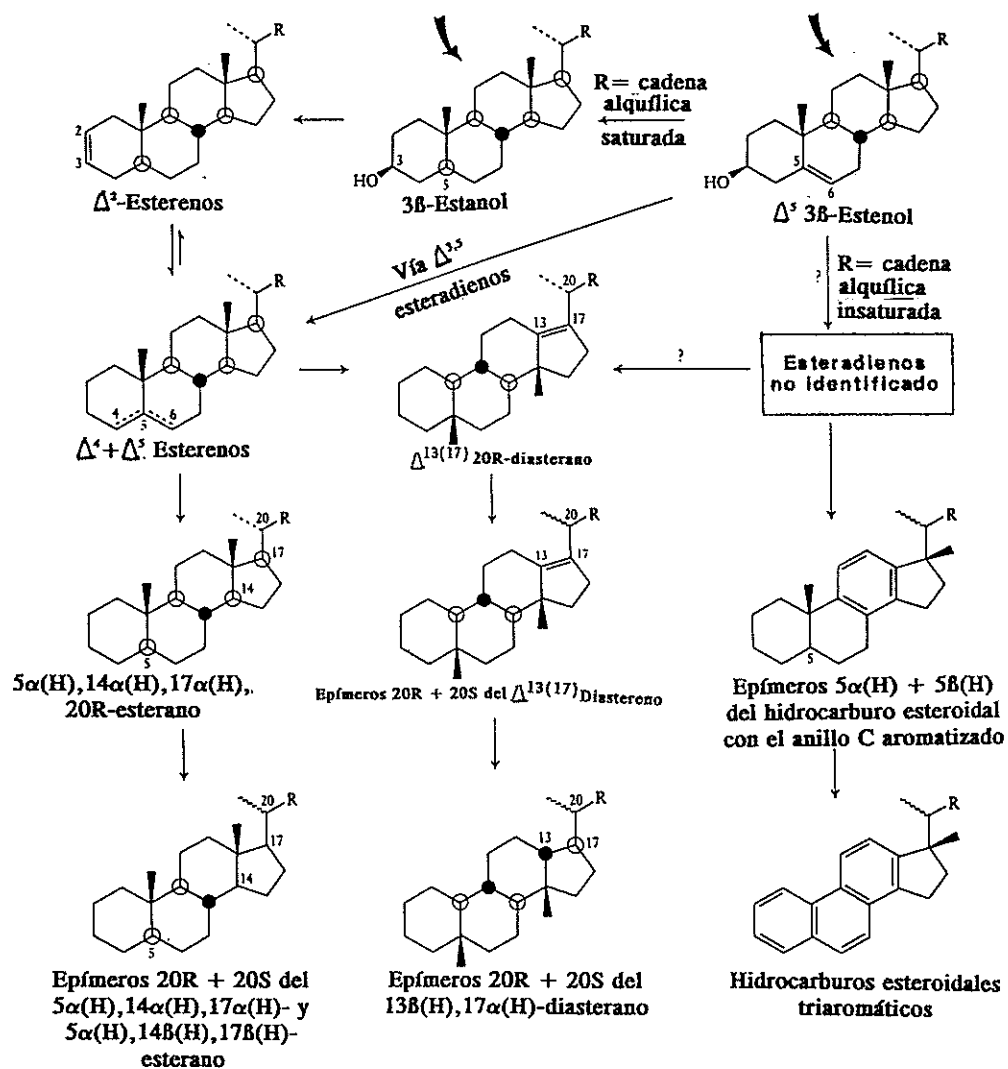


Figura I.6.- Ruta diagenética anóxica de esteroides (las flechas indican aportes biogénicos) (de Leeuw y Baas, 1986; Peakman y Maxwell, 1988). La última fila corresponde a transformaciones durante la catagénesis.

fundamentalmente $5\alpha(\text{H})$ -estanol y, en menor proporción, $5\beta(\text{H})$ -estanol. La siguiente transformación diagenética es la deshidratación de estanoles a esterenos, también bajo la actividad microbiana, convirtiendo la mayoría de los $5\alpha(\text{H})$ -estanoles en los Δ^2 esterenos (los $5\beta(\text{H})$ -estanoles probablemente son convertidos en los Δ^3 esterenos). Al aumentar la madurez tiene lugar la isomerización a los más estables Δ^4 y Δ^5 . Los principales productos que se formarán posteriormente son los esteranos, aunque pueden producirse otras reacciones divergentes que formarán productos significativamente diferentes (Brassell, 1985). La posterior reducción de los esterenos da lugar a la formación de esteranos con la configuración biológica $5\alpha(\text{H}),14\alpha(\text{H}),17\alpha(\text{H})$. Los esterenos pueden también experimentar reacciones de transposición aparentemente catalizadas por minerales arcillosos produciendo, en primera instancia, los diasterenos y, posteriormente, los correspondientes diasteranos (Dastillung y Albrecht, 1977; Ensminger *et al.*, 1978).

Una reacción alternativa a la reducción es la deshidratación de los esteroides biogénicos dando lugar a los hidrocarburos diinsaturados: los esteradienos. La emigración posterior del doble enlace, seguida de la aromatización, origina diversos hidrocarburos esteroideos monoaromáticos, principalmente los monoaromáticos en el anillo C (Mackenzie *et al.*, 1982).

Los esteranos producidos tienen la configuración biológica

$5\alpha(H), 14\alpha(H), 17\alpha(H), 20R$, que es la menos estable termodinámicamente. Durante la diagénesis y maduración los esteranos son convertidos en las configuraciones más estables $14\alpha(H), 17\alpha(H) 20S$ y $14\beta(H), 17\beta(H) 20R$ (Figura I.7) que aparecen en la mayoría de las muestras geológicas maduras. Por tanto las relaciones $\alpha\alpha 20S/\alpha\alpha 20R$ y $\beta\beta/\alpha\alpha$ para un mismo esteroano se utilizan como parámetros de madurez (Seifert y Moldowan, 1978,1981; Philp, 1985a,b).

Otro factor que afecta a la distribución de esteranos es la biodegradación. El principal cambio que se produce es la eliminación preferencial de los epímeros 20R sobre los 20S.

I.3.1.4.- Nuevas tendencias en la Geoquímica Orgánica de Biomarcadores.

(A) *Compuestos orgánicos azufrados.*

Un avance importante en la Geoquímica Orgánica de biomarcadores ha sido la identificación de nuevos biomarcadores azufrados, caracterizados por su parecido estructural con precursores bien conocidos (Payzant *et al.*, 1986; Sinninghe Damsté *et al.*, 1987,1989a,1990; Orr y Sinninghe Damsté, 1990; Kohnen *et al.*, 1990a). La identificación de estos nuevos compuestos orgánicos azufrados ha sido posible gracias al desarrollo de los sistemas analíticos y ha sido decisiva para mejorar nuestro conocimiento sobre la geoquímica del S y la interacción de los ciclos del C y del S en la Geosfera. En la Figura I.8 se muestra un posible mecanismo

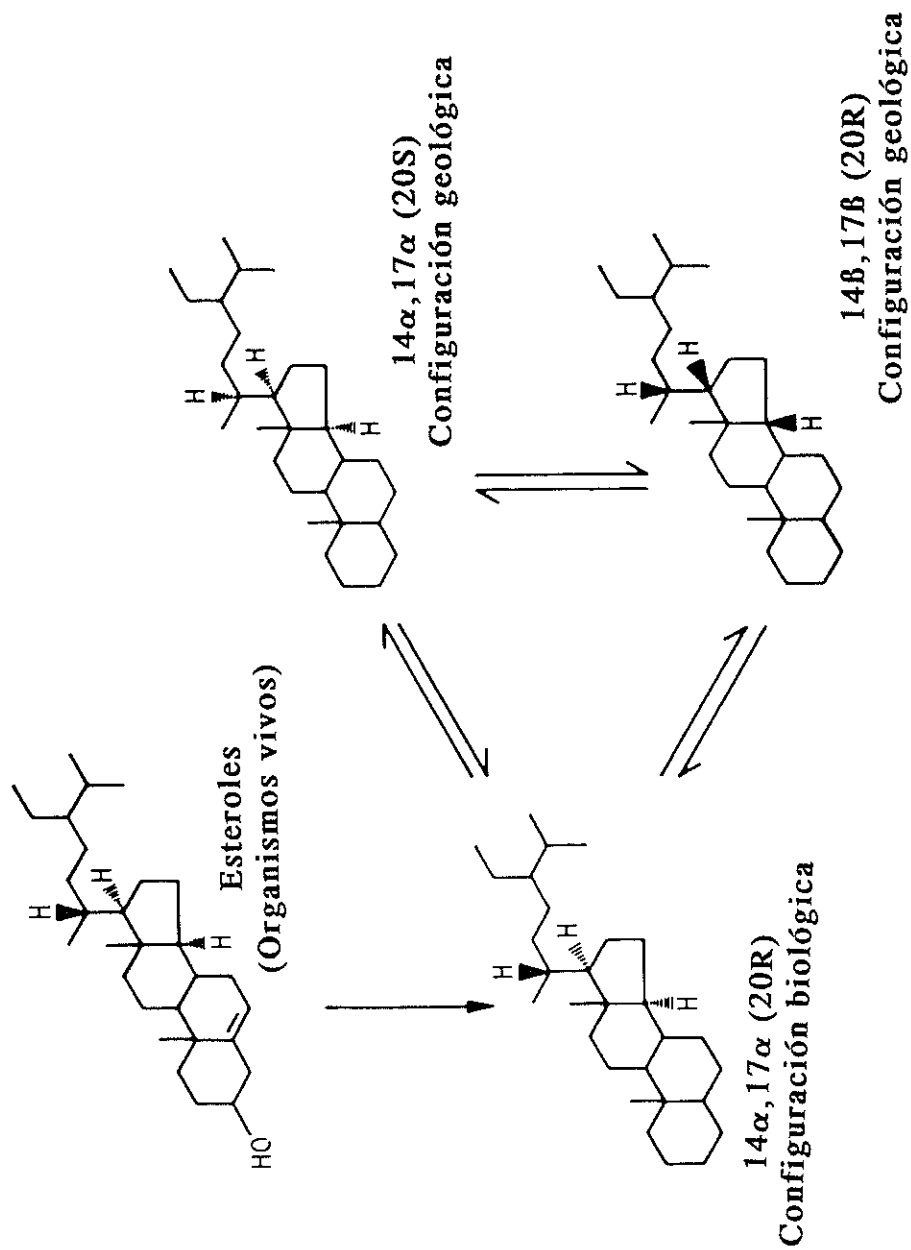


Figura 1.7.- Cambios estereoquímicos en la configuración de esteranos durante la diagénesis y maduración (Seifert y Moldowan, 1981).

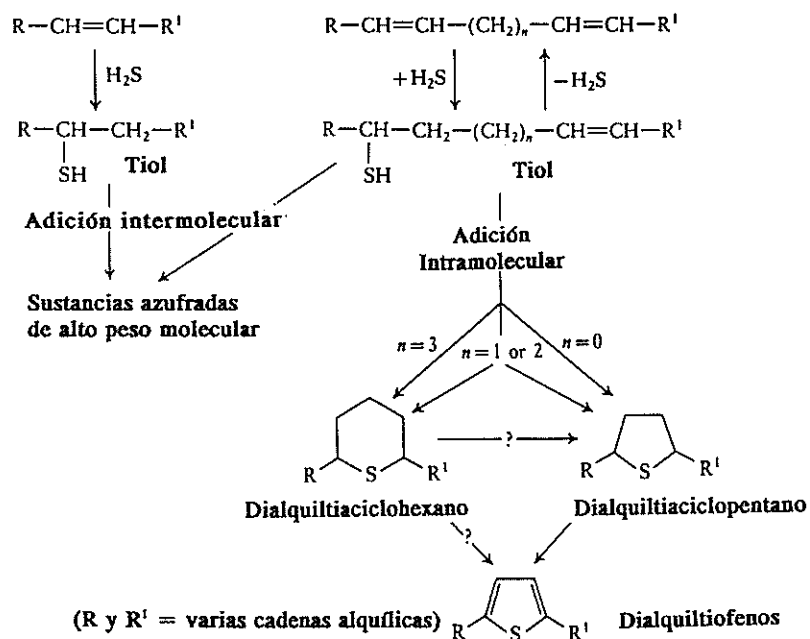


Figura I.8.- Posible mecanismo de la incorporación de azufre en sustratos insaturados durante la diagénesis (Sinninghe Damsté *et al.*, 1989b).

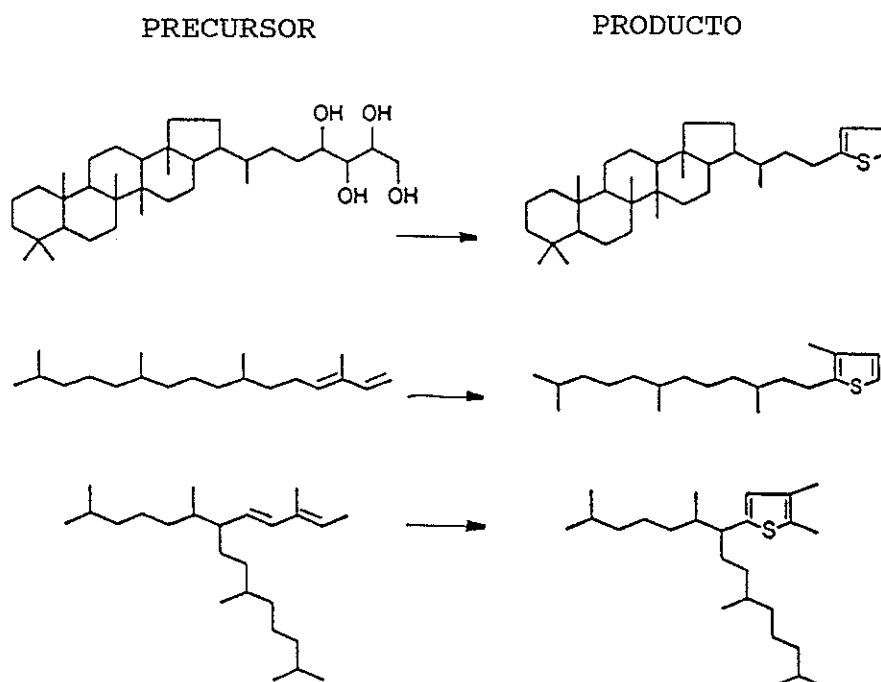


Figura I.9.- Ejemplos de probables precursores bioquímicos y sus correspondientes compuestos azufrados.

de incorporación de S a moléculas precursoras (Sinninghe Damsté *et al.*, 1989b). Entre los precursores insaturados que potencialmente son capaces de incorporar azufre se incluyen alquenos isoprenoides, hopanoides bacterianos, cetonas insaturadas algales de cadena larga (C₃₇-C₃₈) y fitadienos originados en la diagénesis de la clorofila. La adición de sulfuro de hidrógeno al doble enlace C=C origina un tiol, el cual puede reaccionar con otros compuestos insaturados (adición intermolecular) originando sustancias de alto peso molecular ricas en azufre. Cuando en la molécula precursora exista más de un doble enlace, un grupo tiol puede reaccionar con un doble enlace adyacente de la molécula (adición intramolecular) dando lugar a estructuras cíclicas que contienen S. El tamaño del anillo dependerá de la posición relativa del doble enlace. Posteriormente, el anillo puede experimentar aromatización con el aumento de la madurez. Todos estos compuestos pueden correlacionarse con precursores bioquímicos bien conocidos. En la Figura I.9 se muestran tres ejemplos de probables precursores bioquímicos y sus correspondientes compuestos azufrados identificados en sedimentos. Estos ejemplos muestran que la incorporación de S se produce en posiciones reactivas y sobre grupos funcionales.

La identificación de compuestos orgánicos azufrados relacionados con precursores bioquímicos ha permitido mejorar el conocimiento de los procesos por los cuales el S inorgánico se incorpora a la materia orgánica sedimentaria. Esta incorporación

tiene lugar durante las primeras etapas de la diagénesis y su presencia viene determinada por las condiciones ambientales. El estudio de los compuestos orgánicos azufrados permite correlacionar su distribución con paleoambientes sedimentarios (Kohnen *et al.*, 1990b; Orr y White, 1990; Sinninghe Damsté *et al.*, 1990).

B) Biomarcadores de alto peso molecular.

Otro de los avances importantes recientes en el campo de la Geoquímica Orgánica de biomarcadores ha sido la identificación de nuevos biomarcadores de alto peso molecular (mayores de C₄₀). Tradicionalmente, la Geoquímica Orgánica se ha ocupado de la caracterización de los compuestos orgánicos presentes en la Geosfera en el rango de C₁-C₄₀ átomos de carbono, debido a que estos compuestos están ampliamente distribuidos y son fácilmente detectables por las técnicas convencionales de Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas (GC-MS). Sin embargo, es conocida la presencia en organismos vivos de compuestos bioquímicos de alto peso molecular, hasta C₁₀₀ y mayores, por lo que se podría anticipar que estos compuestos, o sus productos de diagénesis, se deben encontrar también en la materia orgánica sedimentaria.

El estudio de los biomarcadores de alto peso molecular no se había podido llevar a cabo anteriormente debido a una serie de razones, la principal de las cuales era la limitación de los sistemas analíticos hasta ahora empleados, ya que los métodos tradicionales

de cromatografía gaseosa estaban limitados a especies con suficiente volatilidad. Sin embargo, se han desarrollado recientemente nuevas técnicas que permiten el análisis de compuestos orgánicos de muy alto peso molecular, entre las que destaca la cromatografía de gases de alta temperatura basada en la utilización de nuevas columnas capilares de aluminio que alcanzan altas temperaturas (hasta 440 °C), y que han permitido extender el rango de compuestos analizados por cromatografía gaseosa (Lipsky y Duffy, 1986a,b; Kohnen *et al.*, 1990a; Gallegos *et al.*, 1991; del Río *et al.*, 1992; del Río y Philp, 1992). El estudio de biomarcadores de alto peso molecular en materiales geológicos tiene un prometedor futuro ya que proporciona nuevas herramientas para interpretar el medio sedimentario.

C) Evaluación de cambios paleoclimáticos.

Los biomarcadores puede dar también información sobre los cambios paleoclimáticos, esto es, cambios de temperatura en épocas remotas. Este es el caso de una serie de cetonas insaturadas de cadena larga, C₃₇-C₃₉, biosintetizadas exclusivamente por un grupo restringido de algas marinas, los coccolitofóridos y, principalmente, por la especie *Emiliana huxleyi*, y que están ampliamente presentes en los sedimentos marinos (Volkman *et al.*, 1980; Marlowe *et al.*, 1984). Estudios de laboratorio han demostrado que la biosíntesis de las cetonas di- y tri-insaturadas por el alga *Emiliana huxleyi* está relacionada con la temperatura superficial del agua en la que se

desarrollan (Brassell *et al.*, 1986; Phahl y Wakeman, 1987; Prah *et al.*, 1989; Marlowe *et al.*, 1990). Las algas se adaptan a los cambios de temperatura en la superficie del agua mediante una regulación biosintética del grado de insaturación de las cetonas, produciéndose un incremento en el número de insaturaciones al disminuir la temperatura del agua. La relación entre las abundancias relativas de las cetonas di- y tri-insaturadas identificadas en sedimentos marinos proporciona, por tanto, una valoración exacta de los cambios paleoclimáticos de temperatura ocurridos en la superficie de los océanos en épocas remotas. Estos estudios han revelado el paralelismo de los índices paleoclimáticos con los ciclos glaciares e interglaciares, e incluso con cambios climáticos en épocas mucho más recientes (Kennedy y Brassell, 1992a,b; Conte *et al.*, 1992).

I.3.2.- GEOPOLIMEROS. ASFALTENOS Y KEROGENOS.

Se denomina Geopolímero a todo tipo de material orgánico polimérico presente en el medio geológico. En nuestro caso nos referiremos principalmente a las fracciones de KEROGENO y ASFALTENOS por ser las más importantes en el estudio de pizarras bituminosas.

El término kerógeno se aplicó por primera vez para designar la materia orgánica de unas pizarras bituminosas escocesas que por

destilación producían aceite. Posteriormente se extendió a la materia orgánica de cualquier roca capaz de generar aceites por evolución artificial o natural (Cane, 1967).

En la actualidad se acepta generalmente que el kerógeno es la fracción de la materia orgánica dispersa en las rocas sedimentarias insoluble en disolventes orgánicos (Durand, 1980). Aproximadamente el 95 % en peso del carbono orgánico sedimentario (que puede variar desde el 0.1% en las arcillas rojas de océanos hasta el 100% en ciertos carbones húmicos o algales) se encuentra en forma de kerógeno.

El modelo más clásico de formación de kerógeno (conocido como modelo de neogénesis) considera a éste como el resultado de una serie de reacciones de polimerización y policondensación consecutivas y aleatorias que experimentan los restos de la degradación microbiana del material orgánico deposicional (Figura I.10). Este "protokerógeno" inicial se transformaría a su vez en un material progresivamente más condensado, insoluble y refractario a medida que aumenta la maduración (Durand, 1980; Tissot y Welte, 1984).

Un buen número de investigaciones recientes han demostrado la participación directa de material lipídico de elevado peso molecular, refractario a la degradación microbiana, en la formación del kerógeno. Según este modelo (Figura I.11) el kerógeno se originaría en las primeras etapas de la diagénesis, en una fase previa

a la sugerida en el modelo anterior, y una significativa fracción del mismo procedería de una mezcla de biomacromoléculas resistentes que han sido preservadas selectivamente (Tegelaar *et al.*, 1989a; de Leeuw *et al.*, 1991). Estas biomacromoléculas altamente alifáticas, insolubles y no hidrolizables se encuentran en plantas, algas y bacterias (Nip *et al.*, 1986a,b,1989; Largeau *et al.*, 1984,1986; Wilson y Hatcher, 1988; Tegelaar *et al.*, 1989a). A pesar de su escasa concentración en los organismos precursores están menos afectadas por la biodegradación que otros componentes mayoritarios, como los polisacáridos y proteínas, y se concentran selectivamente en el sedimento durante las primeras etapas de la diagénesis. En el esquema de la Figura I.11 se describen las interrelaciones entre la biomasa existente en el momento de la deposición, fuente de los mencionados polímeros alifáticos, el kerógeno y los fósiles geoquímicos. En dicho esquema se recoge también las alteraciones que suceden a la diagénesis.

En la Tabla I.2 se relacionan diversas biomacromoléculas resistentes precursoras del kerógeno y los correspondientes macerales a los que dan lugar. También se muestran los posibles productos de degradación térmica (Tegelaar *et al.*, 1989a).

Los modelos clásicos y de preservación selectiva pueden ser considerados como casos extremos de la amplia gama de alteraciones que pueden experimentar las biomacromoléculas precursoras del kerógeno.

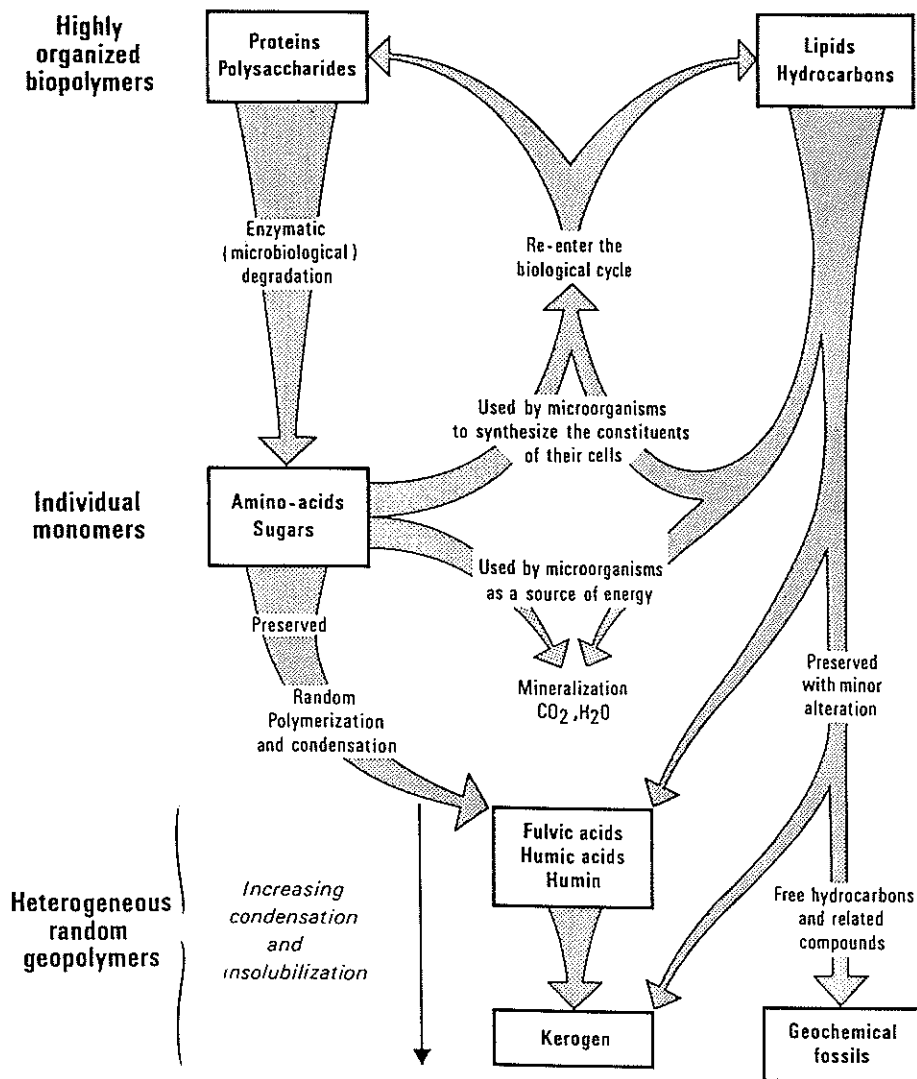


Figura I.10.- Modelo de Neogénesis de formación del kerógeno propuesto por Tissot y Welte, (1984).

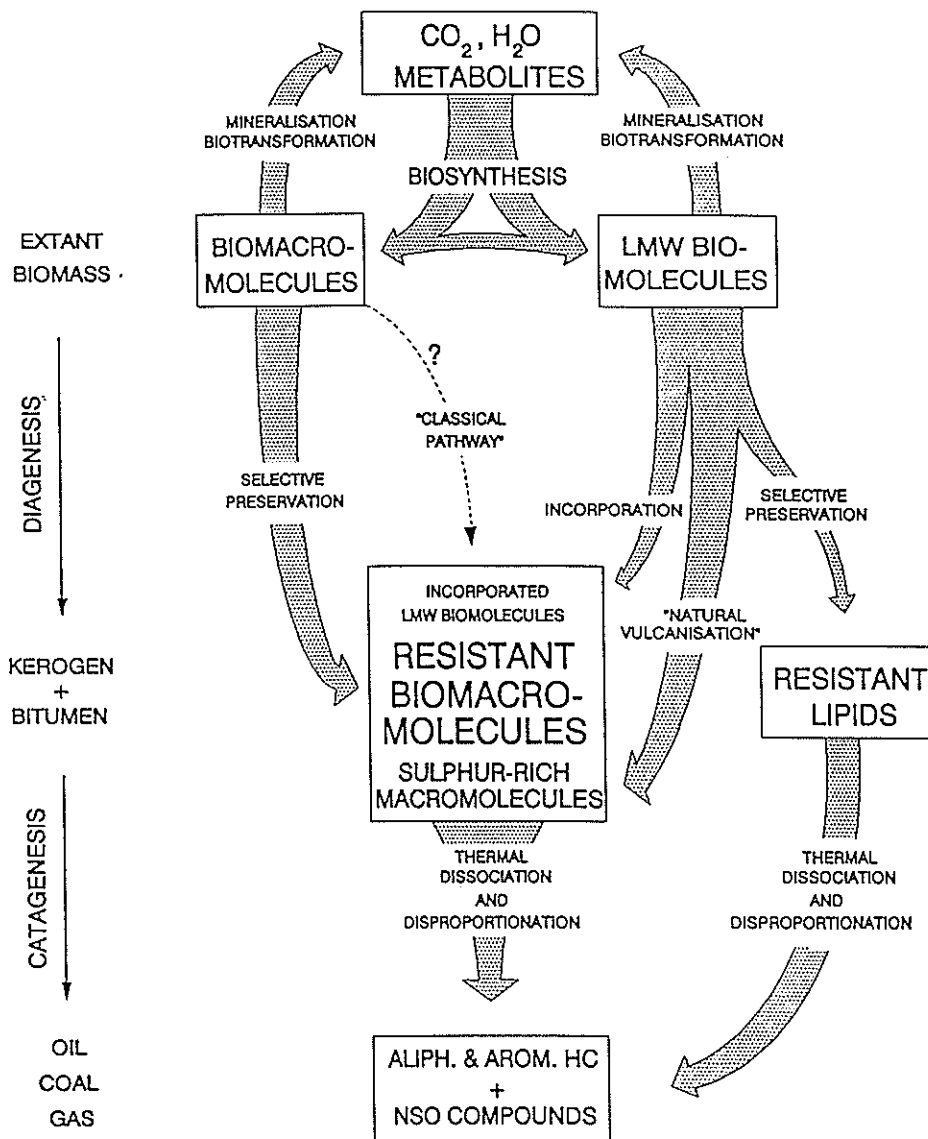


Figura I.11.- Modelo de formación del kerógeno propuesto por Tegelaar *et al.*, (1989a)

Tabla 1.2.- Biomacromoléculas resistentes constituyentes del kerógeno y sus correspondientes macerales. También se muestran los posibles productos de degradación térmica (Tegelaar *et al.*, 1989a).

BIOMACROMOLECULAS RESISTENTES	MACERALES	POSIBLES PRODUCTOS DEGRADACION TERMICA	REFERENCIAS
Algaenans	Alginita	Predominantemente n-alcanos y aromáticos	Largeau <i>et al.</i> , 1984; 1986; Derenne <i>et al.</i> , 1988; Goth <i>et al.</i> , 1988; Burczyk and Dworzanski, 1988; Zelibor <i>et al.</i> , 1988.
Cutans	Cutinita	Predominantemente n-alcanos	Nip <i>et al.</i> , 1986a; 1986b; 1989 Tegelaar <i>et al.</i> , 1989b.
Suberans	Suberinita	Predominantemente n-alcanos y aromáticos	Tegelaar <i>et al.</i> , 1989a.
Ligninas	Vitrinita/ Fusinita	Predominantemente aromáticos condensados y CH ₄ .	Stach <i>et al.</i> , 1982.
Polisesqui- and poliditerpenoides	Resinitas	Predominantemente bicadienos sesquiterpenos y aromáticos (condensados)	Mukhopadhyay y Gormly, 1984; Lewan and Willians, 1987.
Taninas	Vitrinita/ ¿Fluorinita?	Predominantemente aromáticos (condensados)	Stach <i>et al.</i> , 1982; Wilson y Hatcher, 1988.
Esporopoleinas	Esporinita	Predominantemente n-alcanos o aromáticos (condensados)	Prahl <i>et al.</i> , 1985; Schulze Osthoff y Wiermann, 1987; Guilford <i>et al.</i> , 1988.

Se han descrito diferentes tipos de kerógenos dependiendo de los organismos precursores y de las condiciones físicas, químicas y bioquímicas del depósito (Tissot y Welte, 1984; Larter y Senftle, 1985). Los más importantes son los siguientes:

a) kerógeno tipo I, preferentemente asociado a ambientes lacustres. Contiene significativas contribuciones de material lipídico, especialmente rico en grandes cadenas alifáticas. Estos lípidos provienen, predominantemente, de la acumulación selectiva de material algal parcial o intensamente alterado por la actividad bacteriana.

b) kerógeno tipo II, que se asocia generalmente a ambientes marinos, donde la materia orgánica autóctona, procedente de fitoplancton, zooplancton y microorganismos (bacterias), se depositó en un ambiente reductor. Contiene, en mayor proporción que el anterior, grupos carboxílicos, cetónicos y anillos aromáticos condensados, aunque en menor proporción que el tipo III. Las estructuras alifáticas son importantes, aunque de menor tamaño que en el caso anterior.

c) kerógeno tipo III, derivado de las plantas superiores terrestres o de sus productos de descomposición, y asociado generalmente a potentes series detríticas a lo largo de los márgenes continentales.

La mayoría de las rocas madre de petróleo y las pizarras bituminosas están constituidas por kerógenos tipo I o II, mientras

que al tipo III de kerógeno corresponderían los carbones.

Recientemente se ha sugerido que el modelo de preservación selectiva es la ruta predominante de formación de los kerógenos de los tipos I y II (Largeau y Derenne, 1993).

Además de estos tres tipos principales y de las transiciones entre unos y otros, se distingue el llamado kerógeno residual (tipo IV) que corresponde a materia orgánica oxidada o reciclada que ha sufrido meteorización subaérea u oxidación biológica en suelos o zonas pantanosas.

Al aumentar la madurez del sedimento y, como consecuencia del aumento de la presión y de la temperatura, se producen diferentes cambios en la estructura del kerógeno. Además tiene lugar una disminución de la actividad bacteriana característica de la diagénesis y un aumento de reacciones inducidas térmicamente. Los cambios estructurales más evidentes que se producen son la eliminación de los sustituyentes periféricos y el aumento de la aromaticidad del kerógeno. Los grupos funcionales se encuentran principalmente asociados a los grupos periféricos y, por tanto, son eliminados del kerógeno a medida que aumenta la madurez. En las Figuras I.12 y I.13 se muestran diversos grupos estructurales presentes en los kerógenos de los tipos I y II al comienzo de la diagénesis y al final de la catagénesis, según las propuestas de Behar y Vandenbroucke, 1987. En dichas figuras se observa que al comienzo de la diagénesis el kerógeno tipo II contiene mayor

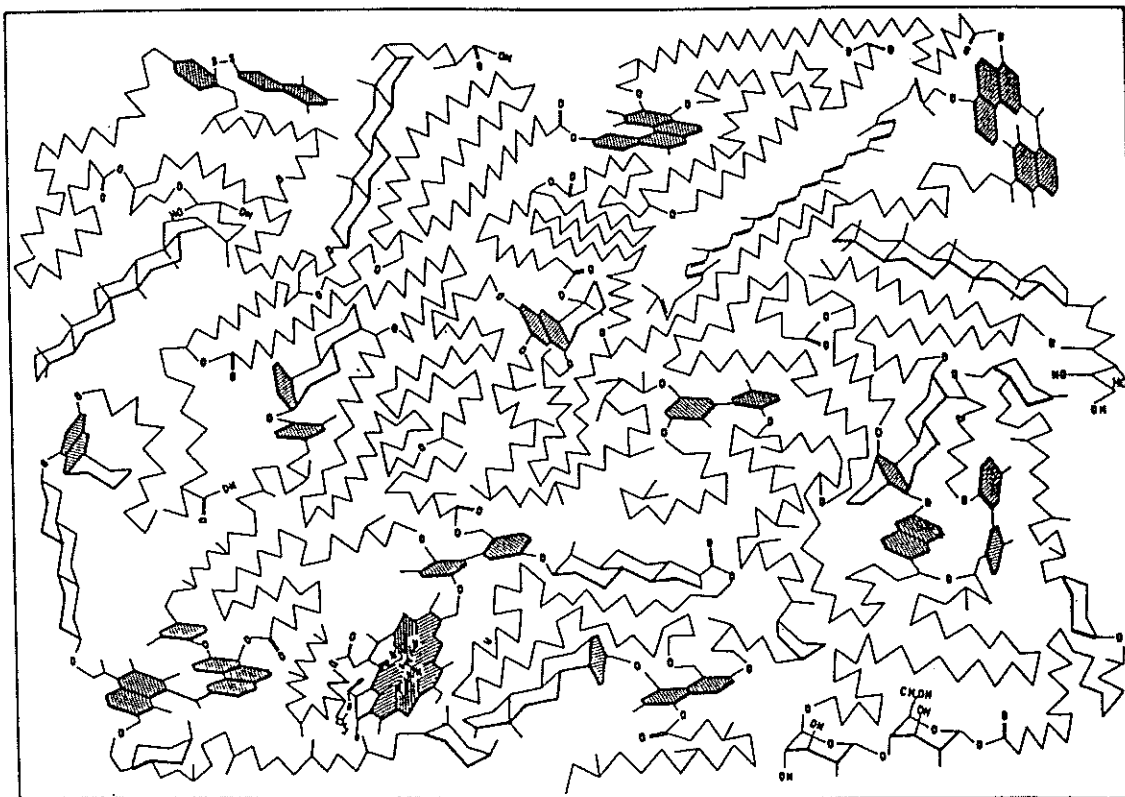
número de grupos funcionales y menor número de grandes cadenas alifáticas que el kerógeno tipo I. En ambos casos, al final de la catagénesis es evidente la ausencia de grupos funcionales y cadenas alifáticas periféricas que han sido eliminadas y expulsadas del kerógeno.

La evolución de los diferentes tipos de kerógenos con el aumento de la madurez suele representarse mediante el denominado diagrama de van Krevelen que se muestra en la Figura I.14. En el mismo se indican los principales fluidos que son expulsados durante las etapas de la diagénesis, catagénesis y metagénesis (Durand, 1980).

Durante el proceso de diagénesis se produce un aumento progresivo del contenido en C y una disminución en el contenido de O, lo que se traduce en una disminución de la relación H/C y en una disminución aún mayor de la relación O/C. La pérdida de O en un primer momento se debe a la eliminación de las unidades que contienen grupos C=O, particularmente grupos ácidos y cetónicos. Los enlaces heteroatómicos son, a menudo, más débiles que las uniones C-C y, por tanto, son los primeros en romperse.

Durante la catagénesis los cambios en la composición de los kerógenos de los tipos I y II están relacionados con la disminución en el contenido de H, debido a la generación y liberación de hidrocarburos (cíclicos y no cíclicos) relacionados con la rotura de los enlaces C-O y C-C. En consecuencia la relación H/C disminuye

a)



b)

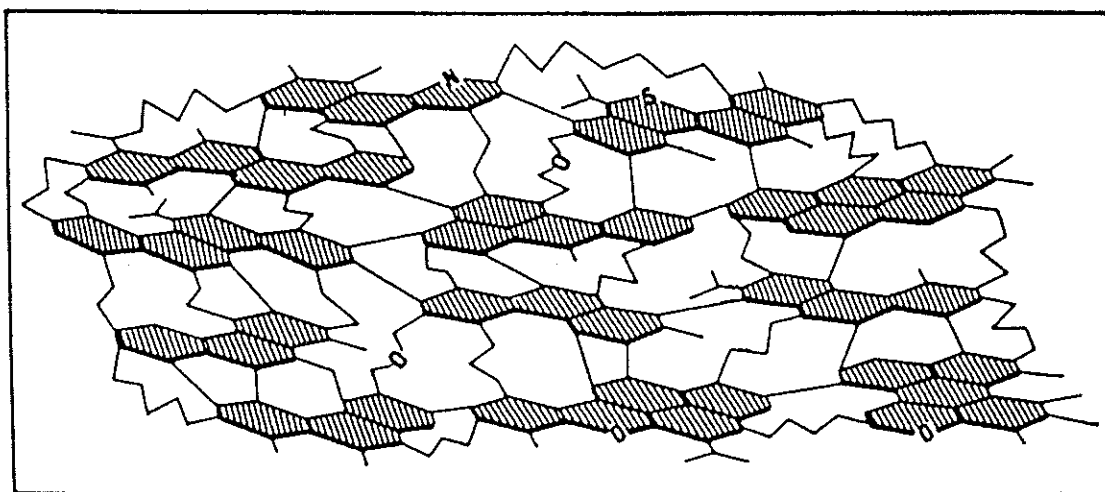
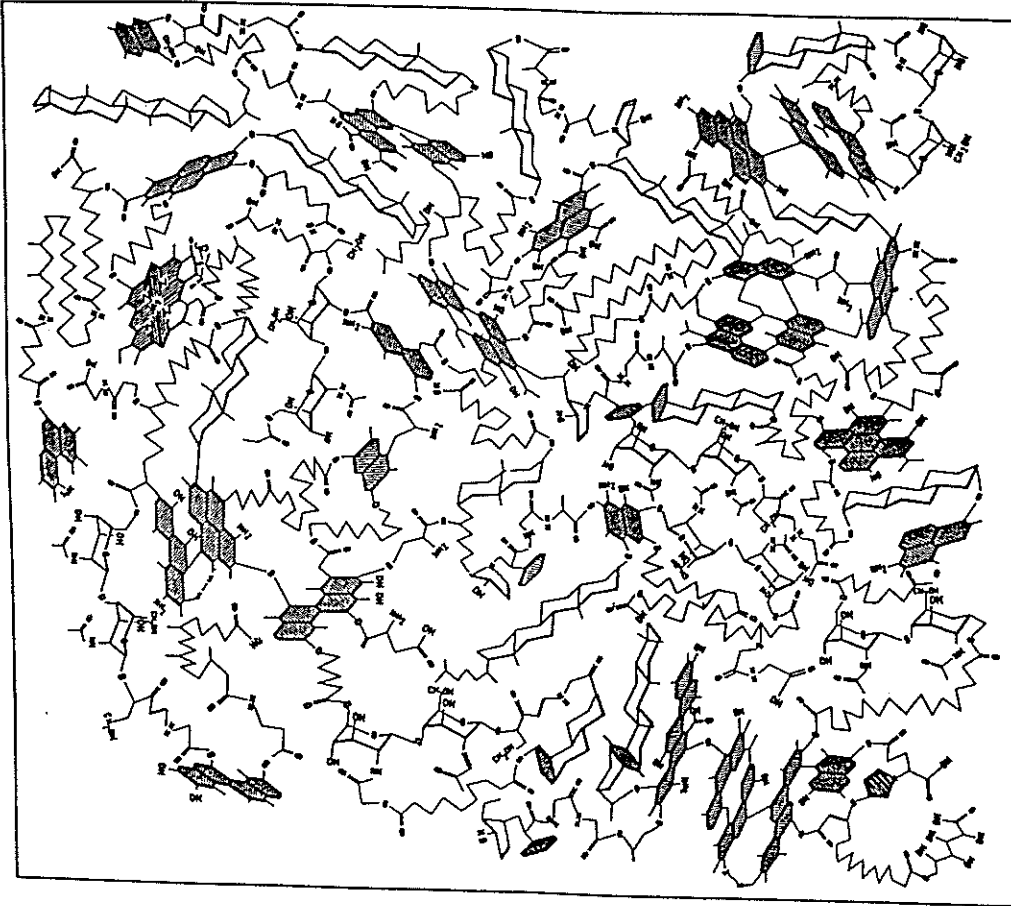


Figura 1.12.- Características estructurales del kerógeno tipo I, a) al comienzo de la diagénesis y b) al final de la catagénesis (Behar y Vandembroucke, 1987).

a)



b)

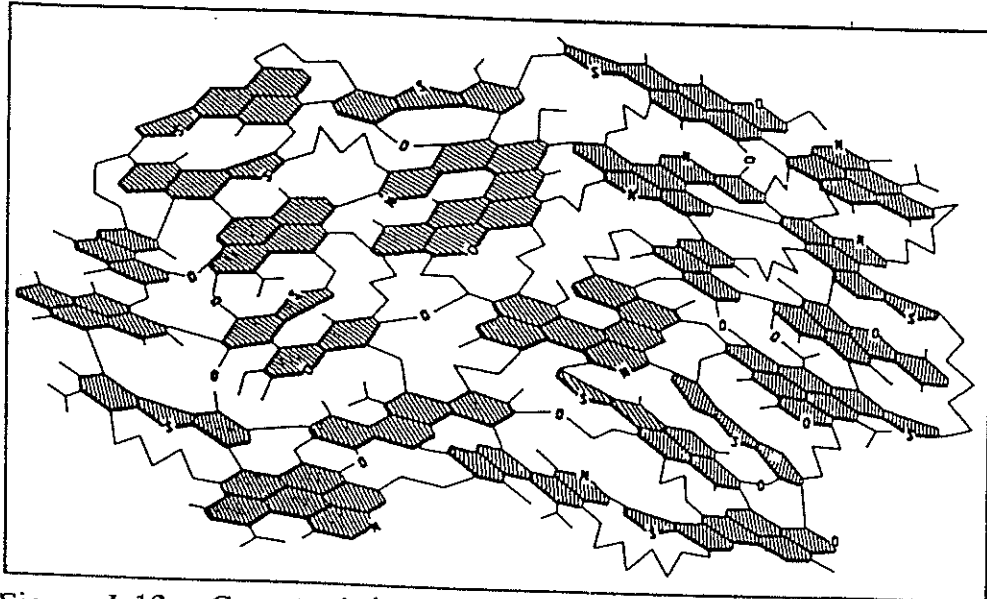
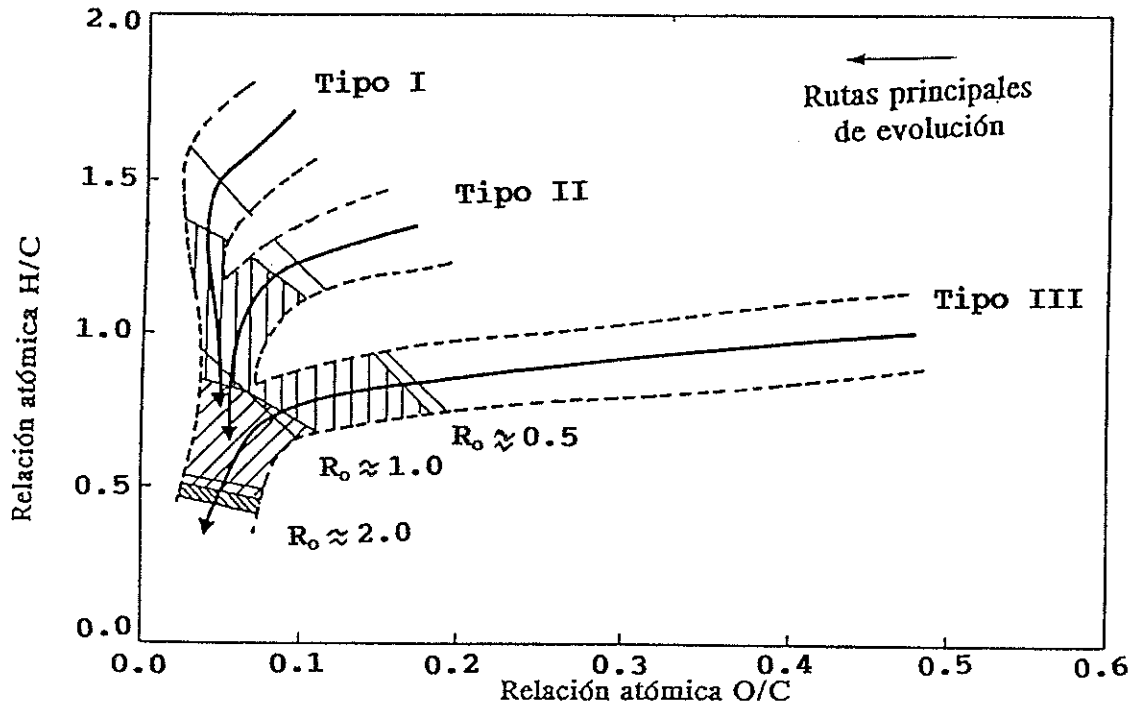


Figura I.13.- Características estructurales del kerógeno tipo II, a) al comienzo de la diagénesis y b) al final de la catagénesis (Behar y Vandenbroucke, 1987).



	Fluido desarrollado	Zona	Etapa
	Dióxido de Carbono y agua	Inmadura	Diagénesis
	Hidrocarburos líquidos	Petróleo	Catagénesis
	Hidrocarburos gaseosos (C ₁ -C ₄)	Gas húmedo (condensado)	
	Metano	Gas seco	Metagénesis

Figura I.14.- Diagrama de Van Krevelen en el que se muestran las rutas de evolución de los tres tipos de kerógenos y los principales fluidos expulsados durante las diferentes etapas de maduración (Durand, 1980).

significativamente, aumentando el carácter aromático del kerógeno como resultado de la rotura de los componentes alifáticos y del aumento de la aromatización de los anillos nafténicos. La relación O/C tiende a un nivel bajo (0.05) y permanece constante. El descenso en la relación H/C durante la catagénesis es menor para el kerógeno del tipo III, reflejando su bajo potencial de generación de petróleo, aunque pueden generarse grandes concentraciones de hidrocarburos gaseosos, principalmente metano.

La metagénesis tiene lugar en muestras muy profundas o con altos gradientes geotérmicos. En esta etapa, la pérdida en el contenido de H es suave en todos los tipos de kerógenos ($H/C \leq 0.5$). El metano es quizás el único hidrocarburo que puede generarse, aunque del kerógeno puede separarse azufre en forma de H_2S .

El mecanismo de génesis y maduración de hidrocarburos puede interpretarse a nivel molecular como el resultado de una disociación térmica y desproporción de determinadas biomacromoléculas resistentes, que participan directamente en la formación del kerógeno, y de macromoléculas ricas en azufre (Tegelaar *et al.*, 1989a).

El tipo y concentración de hidrocarburos generados dependerá del tipo de kerógeno contenido en la roca fuente. Los kerógenos ricos en H (Tipos I y II) se consideran propensos a generar aceite (*oil-prone*), mientras que los kerógenos pobres en hidrógeno (Tipo

III) se consideran principalmente propensos a producir gas (*gas-prone*) (Tissot *et al.*, 1974). Sin embargo, como sugieren Horsfield *et al.*, (1988), un estricto seguimiento de esta clasificación puede inducir a errores. Así, el aceite puede ser generado por materia orgánica terrestre pobre en hidrógeno (Thomson *et al.*, 1985) pero con un alto contenido en determinados macerales, tales como liptinita y exinita. La liptinita ha podido formarse a partir de la degradación microbiana de las plantas superiores durante la diagénesis y la exinita proviene de lípidos tales como ceras, cutículas, resinas y polen, que asimismo pueden haberse concentrado durante la diagénesis (Killops y Killops, 1993). Estos problemas están claramente relacionados con el insuficiente conocimiento de la estructura del kerógeno. Por tanto, la elucidación de dicha estructura y de sus vías de formación proporcionará un mejor entendimiento del potencial genético y propiedades del kerógeno.

En cuanto a los asfaltenos, su composición y estructura macro-molecular ha constituido desde siempre un enigma en la química del petróleo. Hoy en día se considera a los asfaltenos como fragmentos más pequeños del kerógeno y, por tanto, más solubles, que son liberados por la eliminación de enlaces éteres o heteroatómicos (Tissot y Welte, 1984). Así, estos materiales podrían usarse tanto para evaluar ambientes de deposición como de parámetros de correlación petróleo/roca fuente (Macko *et al.*, 1988).

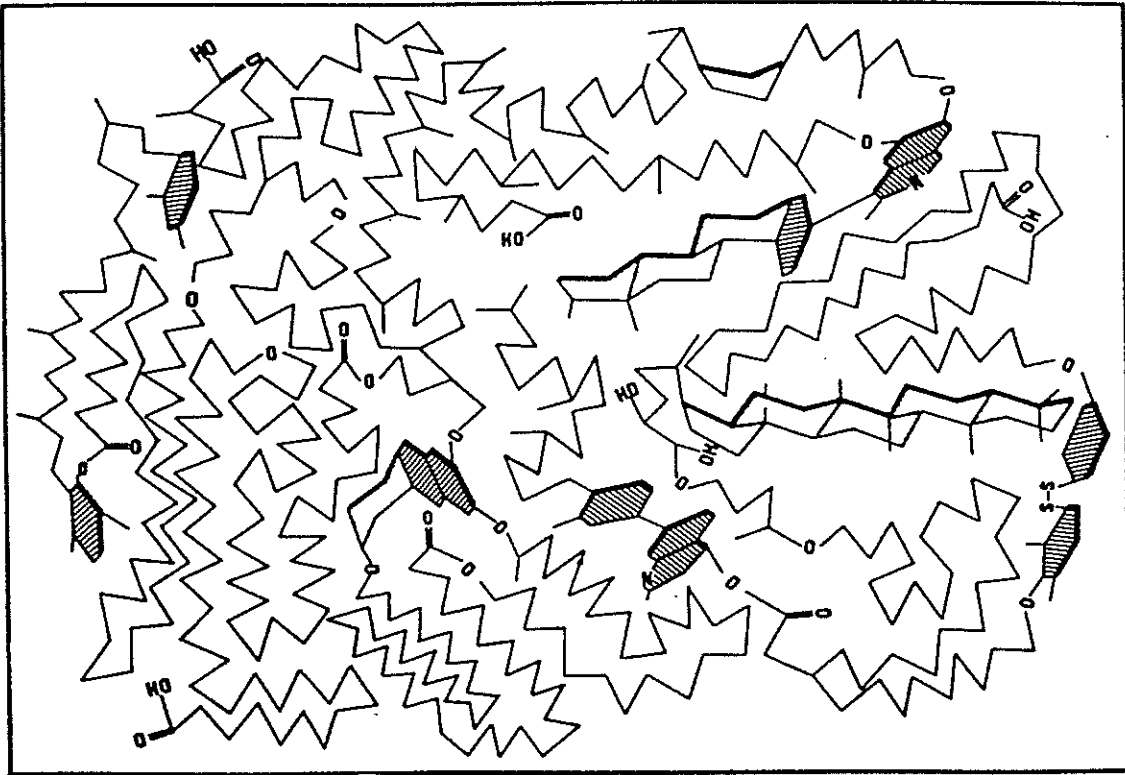
En la Figura I.15 se muestran varios de los grupos estructurales presentes en los asfaltenos procedentes de los kerógenos tipo I y II hacia el final de la diagénesis y comienzo de la catagénesis (Behar y Vandembroucke, 1987). Según estos modelos el asfalteno del kerógeno tipo I contiene mayor número de grandes cadenas alifáticas y menor número de grupos funcionales que el asfalteno correspondiente al kerógeno tipo II.

Una revisión sobre la evolución histórica de las ideas sobre la estructura molecular de los asfaltenos, paralela a la evolución de las técnicas analíticas, ha sido publicada recientemente (Strausz *et al.*, 1992).

I.4.- GEOQUIMICA ORGANICA DE PIZARRAS BITUMINOSAS. ANTECEDENTES Y PERSPECTIVAS DE FUTURO.

Las pizarras bituminosas constituyen un complejo grupo de rocas distribuidas por toda la Tierra que fueron depositadas en una amplia variedad de ambientes sedimentarios a lo largo de todo el espectro de tiempo geológico, y tienen una gran variedad de composiciones tanto en la fracción orgánica como en la inorgánica. No existe, por tanto, una definición desde el punto de vista geológico o químico de las pizarras bituminosas. De forma muy genérica se consideran como tales a rocas sedimentarias laminadas que contienen del 5 al 25% de materia orgánica. En una

a)



b)

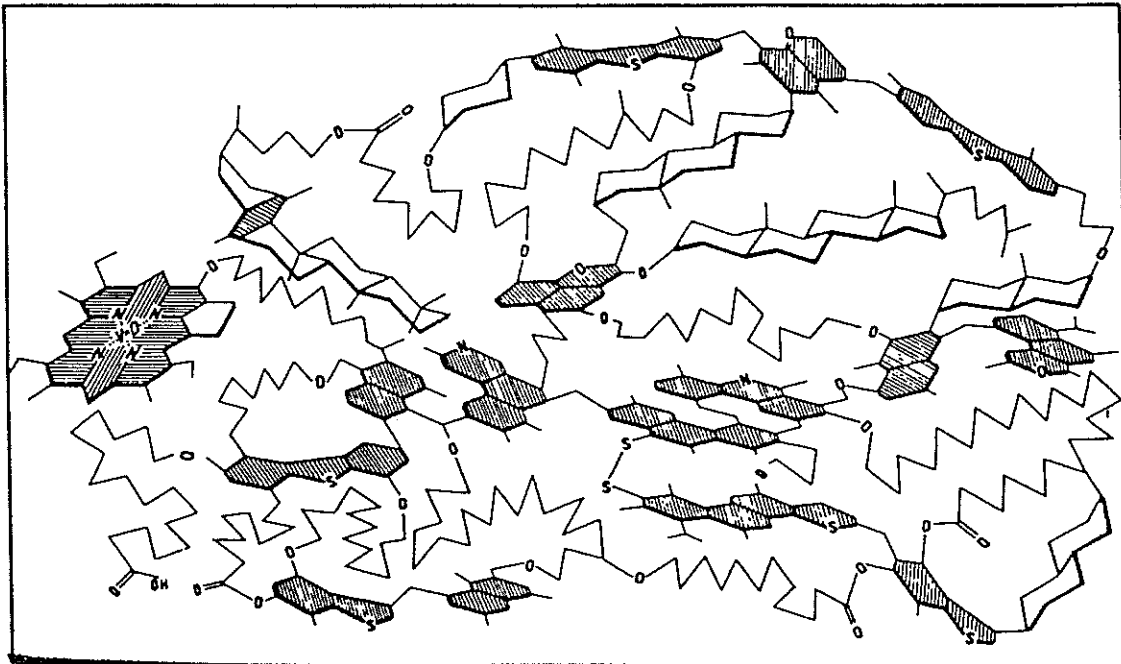


Figura 1.15.- Características estructurales de los asfaltenos procedentes de los kerógenos tipo I y II hacia el final de la diagénesis y comienzo de la catagénesis (Behar y Vandembroucke, 1987).

clasificación reciente de pizarras bituminosas, considerando su abundancia relativa en macerales (Cook y Sherwood, 1991), se destaca su amplia variabilidad, aunque domina en general el maceral alginita, y el solapamiento bajo este aspecto de las pizarras con carbones y otras rocas fuentes de petróleo. En algunas pizarras bituminosas, tales como las de la Green River (USA) y la Irati (Brasil), el material bituminoso está presente impregnando y reemplazando parcialmente a algunos macerales (Singleton *et al.*, 1983).

El término **pizarra bituminosa** tiene más un sentido económico que geológico, y son más frecuentes las definiciones de las mismas desde un punto de vista comercial. Así, se considera pizarra bituminosa a cualquier roca sedimentaria poco profunda que produce cantidades comerciales de aceite por pirólisis (Tissot y Welte, 1984). Más precisamente se definen también como rocas fácilmente combustibles que liberan hidrocarburos líquidos y gaseosos al ser calentados entre 400 y 600°C (Yen y Chilingarian, 1976; Reyes y Feixas, 1984).

Las pizarras bituminosas se conocen industrialmente desde el siglo XVII, y ya en 1694 se "informa de una manera de extraer y fabricar grandes cantidades de brea, alquitrán y aceite, por separación de la roca" (Cane, 1967). Esta industria tuvo un pujante desarrollo en todo el mundo, hasta que la realidad comercial impuesta por las enormes ventajas económicas de los crudos

petrolíferos como fuentes de combustibles obligó al cierre generalizado de las plantas de producción, con algunas raras excepciones.

La materia orgánica que contienen las pizarras bituminosas no es diferente, en principio, de la que forma parte de las rocas madre de petróleo. En ambos casos deben reunir similares características de riqueza y grado de evolución si consideramos su potencial petrolífero. En cuanto a la riqueza, se estima que un 5% de materia orgánica es suficiente para producir petróleo o gas si las condiciones térmicas y de enterramiento son adecuadas. Respecto al grado de evolución, una roca madre necesita haber sufrido una historia térmica suficientemente severa para producir la degradación de una parte importante del kerógeno y generar así aceites. Por el contrario, las pizarras bituminosas necesitan estar poco evolucionadas, para conservar intacto su potencial generador de aceite. Por tanto, se puede decir que una pizarra bituminosa suficientemente enterrada o que ha sufrido una historia térmica suficientemente severa constituirá siempre una roca madre de petróleo, mientras que lo contrario no es necesariamente cierto por los requerimientos de enriquecimiento orgánico.

En cuanto a la composición de la fracción mineral muchas de estas rocas son verdaderas pizarras, constituidas principalmente por minerales de arcilla, mientras que otras están formadas por margas o incluso carbonatos. La única litología excluida son las areniscas,

ya que este tipo de depósitos es incompatible con la acumulación y preservación de la materia orgánica (Speight, 1990). Los depósitos de pizarras bituminosas de mayor calidad presentan calcita o dolomita como componente inorgánico mayoritario. Este carbonato proviene de la precipitación en el momento de la deposición y de la oxidación de la materia orgánica a CO_2 y su combinación con calcio, magnesio, etc.

La estructura laminada de estas rocas es consecuencia del sucesivo apilamiento de capas inframilimétricas de minerales arcillosos y carbonatados y de materia orgánica en aguas poco profundas y tranquilas.

Tratar de establecer de forma general los ambientes de depósito de las pizarras bituminosas resulta bastante complicado. En cualquier caso, es posible mencionar algunas condiciones que resultan favorables para la acumulación y preservación de las mismas, siempre caracterizados por aguas tranquilas (Duncan, 1967):

a) Grandes lagos en cuencas de origen tectónico, preferentemente en zonas sin cambios estacionales bruscos que favorecen la estratificación de las aguas. La pizarra de Green River, que se encuentra entre los estados de Colorado, Utah y Wyoming, es de este tipo y alcanza hasta 600 metros de espesor.

b) Mares poco profundos sobre plataformas continentales. Suelen presentarse en capas finas y con una extensión que suele ser

de cientos de miles de kilómetros cuadrados. Ejemplos de éste tipo son las pizarras negras del norte de Europa y de Siberia, y las del Sur de Brasil, Uruguay y Argentina.

c) Pequeños lagos, pantanos y lagunas asociadas con marismas (o ciénagas). Estas pizarras suelen estar asociadas con carbones y suelen presentarse en capas gruesas y extensas. Son ejemplos los depósitos San Hilarie en Francia, Fushum en China y Kenderlick en Kazakhstan.

La Geoquímica Orgánica de pizarras bituminosas tiene los mismos planteamientos que la de otros sustratos geológicos afines. De todas formas, los recordamos en el ilustrativo esquema de Costa Neto, (1983) que se muestra en la Figura I.16.

En dicho esquema se interrelacionan los tres objetivos básicos de los estudios geoquímico-orgánicos de pizarras bituminosas, que se resumen en los siguientes puntos: a) el conocimiento a nivel molecular de la composición de la materia orgánica fósil presente en las pizarras bituminosas, b) el establecimiento de modelos sobre las transformaciones naturales que han convertido la materia orgánica original en materia orgánica actual y c) la reconstrucción de paleoambientes deposicionales.

Los estudios precedentes sobre biomarcadores y kerógenos en pizarras bituminosas son muy abundantes, destacando los numerosos estudios realizados sobre sustratos representativos tales como la formación Irati de Brasil (Costa Neto, 1983; Ambles *et al.*, 1993),

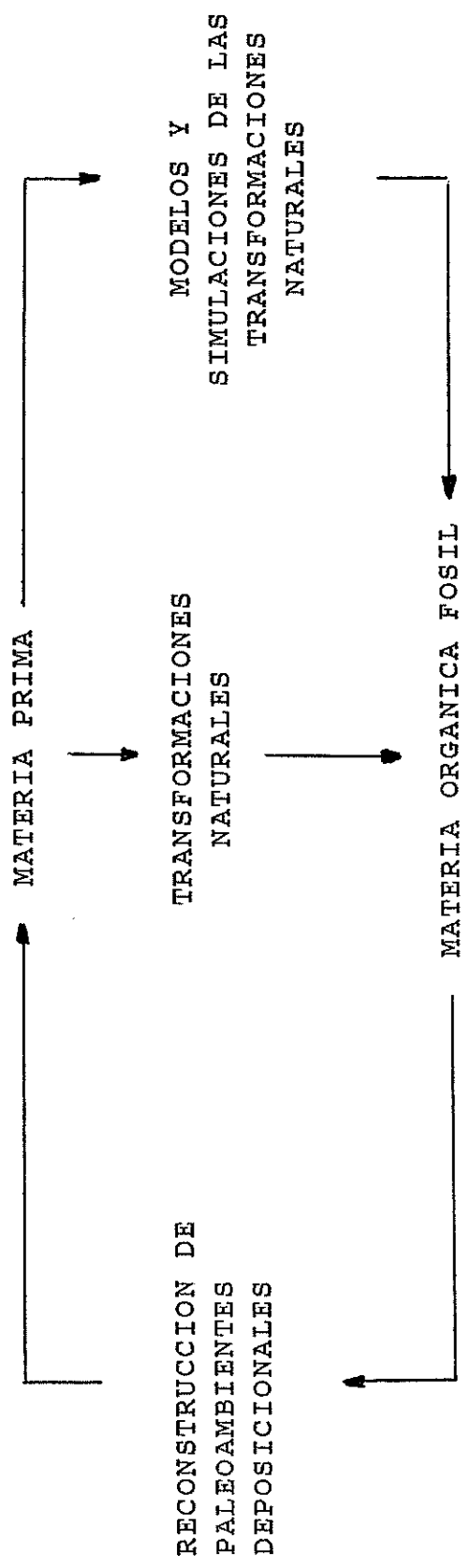


Figura I.16.- Propósitos de la geoquímica de las pizarras bituminosas (Costa Neto, 1983).

la pizarra de Green River (EE.UU.) (Barackat y Yen, 1990), la de Messel (Alemania) (Hayes *et al.*, 1987; Goth *et al.*, 1988; Vitorovic *et al.*, 1988; Standen *et al.*, 1991), la pizarra de Timahdit (Marruecos) (Ambles *et al.*, 1988), la de Paraíba Valley (Brasil) (Loureiro y Cardoso, 1990) y, en general, sobre diversas pizarras de Europa (Douglas *et al.*, 1983) y de Israel (Shirav y Ginzburg (1983). Diversas monografías dedicadas específicamente a la Geoquímica Orgánica de pizarras bituminosas han sido publicados en los últimos años (Yen y Chilingrian, 1976; Miknis y Mckay, 1983; Speight, 1990).

I.5.- METODOLOGIA DE FRACCIONAMIENTO Y ANALISIS DE LA MATERIA ORGANICA DE PIZARRAS BITUMINOSAS.

Como ya se ha indicado, la materia orgánica de las pizarras bituminosas está formada, en su conjunto, por una mezcla compleja y heterogénea de compuestos simples y macromoléculas de elevado peso molecular. Su estudio global es por tanto muy complicado y es necesario un fraccionamiento en grupos estructuralmente afines, donde las aplicaciones de las diversas técnicas analíticas puedan ofrecer resultados más satisfactorios para posteriormente ensamblar las diferentes informaciones obtenidas y definir así la organización molecular de la materia orgánica global.

El esquema básico de fraccionamiento incluye la separación

de las tres fracciones orgánicas principales anteriormente referidas: bitumen, kerógeno y asfalteno. A modo ilustrativo se representa en la Figura I.17 la diseminación aproximada de estas fracciones en una roca sedimentaria.

La extracción del material bituminoso se lleva a cabo por procedimientos convencionales de extracción sólido-líquido, empleando diferentes disolventes o mezclas de ellos en equipos Soxhlet. En los últimos años se han desarrollado nuevas técnicas de extracción basadas en agitación con ultrasonidos (Blanco *et al.*, 1992) y fluidos en estado supercrítico (Kevasan *et al.*, 1988; Greibrook *et al.*, 1992). La extracción con fluidos supercríticos (SFE) parece tener un prometedor futuro puesto que ofrece considerables ventajas respecto al tiempo de extracción y a la eliminación de riesgos medioambientales.

En los extractos globales se separan los maltenos de los asfaltenos insolubles en *n*-pentano. Los maltenos se subdividen usualmente en componentes saturados, aromáticos y polares mediante cromatografía de adsorción en columna. Los *n*-alcanos son, normalmente, los compuestos más abundantes en las fracciones saturadas de extractos de rocas y, a veces, es necesario eliminarlos en una etapa analítica encaminada fundamentalmente a aumentar la concentración de otros biomarcadores más específicos tales como los alcanos ramificados y cíclicos. Con este fin se han utilizado eficazmente diferentes técnicas de concentración entre las que

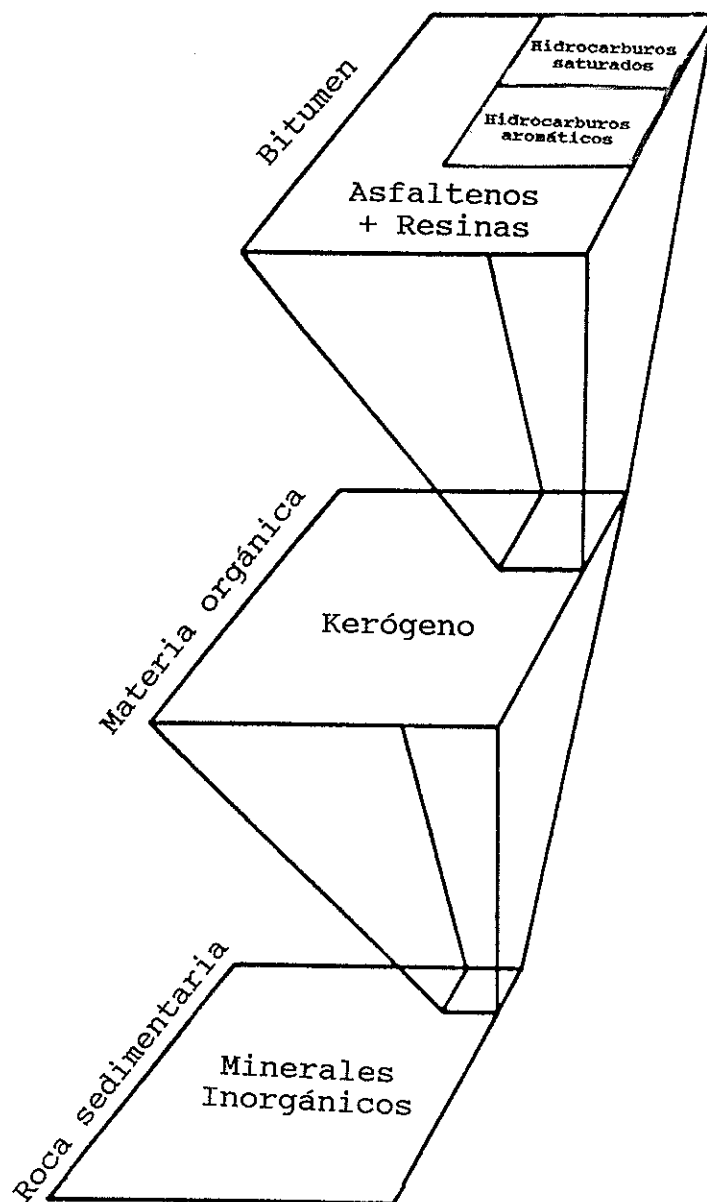


Figura I.17.- Diseminación de la materia orgánica en las rocas sedimentarias (Tissot y Welte, 1984).

destacan la clatración con urea y la filtración mediante tamices moleculares.

La determinación de biomarcadores en las distintas subfracciones es un reto científico para el químico analítico ya que éstos representan sólo una pequeña parte de una mezcla extremadamente compleja de compuestos presentes normalmente en muy bajas concentraciones. Sin embargo, este inconveniente ha quedado subsanado en gran medida merced al espectacular desarrollo experimentado por las técnicas instrumentales de análisis en las últimas décadas. En este sentido cabe destacar el actual perfeccionamiento de las técnicas cromatográficas, en particular la Cromatografía de Gases (GC) y la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), unido a los avances en la tecnología de columnas y detectores. Entre estos últimos merece mención especial la Espectrometría de Masas (MS) ya que puede acoplarse con las anteriores técnicas de separación, siendo al mismo tiempo uno de los métodos instrumentales más sensibles y eficaces para el análisis estructural de compuestos orgánicos. Los equipos de Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (GC-MS) son hoy día fácilmente disponibles y pueden considerarse indispensables para el análisis rutinario de biomarcadores.

Recientemente se han empezao a utilizar nuevas técnicas como el tándem MS/MS, en asociación o no con GC, en un intento de reducir el número de fraccionamiento requeridos antes de los

análisis (McLafferty, 1983; Summons, 1987; Philp *et al.*, 1988b; Levsen, 1988; Philp y Oung, 1992). Asimismo, el desarrollo de otras metodologías parece extender las fronteras de la identificación de biomarcadores. Entre ellas cabe citar el uso de columnas capilares de alta temperatura que permiten el análisis de hidrocarburos de elevado peso molecular (Kohnen *et al.*, 1990a,b; Gallegos *et al.*, 1991; del Rio *et al.*, 1992; del Rio y Philp, 1992). Por otro lado, el desarrollo de instrumentaciones fiables para la determinación de las composiciones isotópicas de componentes individuales de extractos de rocas (Hayes *et al.*, 1987; Rieley *et al.*, 1991), parece ser un parámetro de gran utilidad para identificar los precursores de los biomarcadores y para el establecimiento de correlaciones petróleo-roca fuente.

La caracterización química estructural de las formas orgánicas poliméricas complejas y de alto peso molecular y, concretamente, el estudio del kerógeno y asfalteno, plantea también notables problemas analíticos. El análisis elemental ha sido ampliamente utilizado para la caracterización y clasificación de kerógenos (Durand y Monin, 1980), aunque proporciona pocos datos estructurales. Para ello, es necesario recurrir a técnicas degradativas térmicas (pirólisis) o químicas y a técnicas no degradativas, como las espectroscópicas.

Las técnicas degradativas térmicas han sido ampliamente utilizadas tanto en estudios estructurales de geopolímeros como en

estudios de simulación de los procesos que gobiernan la génesis de hidrocarburos, en estudios de maduración artificial y para la evaluación de la calidad de rocas madre.

Los diferentes sistemas de pirólisis se diferencian por los dispositivos de separación y/o detección, y son básicamente de tres tipos: a) pirólisis estática sin separación de los gases producidos, b) pirólisis de flujo global ("bulk-flow") con separación en varios bloques de los gases producidos y c) pirólisis con separación cromatográfica de los gases.

Dentro del tipo de pirólisis bulk-flow la más conocida es la técnica de pirólisis Rock-Eval, desarrollada por Espitalié *et al.*, (1977), en el Instituto Francés del Petróleo para la caracterización rápida de la materia orgánica de rocas madre y la estimación de su potencial para la generación de hidrocarburos.

La pirólisis con separación cromatográfica de los gases o productos de pirólisis ha sido ampliamente aplicada a la caracterización de geopolímeros. Hoy día el tándem Pirólisis flash-Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (Py-GC-MS) se considera para tal fin como una de las técnicas más fiables e informativas (Van de Meent *et al.*, 1980a; Larter, 1984; Philp *et al.*, 1988a; Eglinton *et al.*, 1990b; Hartgers *et al.*, 1994). Sin embargo, una de las principales limitaciones de esta técnica es la descarboxilación de los ácidos bencenocarboxílicos presentes en las muestras, lo que da lugar a una interpretación estructural incompleta

(Martín *et al.*, 1994a). Recientemente se ha desarrollado la pirólisis-metilación, en presencia de tetrametilamonio (TMAH), que evita la descarboxilación y libera los ésteres metílicos de los ácidos carboxílicos (Challinor, 1989,1991a,b; Anderson y Winans, 1991; de Leeuw and Baas, 1993; del Rio *et al.*, 1994; Martín *et al.*, 1994a,b).

De las degradaciones químicas de geopolímeros, la oxidación con permanganato en medio alcalino es una de las más utilizada (Vitorovic *et al.*, 1984,1988; Ambles *et al.*, 1988). Sin embargo, se obtiene una información limitada sobre el tipo de enlaces en la estructura del kerógeno debido a la drasticidad de la técnica. Hoy día se utilizan reacciones de oxidación más suaves e incluso selectivas, como son las oxidaciones con tetróxido de Rutenio (Trifilief, 1987,1992; Standen *et al.*, 1991; Boucher *et al.*, 1991), la hidrogenólisis catalítica o la escisión por BBr₃ (Chappe *et al.*, 1980,1982; Mycke y Michaelis, 1986; Mycke *et al.*, 1987) y la degradación oxidativa con dicromato sodico en ácido acético glacial (Barackat y Yen, 1990), cuyos productos de degradación son más representativos de la estructura polimérica del kerógeno y del asfaleno.

La estructura del material polimérico también se estudia mediante técnicas instrumentales no degradativas que permiten la observación de la muestra como un todo (técnicas espectroscópicas, principalmente), siendo la más usada la resonancia magnética

nuclear de ^{13}C en estado sólido (CP\MAS NMR) (Miknis *et al.*, 1982,1993; Wilson, 1987; Patience *et al.*, 1992).

II. JUSTIFICACION DEL ESTUDIO Y OBJETIVOS

II. JUSTIFICACION DEL ESTUDIO Y OBJETIVOS

La mayoría de los estudios geoquímico-orgánicos han sido dedicados a los depósitos de materiales orgánicos distribuidos por toda la Tierra que tenían un interés desde el punto de vista económico, principalmente carbones, pizarras bituminosas y petróleos.

En el caso de las pizarras bituminosas estos estudios tienen un especial interés y son de permanente actualidad por dos razones principales, complementarias entre si:

a) Por un lado, las pizarras bituminosas constituyen un sustrato enormemente valioso para el desarrollo de la investigación básica en Geoquímica Orgánica, ya que constituyen rocas fuente potenciales

al tiempo que son por sí mismas fuentes de energía. Además, contienen suficiente riqueza y variedad de fracciones orgánicas como para hacer factible el potencial establecimiento de interrelaciones entre ellas, de gran significación geoquímica.

b) Por otro lado, la actual inviabilidad económica de la producción de combustibles sintéticos a partir de pizarras bituminosas no significa que haya que olvidar esta opción. Al contrario, debe mantenerse como una alternativa energética de gran importancia ante una previsible situación, nada lejana según todas las estimaciones, en la que el petróleo escasee o su explotación sea excesivamente costosa. En este contexto, cualquier esfuerzo encaminado a una mejor comprensión de la geoquímica de estos recursos redundará en una optimización de los procesos de recuperación, control de calidad y refinado y, en definitiva, puede contribuir a que la producción de combustibles a partir de las pizarras se realice a más bajo coste.

Teniendo presente las anteriores consideraciones hemos abordado en este trabajo la caracterización geoquímico-orgánica del depósito de pizarras bituminosas de Puertollano, el más importante de España. Estas pizarras sólo han sido caracterizadas parcialmente desde el punto de vista geoquímico-orgánico (Robinson y Dineen, 1967; Kruge y Suarez-Ruiz, 1991; Borrego *et al.*, 1992) y, en general, estos estudios se han limitado a la llamada capa B de la Mina Calvo Sotelo, explotada comercialmente durante muchos años.

En nuestro caso, las características de las pizarras de la capa B se han comparado con las de tres estratos de pizarras bituminosas encontrados a diferentes profundidades en la mina EMMA, explotada actualmente para la extracción de carbón.

Los objetivos concretos que nos planteamos al iniciar el estudio fueron los siguientes:

a) Estudiar la composición de las diferentes fracciones bituminosas de las muestras con objeto de determinar la influencia de sus previsible diferentes características (en grado de evolución o madurez, particularmente) sobre las cantidades y distribuciones de biomarcadores específicos.

b) Inferir a partir del análisis de biomarcadores el medioambiente de deposición, el origen de la materia orgánica sedimentaria y sus posibles alteraciones a lo largo de la historia térmica del sedimento.

c) Caracterizar desde el punto de vista químico estructural las fracciones geopoliméricas (asfaltenos y kerógeno) y evaluar las diferencias entre ellas para tratar de aportar alguna información a la elucidación de sus vías de formación, objeto actualmente de controversia. Para la reevaluación de estos conceptos se consideró prioritaria la aplicación de las más modernas aproximaciones analíticas en técnicas destructivas y no destructivas.

d) Revisar el estado actual de conocimientos sobre la geoquímica de pizarras bituminosas a la luz del renovado interés por

este tipo de sustratos que se aprecia en los últimos años, incluyendo la revisión de las nuevas técnicas instrumentales y los nuevos esquemas analíticos que son necesarios para estudiar las diferentes formas complejas de materia orgánica que contienen en general las muestras geológicas.

III.- MATERIAL Y METODOS

III.- MATERIAL Y METODOS

III.1.- DESCRIPCION DE LA CUENCA DE PUERTOLLANO Y DE LOS PUNTOS DE MUESTREO.

La cuenca de Puertollano (Ciudad Real) es el depósito de pizarras bituminosas más importante de España. Estas pizarras bituminosas fueron explotadas desde 1877 para la obtención de aceites minerales por destilación y están asociadas a carbones de alta volatilidad. Por motivos económicos se dejaron de extraer en 1964, aunque aún permanecen suficientes reservas que podrían ser explotadas cuando el previsible progresivo aumento del precio del petróleo lo haga rentable.

En la Figura III.1 se muestra la localización de la cuenca y

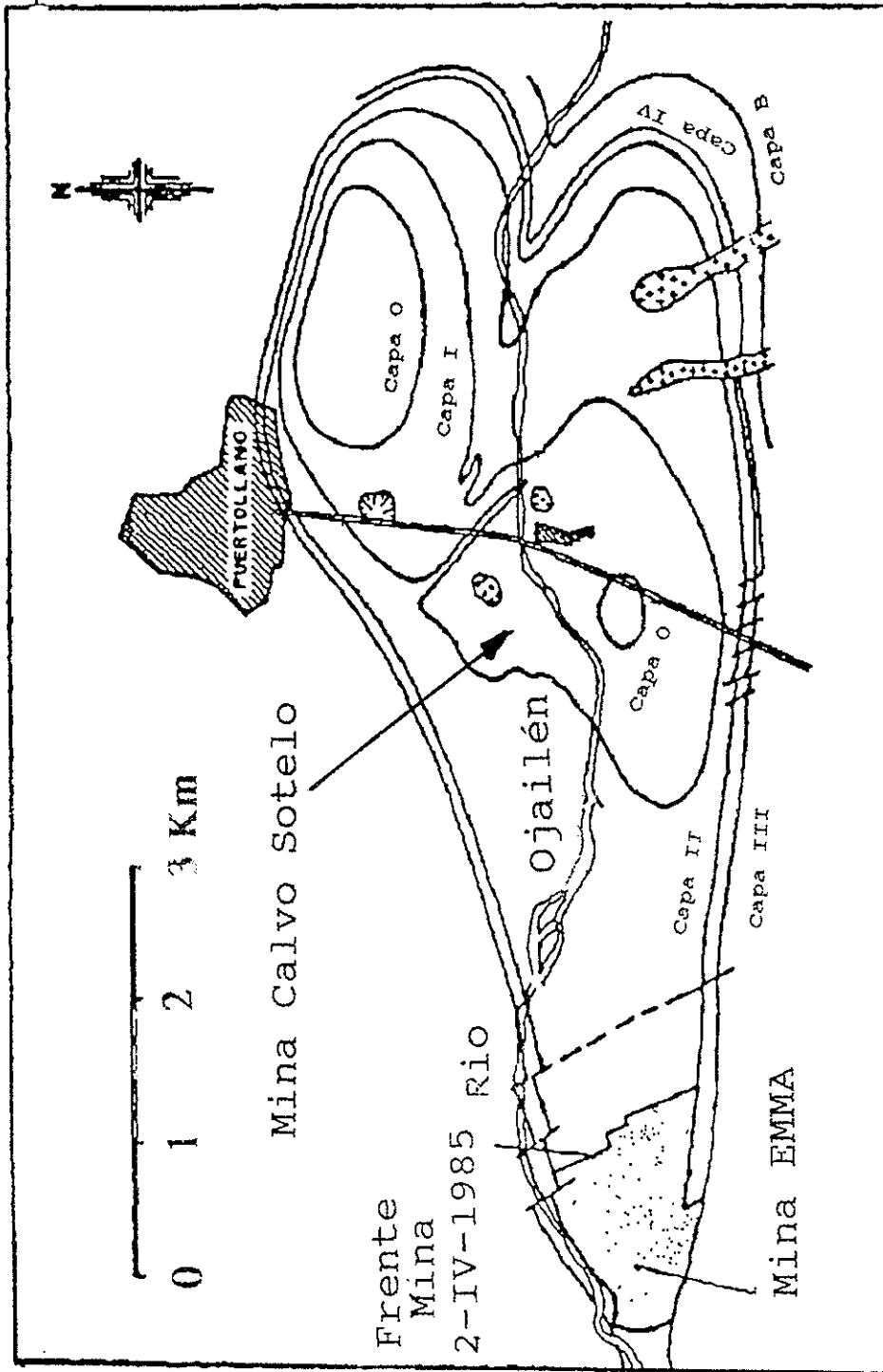


Figura III.1.- Mapa de la cuenca de Puertollano con señalización de las principales capas de carbón y pizarra bituminosa. Localización de las zonas de muestreo.

el trazado de las principales capas de carbón y pizarra bituminosa. Las características geológicas de la cuenca fueron descritas en primer lugar por Alvarado y Puget (1931) en base a un sondeo de 550 metros que permitió registrar la posición de los carbones y obtener datos de los rendimientos en crudo de las principales capas de pizarras bituminosas.

La capa B de pizarras bituminosas, que es la más potente de todas, fue explotada para obtener combustible en la mina Calvo Sotelo con rendimientos de 120 l/t. Las reservas estimables ascienden a $1.8 \cdot 10^8$ toneladas de las cuales prácticamente la mitad serían susceptibles de ser explotadas a cielo abierto, del mismo modo que se extrae el carbón actualmente.

La cuenca tiene un rumbo este-oeste y se extiende en 15 km aproximadamente con una anchura máxima de 4,3 km. Está dividida por el anticlinal del río Ojailén en dos sinclinales menores (Ovalo Norte y Ovalo Sur) con buzamientos que no exceden los 10° . El Ovalo Sur funcionó como depocentro antes de que se unieran los dos y la sedimentación se extendiera a un área que debió de ser mucho mayor que la actualmente reconocida.

Detalles más recientes sobre la situación geológica de la cuenca han sido descritos por Wagner (1985), quien la data como del Estefaniense (B) Superior en función de su abundante flora. En la Figura III.2 se muestra la sucesión estratigráfica de la cuenca en el Estefaniense superior, en la que están señaladas las tres capas más

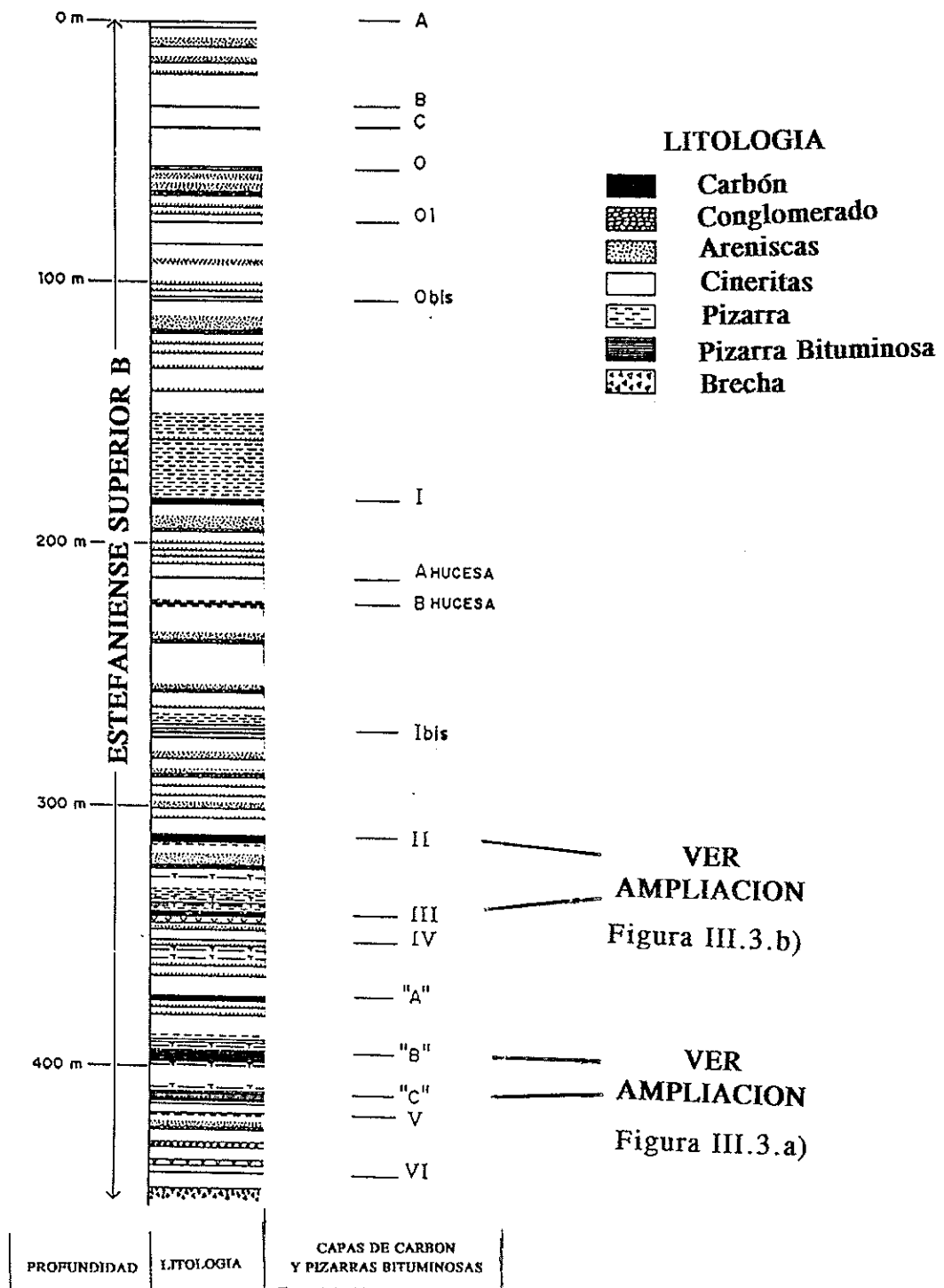


Figura III.2.- Sucesión estratigráfica de la cuenca en el Estefaniense superior, en la que están señaladas las tres capas más importantes de pizarras bituminosas (A, B y C) y las capas más importantes de carbón.

importantes de pizarras bituminosas (A, B y C) y las capas más importantes de carbón. En la Figura III.3 se muestra al detalle la zona donde se realizaron los muestreos. Las facies de la cuenca son continentales comenzando por un abanico aluvial proximal en el paleovalle del Ovalo Sur (que se depositó encima de un coluvión de pizarra meteorizada). Después vinieron facies lacustres con influencias fluviales y turberas asociadas. Las facies lacustres predominan y el ambiente reductor del hipolimnion en sus casos extremos llevaría a acumulaciones de fangos muy ricos en materia orgánica (Wallis, 1983), que llegarían a formar pizarras bituminosas en la parte inferior de la sucesión estratigráfica (Capas C, B y A, en sentido ascendente). Estas capas incluyen restos de peces, a veces en extraordinario estado de preservación, identificados por Forey y Young (1985) como pertenecientes a tiburones de agua dulce, *Acantodios* y *Actinopterigios*. Las capas de carbón se formaron como zonas pantanosas, de turbera, marginales de las áreas lacustres y su formación terminó, por regla general, como consecuencia de una inundación lacustre. Un ejemplo claro es la capa III de carbón, cuyos estratos de techo incluyen una pizarra bituminosa de baja ley que también hemos seleccionado para su estudio (EMMA 3). El ejemplo más llamativo se encuentra a techo de la Capa I, a la que sigue un intervalo grande de lutitas laminadas lacustres. En gran parte de la sucesión estratigráfica se ven secuencias deltáicas rellenando los lagos sucesivos, pero en la parte más superior cerca

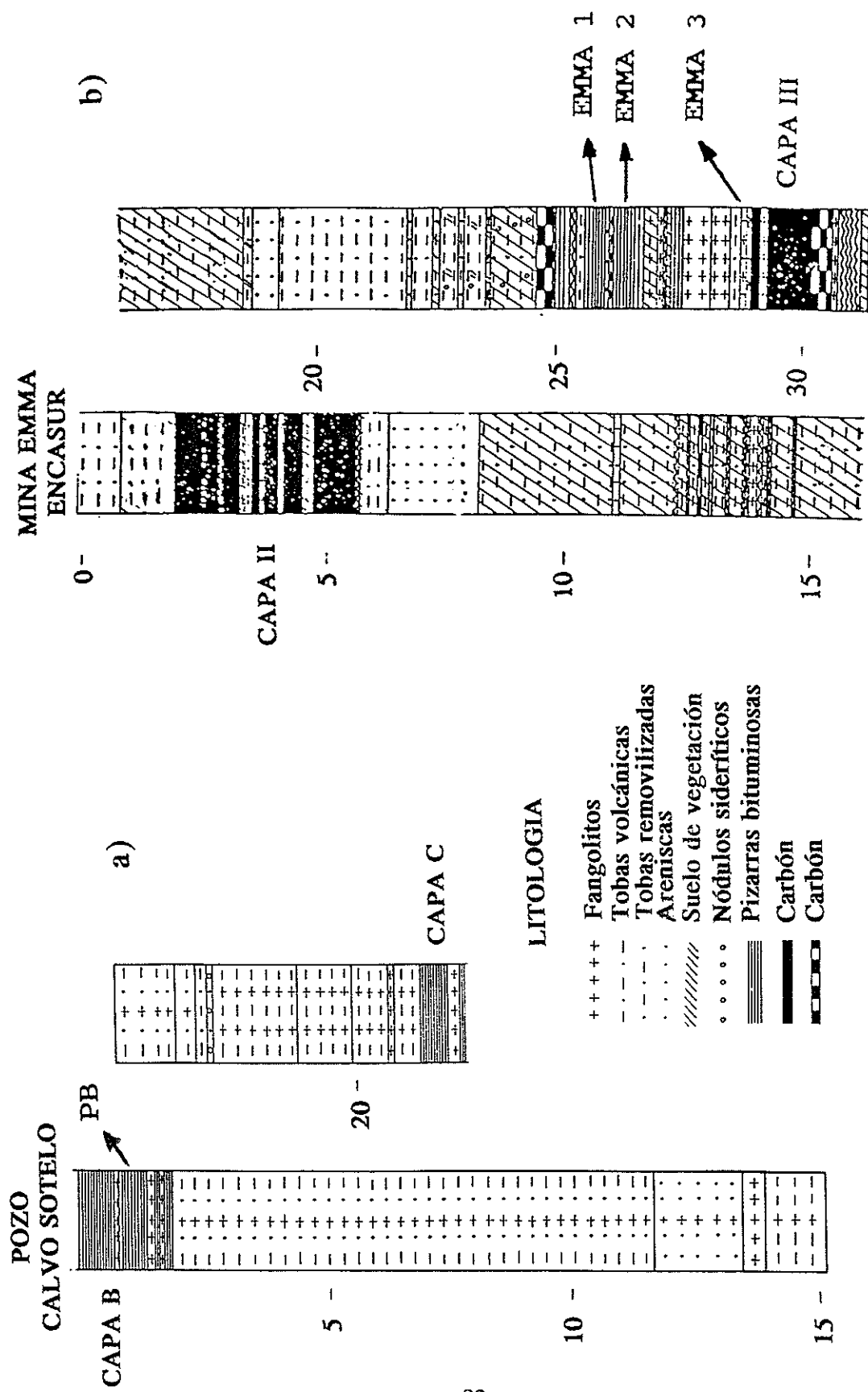


Figura III.3.- Ampliación de la zona estratigráfica donde se realizaron los muestreos.

de la capa 0, ya aparecen canales fluviales de cierta entidad.

Las muestras seleccionadas para nuestro trabajo fueron cuatro, la primera de ellas tomada en la mina Calvo Sotelo corresponde a la Capa B de pizarras bituminosas y la hemos denominado por las siglas PB. Las otras tres pizarras se tomaron en la mina Emma que en la actualidad es explotada a cielo abierto para la obtención de los carbones de las capas II y III. La localización de las muestras se recoge en la Figura III.3, y han sido designadas respectivamente como EMMA 1, EMMA 2 y EMMA 3.

III.2.- PREPARACION DE LAS MUESTRAS PARA EL ANALISIS.

En primer lugar se eliminaron las capas más superficiales para minimizar al máximo las contaminaciones derivadas del proceso de muestreo. Seguidamente las muestras de pizarra se molieron en un molino de anillos y se pasaron a través de un tamiz de 0.2 mm de luz de malla, suficiente para garantizar la homogeneización de las muestras, aumentar la superficie de contacto y el rendimiento de las extracciones.

III.3.- FRACCIONAMIENTO DE LA MATERIA ORGANICA.

El protocolo seguido para la extracción y fraccionamiento de la materia orgánica de las muestras de pizarra se resume en el

esquema de la Figura III.4. Las muestras se extrajeron con tolueno/metanol (3:1) en un equipo Soxhlet de 500 cc de capacidad, cambiándose periódicamente la mezcla hasta completar 200 horas de extracción. Los sucesivos extractos se evaporaron conjuntamente a sequedad a presión reducida obteniéndose los respectivos bitúmenes.

III.3.1.- SEPARACION DE MALTENOS Y ASFALTENOS.

Los bitúmenes se disolvieron en la mínima cantidad posible de cloroformo (1-2 ml) y se les agregó un volumen 30 veces superior de *n*-pentano. Se mantuvieron 24 horas a refrigeración y se centrifugaron para separar el precipitado de asfaltenos, que posteriormente se lavaron dos veces con *n*-pentano. Los lavados y filtrados obtenidos se unieron y evaporaron a sequedad obteniéndose los maltenos.

III.3.2.- SEPARACION CROMATOGRAFICA DE LOS MALTENOS.

Los maltenos se dividieron en diversas subfracciones por cromatografía en columna de Florisil, eluyendo secuencialmente con *n*-hexano y la mezcla (80:20) de *n*-hexano y diclorometano, para obtener por separado las fracciones de hidrocarburos saturados y aromáticos, respectivamente.

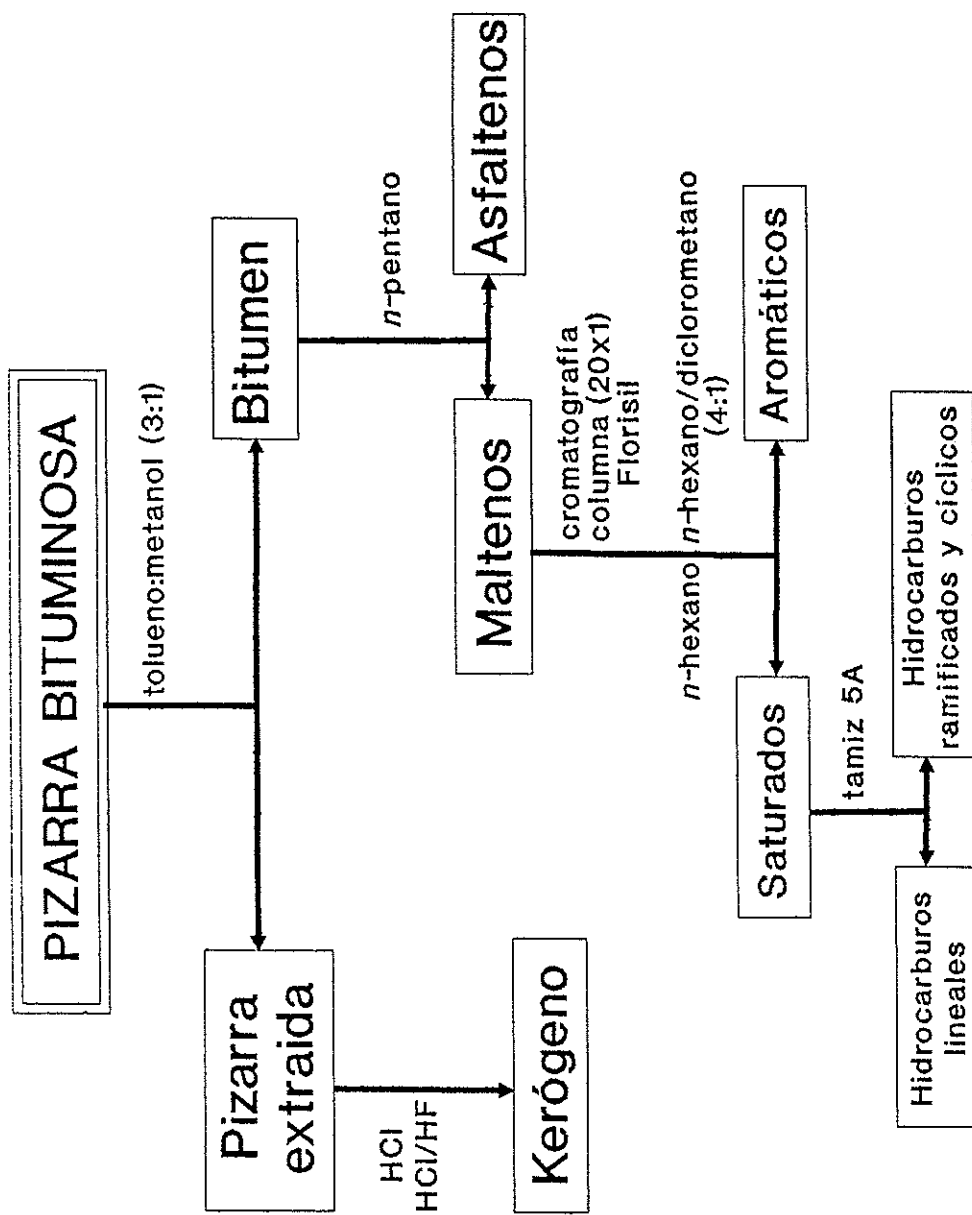


Figura III.4.- Protocolo de fraccionamiento de la materia orgánica en las muestras estudiadas.

III.3.3.- ENRIQUECIMIENTO EN HIDROCARBUROS CICLICOS Y RAMIFICADOS.

Las fracciones de hidrocarburos saturados se disolvieron en isooctano, se les añadió tamiz molecular de 5 Å y se calentaron a reflujo durante 3 horas. El tamiz se separó por filtración y los filtrados, enriquecidos en hidrocarburos ramificados y cíclicos, se evaporaron a sequedad.

Otro procedimiento seguido para el enriquecimiento de las fracciones de hidrocarburos cíclicos y ramificados fue el siguiente: se disolvieron los hidrocarburos en tolueno/metanol (20 ml, 3:1 v/v) y se les agregó 5 ml de urea saturada en metanol manteniéndose a refrigeración durante 24 horas. Los aductos formados entre los hidrocarburos ramificados y la urea se separaron por filtración. Los filtrados se lavaron 3 veces en agua destilada utilizando un embudo de decantación para la separación de las dos fases. Las fases orgánicas enriquecidas en hidrocarburos ramificados se evaporaron a sequedad a presión reducida.

III.3.4.- SEPARACION DEL KEROGENO.

Los residuos de las extracciones en Soxhlet se secaron y se trataron con HCL 1N para eliminar los carbonatos. El residuo descarbonatado se trató con una mezcla HCl:HF (1:1 v/v) en cápsula de teflón y se mantuvo a 65°C hasta evaporación del líquido. Este

tratamiento se repitió una segunda vez y a continuación se lavaron repetidamente los residuos y se dializaron con agua destilada.

Todos los disolventes orgánicos empleados para las extracciones fueron bidestilados sobre material de vidrio y su pureza se comprobó por cromatografía de gases.

III.4.- TÉCNICAS UTILIZADAS EN LA CARACTERIZACIÓN DE BIOMARCADORES Y GEOPOLÍMEROS.

III.4.1.- TÉCNICAS CROMATOGRAFICAS.

III.4.1.1.- Cromatografía de Gases.

Con ligeras modificaciones según el tipo de muestra analizada, el procedimiento estándar seguido incluye la utilización de columnas capilares de sílice fundida de 20 y 25 m de longitud con diámetros internos de 0.35 mm y 0.2 mm respectivamente, impregnadas de OV-101. Las columnas se instalaron en cromatógrafos de gases Hewlett-Packard mod. 5730A, 5890 y Varian 3300, utilizando dos detectores: el de ionización de llama (FID, *flame ionization detector*) y el fotométrico de llama (FPD, *flame photometric detector*). El conjunto de parámetros cromatográficos seleccionados se recoge en la Tabla III.1.

Tabla III.1.- Parámetros del cromatógrafo de gases

Flujo de gas portador (N ₂)	1 ml/min
Modalidad de inyección	splitless
Temp. detector FPD	300°C
Temp. detector FID	300°C
Temp. portal de inyección	300°C
Purga del septum	2 ml/min
Temp. inyección	50°C
Temp. inicial T(1)	100°C
Velocidad hasta T(1)	32°C/min
Tiempo a T(1)	0 min
Temp. final T(2)	300°C
Tiempo a T(2)	15 min
Velocidad hasta T(2)	6°C/min

III.4.1.2.- Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas. (GC-MS).

Para la separación e identificación de los componentes individuales se usó un sistema cromatógrafo de gases/espectrómetro de masas/computador Hewlett-Packard mod. 5988A, manteniendo las mismas condiciones cromatográficas citadas anteriormente. Como gas portador se usó Helio a un flujo de 1 ml/min. La fuente iónica

trabajó en el modo de impacto electrónico (EI) a una energía de 70 eV, con un rango de masas de 40 a 600 uma.

La identidad de cada componente se determinó por comparación de sus espectros de masas con los de sustancias patrones inyectadas en las mismas condiciones, con los existentes en Tablas (EPA/NIH Mass Spectral Data Base) y en las librerías del ordenador (Wiley y NBS Spectra) o con espectros publicados anteriormente en la bibliografía. Las series homólogas se analizaron mediante la técnica de monitorización del ión simple (SIM, single ion monitoring). La técnica SIM consiste en monitorizar en el espectrómetro de masas sólo ciertos fragmentos característicos de determinadas clases de compuestos, aumentando considerablemente la sensibilidad del análisis.

En aquellas ocasiones donde los espectros de masas no presentaban los iones moleculares o eran muy débiles, se recurrió a la ionización por métodos químicos, usando metano como gas reactante a la presión de 1 Torr.

Metilación con diazometano.

Se utilizó para metilar los grupos carboxílicos de ácidos grasos. Para ello se pasó diazometano etéreo producido "in situ" por una suspensión de la muestra a metilar en metanol hasta que tomó color amarillento. El diazometano se preparó haciendo reaccionar N-metil-N-nitroso-p-toluensulfonamida (diazal) con dietilenglicol-

monometil-éter (carbitol) en un tubo de ensayo en medio alcalino. El proceso se repitió varias veces para asegurar una metilación completa de la muestra.

Silanización con N,O-bis-(trimetilsilil)-trifluoroacetamida (BSTFA).

Se utilizó para silanizar los grupos -OH de alcoholes. A la muestra a derivatizar se le añadió 0.5 ml. de BSTFA y se agitó hasta disolución. Luego se calentó a 75°C durante 20 minutos, se evaporó la mezcla y se redisolvió en cloroformo para inyectarla en el cromatógrafo.

III.4.1.3.- Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas-Espectrometría de Masas (GC-MS/MS).

Para la separación e identificación de mezclas muy complejas de isómeros se recurrió a la cromatografía de gases acoplada a un Espectrómetro de Masas de Triple Cuadrupolo Finnigan MAT TSQ 70. La separación cromatográfica se realizó según los parámetros mostrados anteriormente. La fuente iónica operó en el modo de impacto electrónico (EI) a una energía de 70 eV. Los iones seleccionados en el primer cuadrupolo, normalmente correspondientes a los iones moleculares de los compuestos a determinar, pasaron a la celda de colisión (segundo cuadrupolo), donde después de una nueva fragmentación por colisión con un gas inerte (Ar), los nuevos fragmentos formados se separaron en el tercer cuadrupolo.

III.4.2.- ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR DE ^{13}C EN ESTADO SOLIDO (CP\MAS-NMR de ^{13}C).

Los espectros de NMR de ^{13}C se obtuvieron a partir de muestras sólidas liofilizadas, en un espectrómetro Bruker CXP 300 a 75.4 MHz, bajo condiciones de polarización cruzada y rotación al ángulo mágico (CP\MAS, cross polarization and magic angle spinning). El intervalo entre pulsos fue de 5 s, y el tiempo de contacto de 1 ms. Para cada espectro se acumularon 1000 ciclos. La anchura del barrido fue de 31.25 KHz y la del filtro de 37.5 KHz. El tiempo de adquisición fue de 0.016 s. La frecuencia de rotación del rotor al MAS se varió entre 4.3 y 5.08 KHz, y se empleó un portador de muestras estándar de doble cavidad. En los rotores (cilindros de óxido de circonio) se dispusieron cantidades variables entre 200 y 500 mg de muestra. Las escalas de desplazamiento químico se calibraron con glicina.

III.4.3.- ANALISIS DEGRADATIVOS TERMICOS.

III.4.3.1.- Pirólisis Rock-Eval.

El sistema usado fue un Delsi Instruments, modelo "Oil Show Analyzer" (OSA). El analizador dispone de tres ciclos de análisis ya programados, y un cuarto de libre programación. Las muestras se analizaron en forma seca con un mismo tipo de ciclo, y se adoptaron

las condiciones optimizadas en ensayos anteriores (Alcántara *et al.*, 1985). El OSA es una versión mejorada de los analizadores Rock Eval, y como todos ellos realiza dos tipos de análisis, de los que se obtienen parámetros de diferente significación:

a) Ciclo de Pirólisis. En primer lugar se purgaron, por volatilización a baja temperatura (aprox. 90°C), los hidrocarburos gaseosos libres mediante un flujo de Helio caliente obteniéndose el pico S_0 en un detector FID. A continuación se introdujo el crisol en el horno de pirólisis y mediante un gradiente creciente de temperaturas se obtuvieron los picos S_1 (liberación de hidrocarburos ligeros a 250-350°C) y S_2 (cracking térmico del kerógeno de 300 a 600°C).

b) Ciclo de oxidación de la materia orgánica residual. Tras el ciclo de pirólisis se llevó el crisol a un horno de oxidación y se calentó a 600 °C durante 5 minutos en atmósfera de aire. El CO_2 generado se retuvo en un tamiz molecular. Después se purgó y calentó dicho tamiz para eliminar el SO_2 , y se detectó sólo el CO_2 por un detector de conductividad térmica (TCD).

En el esquema de la Figura III.5, se muestran los principios del aparato OSA, los ciclos de análisis y el tipo de registro que se obtiene.

Los diferentes parámetros tienen la siguiente significación:

- S_0 : el área de la curva S_0 da la cantidad de gas contenida en la muestra de roca en mg de hidrocarburos/g de roca

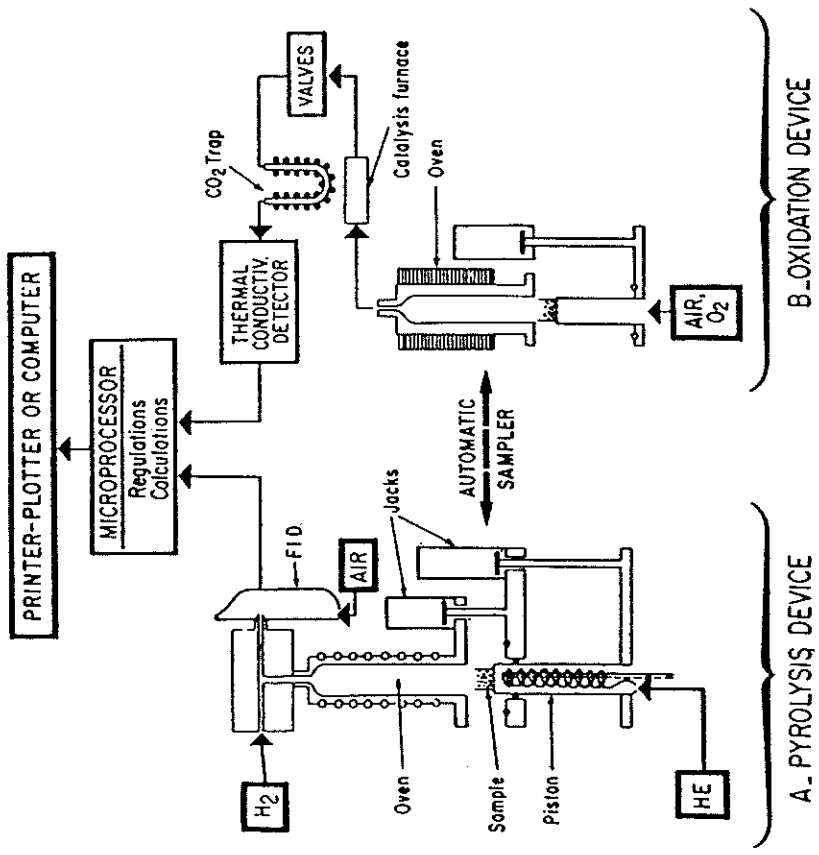
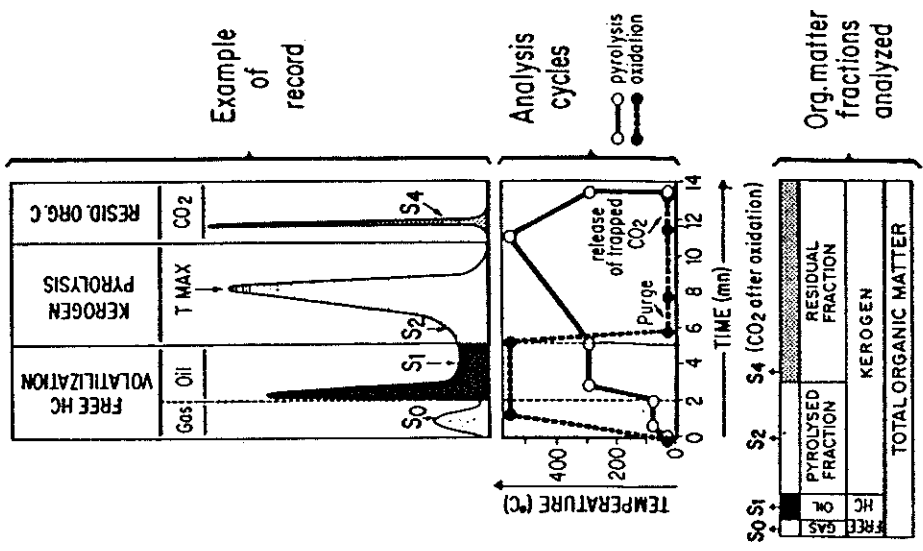


Figura III.5. - Esquema de funcionamiento del analizador Rock-Eval OSA. Ciclos de análisis y tipo de registro que se obtiene en el analizador.

- S_1 : cantidad de aceite en mg de hidrocarburos/g de roca
- S_2 : cantidad de hidrocarburos producidos por conversión térmica del kerógeno en mg de hidrocarburos/g roca.
- S_4 : mg CO_2 orgánico producido por oxidación catalítica de la materia orgánica residual/g roca.
- $T_{max.}$: valor en $^{\circ}C$ al que corresponde la máxima generación de hidrocarburos a partir del kerógeno.
Está relacionada con la curva S_2 .

Mediante relaciones entre estos parámetros se definen una serie de parámetros adicionales e índices de producción:

- * índice de producción de gas (GPI) = $S_0/S_0 + S_1 + S_2$
- * índice de producción de aceite (OPI) = $S_1/S_0 + S_1 + S_2$
- * índice de producción total (TPI) = $S_0 + S_1/S_0 + S_1 + S_2$
- * índice de hidrógeno (HI) = $100S_2/TOC$
- * materia orgánica total (TOC): Corresponde a la suma del C orgánico residual (CO_2 del pico S_4) y el C orgánico pirolizado (82% de $S_0 + S_1 + S_2$). El CO_2 resultante del cracking de kerógeno durante pirólisis no se tiene en cuenta al evaluar TOC.

III.4.3.2.- Pirólisis flash-cromatografía de gases (Py-GC) y Pirólisis flash-cromatografía de gases/espectrometría de masas (Py-GC-MS).

La pirólisis se realizó a una temperatura de $800^{\circ}C$ durante 20 segundos en un sistema Pyroprobe CDS 122, que consiste en un hilo

de Platino en espiral calentado por una corriente eléctrica. Las muestras (1-3 mg) se colocan en un tubo de cuarzo, que a su vez se introduce en la espiral de Platino. Los pirolizados se separaron rápidamente de la interfase caliente (300°C) por una corriente de Helio y se introducen en una columna capilar de 30 m. x 0.25 mm. de sílice fundida impregnada con DB-5. Para la Py-GC se utilizó un Varian 3300 equipado con los detectores de ionización de llama (FID) y fotométrico de llama (FPD) y para las Py-GC/MS un equipo HP 5988 A. Las condiciones cromatográficas incluyen el mantenimiento de la columna a -25°C durante 4 min y un aumento posterior de la temperatura a 300°C a razón de 4°C/min. Como gas portador se usó Helio a 1 ml/min.

III.4.3.3.- Pirólisis flash-cromatografía de gases de alta temperatura.

La pirólisis se llevó a cabo según las condiciones reseñadas anteriormente. Sin embargo, en este caso la unidad de pirólisis se montó sobre el bloque de inyección del cromatógrafo de gases Varian 3300 equipado con una columna especial de sílice fundida recubierta por aluminio (HT-5) capaz de soportar altas temperaturas. La interfase con el cromatógrafo se mantuvo a 350°C y el inyector y el detector a una temperatura máxima de 400°C. La columna estuvo a una temperatura de -25°C durante 4 min., llevándose a 400°C a razón de 8°C/min, manteniéndose esta temperatura final durante 20 min. Como gas portador se utilizó Nitrógeno a un flujo

de 1ml/min.

III.4.3.4.- Pirolisis-metilación.

Las muestras de kerógenos y asfaltenos se mezclaron íntimamente con una mínima cantidad de hidróxido de tetrametilamonio (TMAH) (solución acuosa al 25%) y se dejó en un desecador toda la noche. El sirupo obtenido se puso sobre la lámina de Platino del sistema Pyroprobe CDS 122 y se calentó a 500°C durante 10 s. Los productos de pirólisis se recogieron en una trampa de N₂ líquido y se disolvieron en cloroformo. La separación de los productos de pirólisis se realizó en una columna de sílice fundida (SE-52; J&W Scientific) de 25 m. de longitud y 0.2 mm de diámetro interior, según las condiciones cromatográficas y de espectrometría de masas referidas anteriormente.

III.4.4.- ANALISIS DEGRADATIVOS QUIMICOS.

III.4.4.1.- Oxidación con permanganato en medio alcalino.

La oxidación con permanganato se realizó en un matraz aforado de tres bocas sobre un calentador/agitador magnético. Las muestras (200 mg) se suspendieron en 25 ml de KOH 1% y a continuación se le añadió 10-15 ml. de KMnO₄ a razón de 0.1 ml/minuto. La reacción se llevó a cabo a dos temperaturas diferentes: temperatura ambiente y 80°C. Una vez realizada la

oxidación, el permanganato residual se acidificó (HCl 1N) y se redujo con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$. El producto de la oxidación se extrajo con acetato de etilo en un embudo de decantación. La fase orgánica se secó con Na_2SO_4 y después se filtró, se evaporó y finalmente se metiló con diazometano antes de su análisis por GC y GC-MS.

III.4.4.2.- Oxidación con tetróxido de Rutenio.

La oxidación con tetróxido de Rutenio se llevó a cabo según el método mejorado y miniaturizado desarrollado recientemente (Standen *et al.*, 1991; Boucher *et al.*, 1991). En un vial de 1 ml se añadieron 10 mg de muestra, $100\mu\text{l}$ de estándar interno (ácido 2-octadecilbutanedioico), 0.3 ml de una solución de ácido peryódico al 50% en agua y 0.2 ml de una mezcla de acetonitrilo:cloroformo (2:1) conteniendo 2.5 mg de $\text{RuO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$. La mezcla se agitó durante 24 horas a temperatura constante (35°C). Finalmente se le añadió 0.1 ml de una mezcla de éter dietílico:diclorometano (4:1) para parar la reacción. La capa orgánica se filtró en una columna pequeña rellena de celita y se centrifugó. Los productos de oxidación finales se concentraron y se derivatizaron con diazometano y BSTBA antes de su análisis por GC y GC-MS.

IV.- RESULTADOS Y DISCUSION

IV.- RESULTADOS Y DISCUSION

IV.1.- CARACTERIZACION GLOBAL DE LAS MUESTRAS.

En la Tabla IV.1 se presentan los valores de diversos parámetros geoquímicos de uso habitual que, junto a los rendimientos de extracción de bitúmenes, suministran una primera aproximación a la naturaleza de las pizarras desde el punto de vista geoquímico-orgánico.

Es necesario señalar la probable inexactitud de algunos de los datos, principalmente los valores de $O + S_{ORG}$ que han sido calculados por diferencia. Asimismo se observaron faltas de reproducibilidad en algunas determinaciones debido a interferencias de las cenizas, que particularmente en el caso de las pizarras EMMA 1 y EMMA 3

Tabla IV.1.- Características geoquímicas y rendimientos de extracción de las muestras estudiadas.

	PIZARRA PB	PIZARRA EMMA 1	PIZARRA EMMA 2	PIZARRA EMMA 3
<u>Análisis Inmediato %</u>				
HUMEDAD	1.6	1.7	2.1	2.2
MATERIA ORGANICA	27.6	14.9	22.5	9.7
CENIZAS	70.8	83.9	75.4	88.0
<u>Análisis Elemental % *</u>				
C	63.4	57.4	63.2	57.3
H	8.0	10.4	9.8	11.5
N	1.4	0.9	1.1	1.0
O + S _{ORG} **	27.1	31.5	25.9	30.2
H/C	1.51	2.18	1.86	2.40
O/C	0.32	0.41	0.30	0.39
<u>Rendimientos de extracción (mg/g roca)</u>				
BITUMEN	9.6	4.1	3.2	2.2
ASFALTENOS	0.1	1.1	1.1	0.4
SATURADOS	3.1	1.1	0.9	0.6
AROMATICOS	1.0	0.4	0.2	0.1

+ libre de humedad y cenizas

** por diferencia

alcanzan contenidos muy elevados.

Las pizarras PB y EMMA 2 presentan los mayores contenidos en materia orgánica pero el rendimiento de extracción de bitúmenes de la primera es el triple de la segunda. Por el contrario, la pizarra PB presenta un bajo contenido en asfaltenos (1.5% del bitumen total), mientras en las EMMAs los contenidos en asfaltenos son bastante elevados (26, 35 y 19% del bitumen total). Este resultado pudiera deberse a la elevada presencia de hidrocarburos de alto peso molecular que coprecipitan con los asfaltenos en su proceso de separación, como posteriormente se discutirá. Las fracciones saturadas y aromáticas representan el 43, 49, 50 y 38% de las fracciones malténicas de las pizarras PB, EMMA 1, EMMA 2 y EMMA 3, respectivamente.

Los datos de análisis elemental sólo pueden interpretarse de una manera muy genérica, sin extraer conclusiones de tipo estructural dada la complejidad de estos materiales. Por esa razón sólo hemos realizado una mínima valoración de los mismos al discutir, más adelante, los datos de las fracciones de kerógenos, mayoritarias en todas las pizarras.

IV.1.1.- PIROLISIS ROCK-EVAL.

En estudios de prospección de petróleos, uno de los objetivos más importantes es reconocer los tipos de roca madre que existen

dentro de las series geológicas, que bajo los efectos de tiempo y temperatura serían susceptibles de producir hidrocarburos.

La composición y la cantidad de hidrocarburos producidos depende del carácter de la materia orgánica originalmente depositada en las rocas así como de su posterior evolución. Esta información puede ser obtenida por análisis físico-químicos del kerógeno, pero estos métodos son largos y costosos y no siempre responden a todas las cuestiones que interesan.

Los parámetros convencionales de la Pirólisis Rock-Eval utilizados, rutinariamente, en prospecciones petrolíferas, son muy útiles para una valoración inicial de las muestras.

En la Tabla IV.2 se presentan los datos del estudio de las muestras por pirólisis Rock-Eval. Las pirólisis se realizaron por duplicado, tomando dos pesos distintos de muestra. Para la discusión de los datos hemos tomado el de menor peso, porque está más cerca de las condiciones de calibración del detector.

Los parámetros S_1 , hidrocarburos liberados hasta 300°C , y S_2 , hidrocarburos liberados hasta 600°C , son muy diferentes en las cuatro muestras estudiadas. La pizarra PB presenta el máximo valor de ambos parámetros y la pizarra EMMA 3 el mínimo.

Una manera semicuantitativa de evaluar la cantidad de hidrocarburos que pueden ser generados por las pizarras, el denominado potencial genético, vendría dado por la suma de los parámetros S_1 y S_2 , expresada en Kg de hidrocarburos por tonelada

Tabla IV.2.- Parámetros de Rock-Eval de las muestras estudiadas.

	Peso	TOC	S ₂	T _{max}	HI	S ₀	S ₁	IPT
PB	101,5	22,98	192,31	440	836	0,0	5,27	0,03
	24,1	29,79	237,39	440	796	0,08	4,89	0,03
EMMA 1	102,5	8,67	61,50	438	709	0,00	0,69	0,01
	25,3	8,80	59,60	439	677	0,03	0,75	0,0
EMMA 2	98,6	11,53	98,33	438	852	0,0	1,81	0,02
	24,9	15,37	107,38	437	698	0,0	1,76	0,02
EMMA 3	102,4	5,81	33,59	438	578	0,0	0,27	0,01
	25,6	4,93	22,03	438	446	0,0	0,35	0,02

peso: mg

TOC: % en peso

S₀, S₁ y S₂: mg de hidrocarburos por gramo de roca

HI: mg de hidrocarburos por gramo de TOC

T_{max}: °C

de roca. El parámetro S_1 representaría la fracción de potencial genético original que se ha transformado en hidrocarburos. El parámetro S_2 indicaría la otra fracción de potencial genético residual que aún no ha generado petróleo. Tissot y Welte, (1984) sugieren que un potencial genético de 2 a 6 Kg/Tm (mg de hidrocarburos por gramo de roca) corresponde a una roca madre moderadamente buena, mientras que los valores superiores a los 6 Kg/Tm corresponden ya a una buena roca madre. El potencial genético de las pizarras PB, EMMA 1, EMMA 2 y EMMA 3 es 242, 60, 109 y 22 mg de hidrocarburos por gramo de roca, respectivamente. Su elevado valor, principalmente en las pizarras PB y EMMA 2, indica la elevada potencialidad genética de estas pizarras.

En todos los casos se trata de muestras muy ricas y relativamente inmaduras. Así, presentan valores muy altos de $S_1 + S_2$ y valores de T_{max} próximas a $440^{\circ}C$, lo que las sitúa próximas a la zona de producción de aceite (ventana del petróleo).

El tipo de materia orgánica puede estimarse y diferenciarse por medio de los diagramas IH- T_{max} . En la Figura IV.1 se muestra el diagrama IH- T_{max} y la ubicación de las muestras en el mismo. Se aprecia que las pizarras corresponden a kerógeno tipo I, excepto la EMMA 3 que contiene kerógeno tipo II, todas ellas próximas a la ventana de generación de petróleo. El tipo I corresponde a kerógeno de origen predominantemente algal, mientras el kerógeno tipo II se relaciona habitualmente con sedimentos marinos.

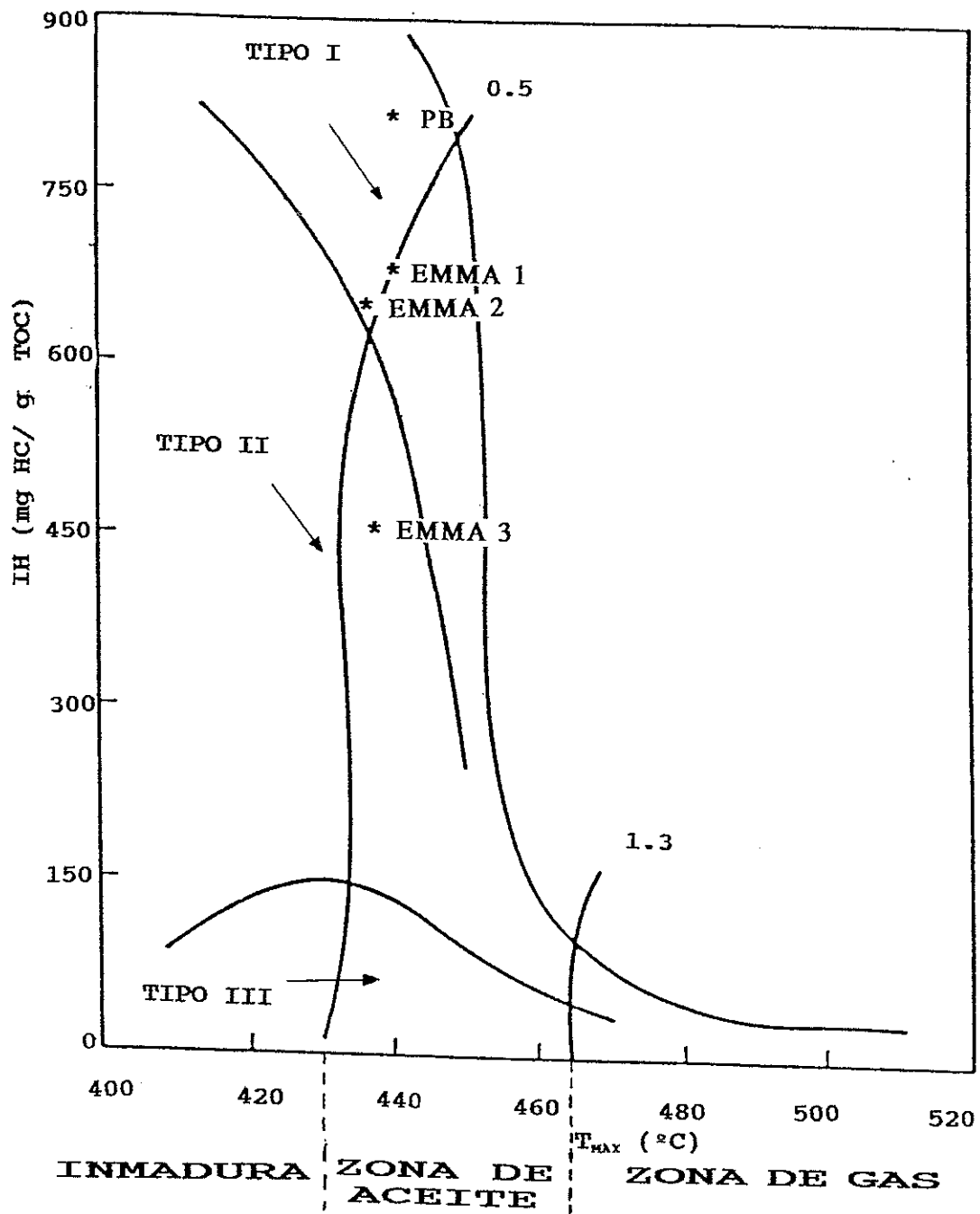


Figura IV.1.- Representación en el diagrama IH- T_{max} de las muestras estudiadas.

IV.2.- ESTUDIO DE LA FRACCION BITUMINOSA.

IV.2.1.- HIDROCARBUROS ALICICLICOS.

Las fracciones de hidrocarburos saturados de todas la muestras están dominados por series de *n*-alcanos desde C₁₃ hasta C₃₅, como muestran los cromatogramas de la Figura IV.2. Las series de *n*-alcanos de las pizarras PB, EMMA 1 y EMMA 2 presentan un ligero predominio de las cadenas de átomos de carbono impares respecto de las pares, con un predominio de los homólogos mayores del C₂₃. En cambio, la EMMA 3 presenta un predominio de los homólogos inferiores al C₂₃ y un máximo en el alcano C₂₁. Aunque esta distribución de alcanos, relativamente uniforme, no permite una clara diferenciación de los diversos aportes, los homólogos inferiores a C₂₃ se han considerado como indicativos de la contribución a la formación del sedimento de derivados de residuos algales o bacterianos (Gelpi *et al.*, 1970), mientras que el origen de los *n*-alcanos mayores de C₂₃, con un ligero predominio de las cadenas de número impar de átomos de carbono, se atribuye al aporte de lípidos de plantas terrestres superiores (Eglinton, 1968; Simoneit, 1978).

Para cuantificar el predominio de los homólogos de número impar de átomos de carbono sobre los de número par se utiliza el denominado índice de preferencia de carbono (IPC), calculado como

el cociente entre la suma de abundancias relativas de los homólogos impares y la suma de las abundancias relativas de los homólogos pares en el mismo rango. El IPC se utiliza normalmente para caracterizar la naturaleza del sedimento y el grado de evolución que éste ha experimentado (Allan y Douglas, 1977). En la Tabla IV.3 se presentan los valores de IPC de las muestras estudiadas, que en todos los casos son ligeramente superiores a la unidad, lo que indica el relativamente bajo nivel evolutivo de estas pizarras. En las EMMAs se observa una disminución en el IPC con la profundidad, lo que indica un aumento en la madurez de las pizarras desde EMMA 1, EMMA 2 a EMMA 3.

En las cuatro fracciones saturadas también se han identificado series de hidrocarburos isoprenoides alicíclicos, principalmente 2,6,10,14-tetrametilhexadecano (Fitano), 2,6,10,14-tetrametilpentadecano (Pristano), 2,6,10-trimetilpentadecano (Norpristano) y 2,6,10-trimetildodecano (Farnesano). En la Figura IV.3 se presentan los espectros de masas del pristano y fitano, caracterizados por los fragmentos m/z 113, 127, 183 y 197, así como los espectros de masas de los alcanos lineales n -C₁₉ y n -C₂₀ a efectos comparativos.

Tanto el pristano (Pr) como el fitano (Fi) provienen mayoritariamente de la cadena de fitol de la clorofila, que en función del ambiente de deposición, puede dar lugar al pristano (ambiente oxidante) o al fitano (ambiente reductor). Los valores de

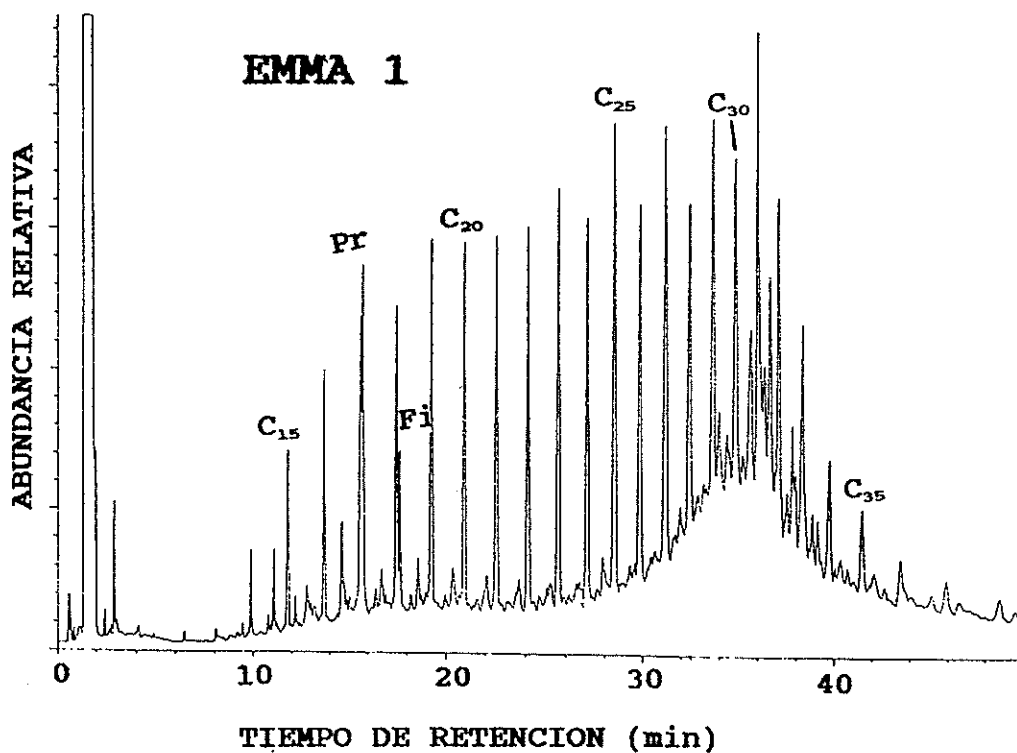
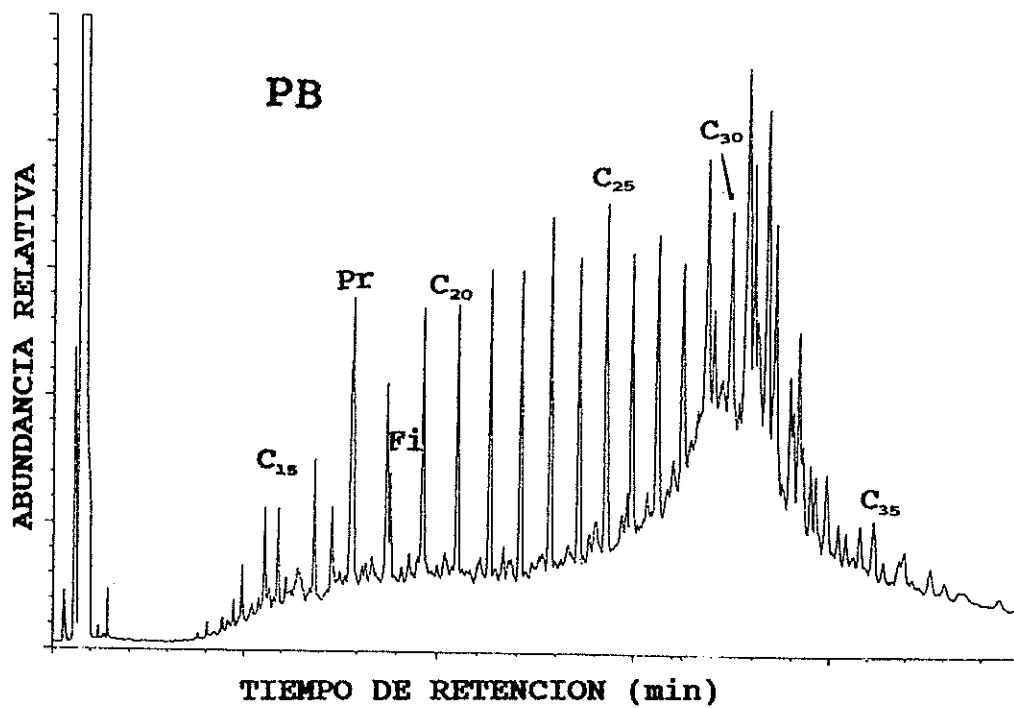


Figura IV.2.- Cromatogramas FID de las fracciones saturadas de las muestras PB, EMMA 1, EMMA 2 y EMMA 3.

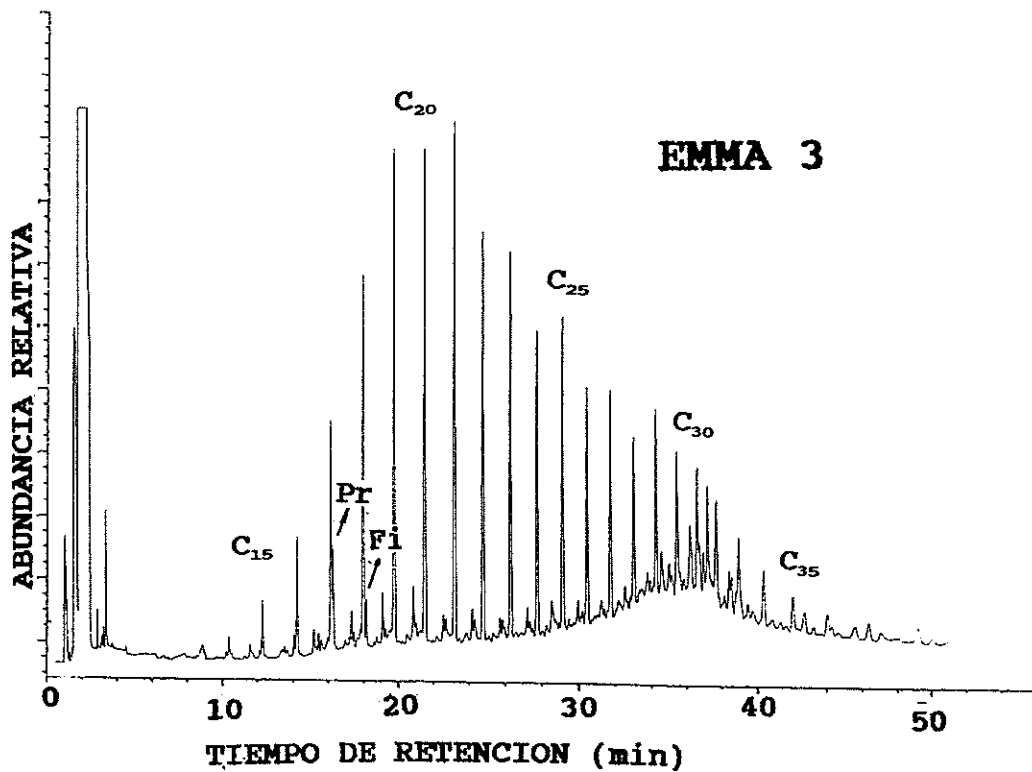
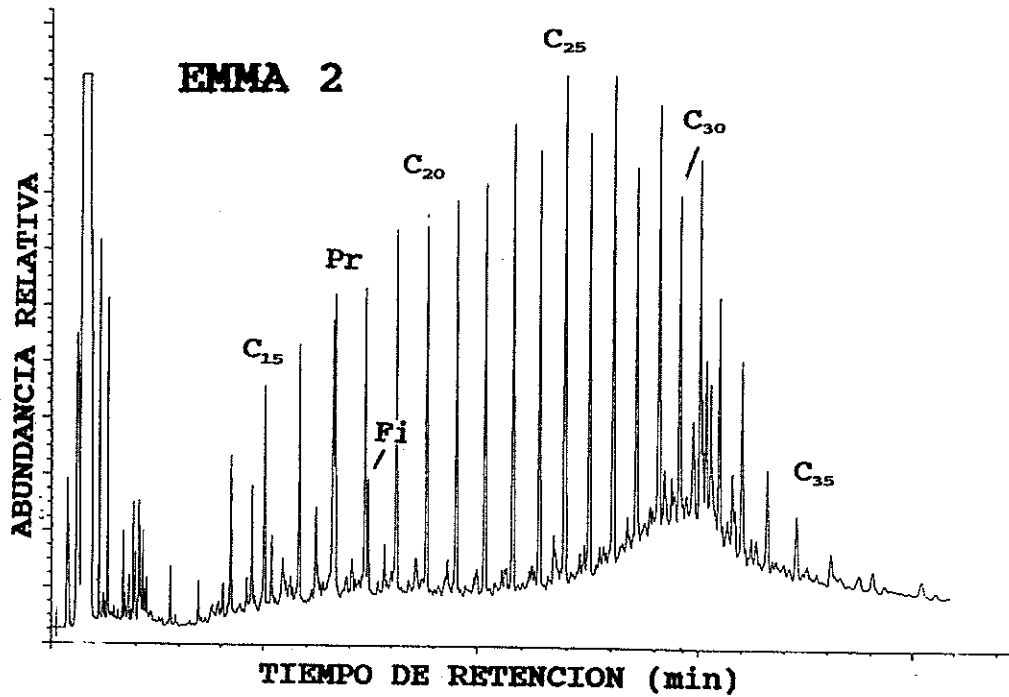


Figura IV.2.- (continuación)

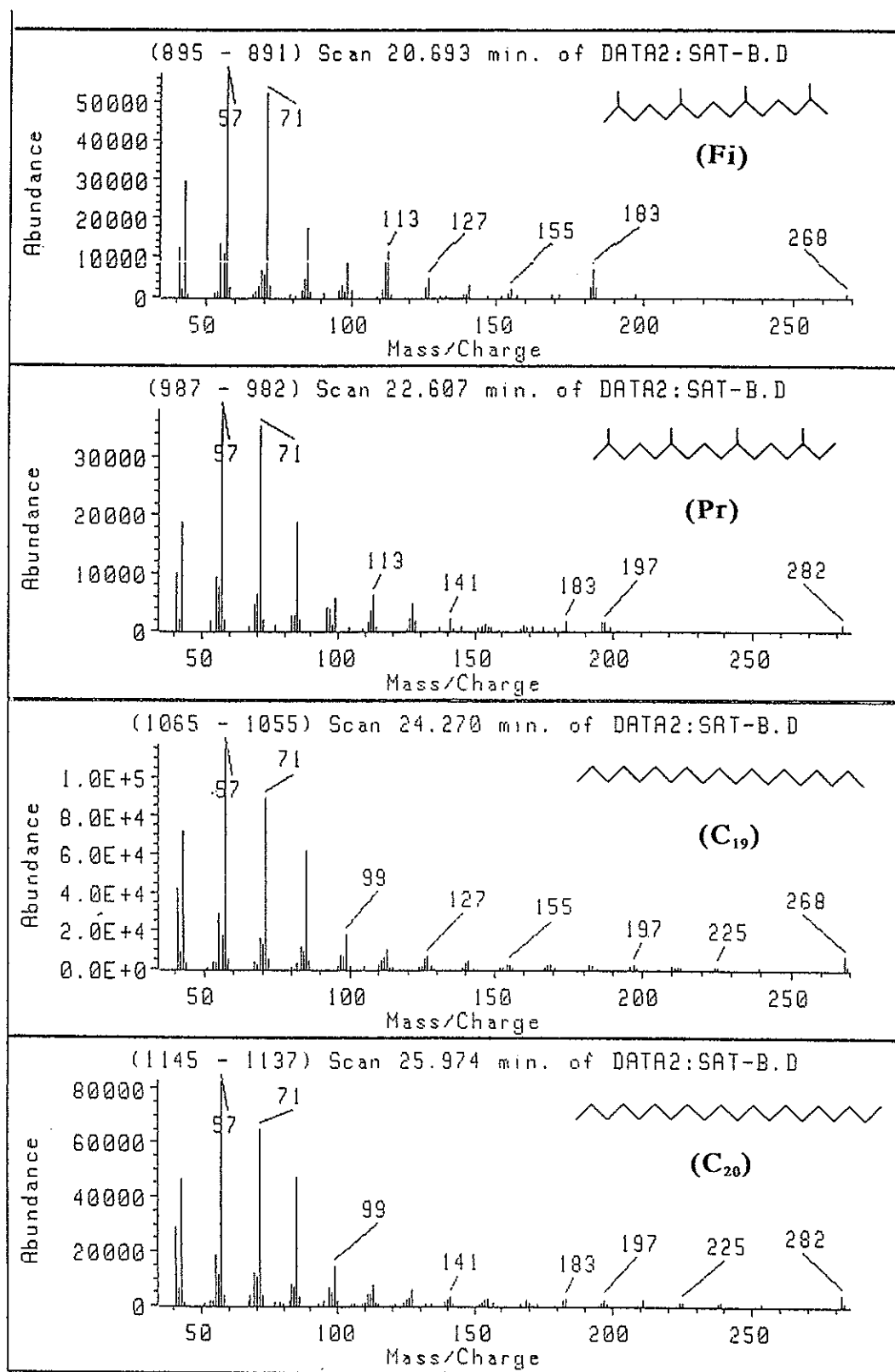


Figura IV.3.- Espectros de masas de 2,6,10,14-tetrametilpentadecano (pristano), 2,6,10,14-tetrametilhexadecano (fitano), nonadecano y eicosano.

la razón Pr/Fi en las muestras (Tabla IV.3) sugiere que estas pizarras pudieron haberse formado en un ambiente poco reductor, tal como es característico de un medio deposicional lacustre (Didyk *et al.*, 1978). Los parámetros Pr/C₁₇ y Fi/C₁₈ que se usan para medir la extensión de la biodegradación en un sedimento (Didyk *et al.*, 1978) presentan valores similares y muy bajos, lo que indica un bajo nivel de biodegradación.

Tabla IV.3.- Parámetros geoquímicos referidos a *n*-alcanos e isoprenoides.

PIZARRA	IPC	Pr/Fi	Pr/C ₁₇	Fi/C ₁₈	C _n Max
PB	1.09	2.8	1.3	0.5	C ₂₃₋₂₅₋₂₇
EMMA 1	1.18	2.2	1.3	0.5	C ₂₃₋₂₅₋₂₇
EMMA 2	1.13	2.7	1.1	0.4	C ₂₃₋₂₅₋₂₇
EMMA 3	1.07	2.1	0.5	0.1	C ₁₉₋₂₀₋₂₁

Diferentes series de metil-alcanos también se detectaron en todas las muestras en un rango de C₁₆ a C₃₂, aunque no ha sido posible identificar claramente todos los isómeros. Los datos cromatográficos muestran claramente un dominio de isómeros *iso*- (2-metilalcanos) y *anteiso*- (3-metilalcanos) sobre los sustituidos en las posiciones intermedias de la cadena. Es importante recalcar que la distribución de los *iso*- y *anteiso*-alcanos es análoga a la de los *n*-alcanos, tal como se ha encontrado anteriormente en muchos

sedimentos antiguos y en petróleos (Klomp, 1986; Fowler y Douglas, 1987; Summons *et al.*, 1988). De las series de metilalcanos con el grupo metilo en posiciones intermedias de la cadena se han detectado prácticamente todos los posibles isómeros ramificados. Algunos de estos alcanos ramificados han sido señalados como característicos de cianobacterias (Shiea *et al.*, 1990; Robinson y Eglinton, 1990). Concretamente el metilheptadecano (C₁₈) con el sustituyente metilo en posiciones C-7 o C-8, se considera como marcador específico de cianobacterias halotolerantes y, por tanto, de ambientes de formación hipersalinos (ten Haven *et al.*, 1988). Sin embargo, las distribuciones observadas en nuestras muestras difieren significativamente de la observada en cultivos de cianobacterias, por lo que su origen debe ser diferente.

IV.2.2.- ALQUILCICLOHEXANOS.

Series de *n*-alquilciclohexanos (C₁₃-C₂₈) y metil *n*-alquilciclohexanos (C₁₈-C₂₈) también se detectaron en las fracciones saturadas de las muestras estudiadas. Las distribuciones de ambas series se identificaron mediante monitorización de los iones característicos *m/z* 83 y 97, respectivamente. Tres tipos de isómeros diferentes, con el grupo metilo en posiciones *orto*-, *meta*- y *para*-, se pudieron observar para la serie de metil *n*-alquilciclohexanos, aunque no ha sido posible identificar claramente todos ellos. En la

Figura IV.4 se muestran los espectros de masas del *n*-tridecil ciclohexano y del metil *n*-tetradecilciclohexano, que presentan picos bases a *m/z* 82,83 y 97 respectivamente.

Se ha sugerido que los alquilciclohexanos de cadena corta pueden provenir de diferentes fuentes, tales como la ciclación de los ácidos grasos de algas (Rubinstein y Strauss, 1979; Hoffman *et al.*, 1987), directamente de ciclohexil ácidos grasos que se encuentran en arqueobacterias termoacidófilas (Suzuki *et al.*, 1981), o de los pigmentos carotenoides, que son componentes universales de la Biosfera (Goodwin, 1976). La distribución de los alquilciclohexanos en las pizarras estudiadas es parecida a la de los *n*-alcanos, de lo que cabe inferir una relación diagenética entre ambas series de compuestos.

IV.2.3.- HIDROCARBUROS SESQUITERPENOIDES.

En la Figura IV.5 se muestran los cromatogramas parciales del ión *m/z* 123, correspondientes a la serie de sesquiterpenos bicíclicos (C_{14} - C_{16}) y diterpenos tricíclicos C_{19} detectados en las fracciones saturadas de las muestras.

En la Tabla IV.4 se presenta la asignación de los compuestos identificados y en la Figura IV.6 se muestran los espectros de masas de los sesquiterpenos. Las diferentes estructuras se determinaron por comparación de sus espectros de masas y tiempos de retención

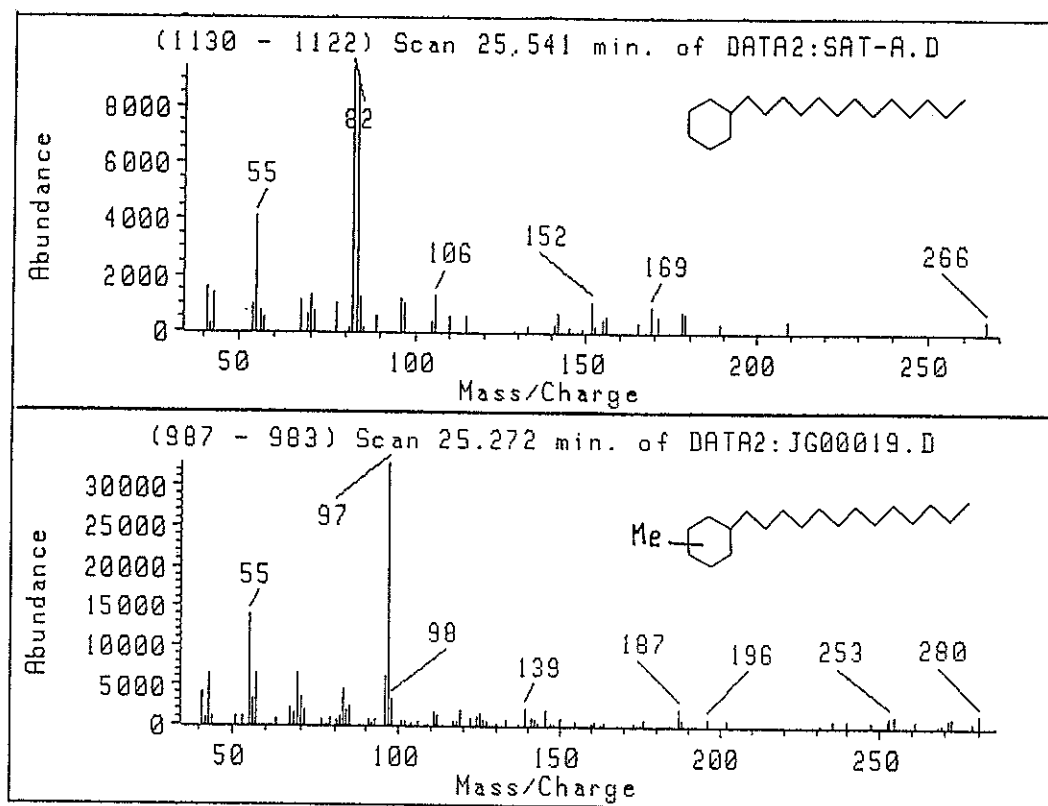


Figura IV.4.- Espectros de masas de *n*-tridecil ciclohexano y *n*-tetradecil metilciclohexano.

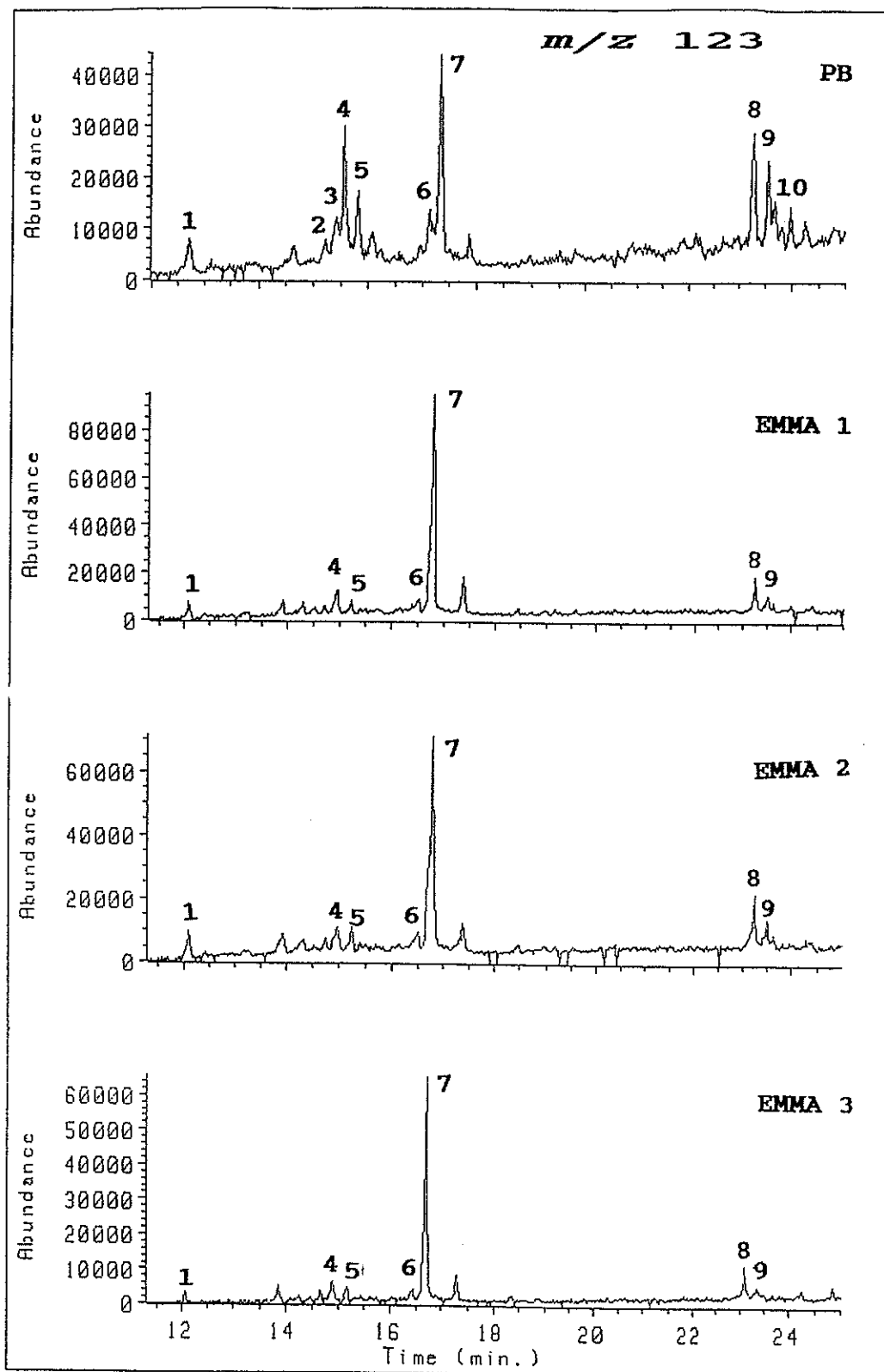


Figura IV.5.- Fragmentograma (m/z 123) correspondiente a los sesquiterpenos bicíclicos (C_{14} - C_{16}) y diterpenos tricíclicos (C_{19}) presentes en las fracciones saturadas de las muestras estudiadas. La identificación de picos cromatográficos se detalla en la Tabla IV.4.

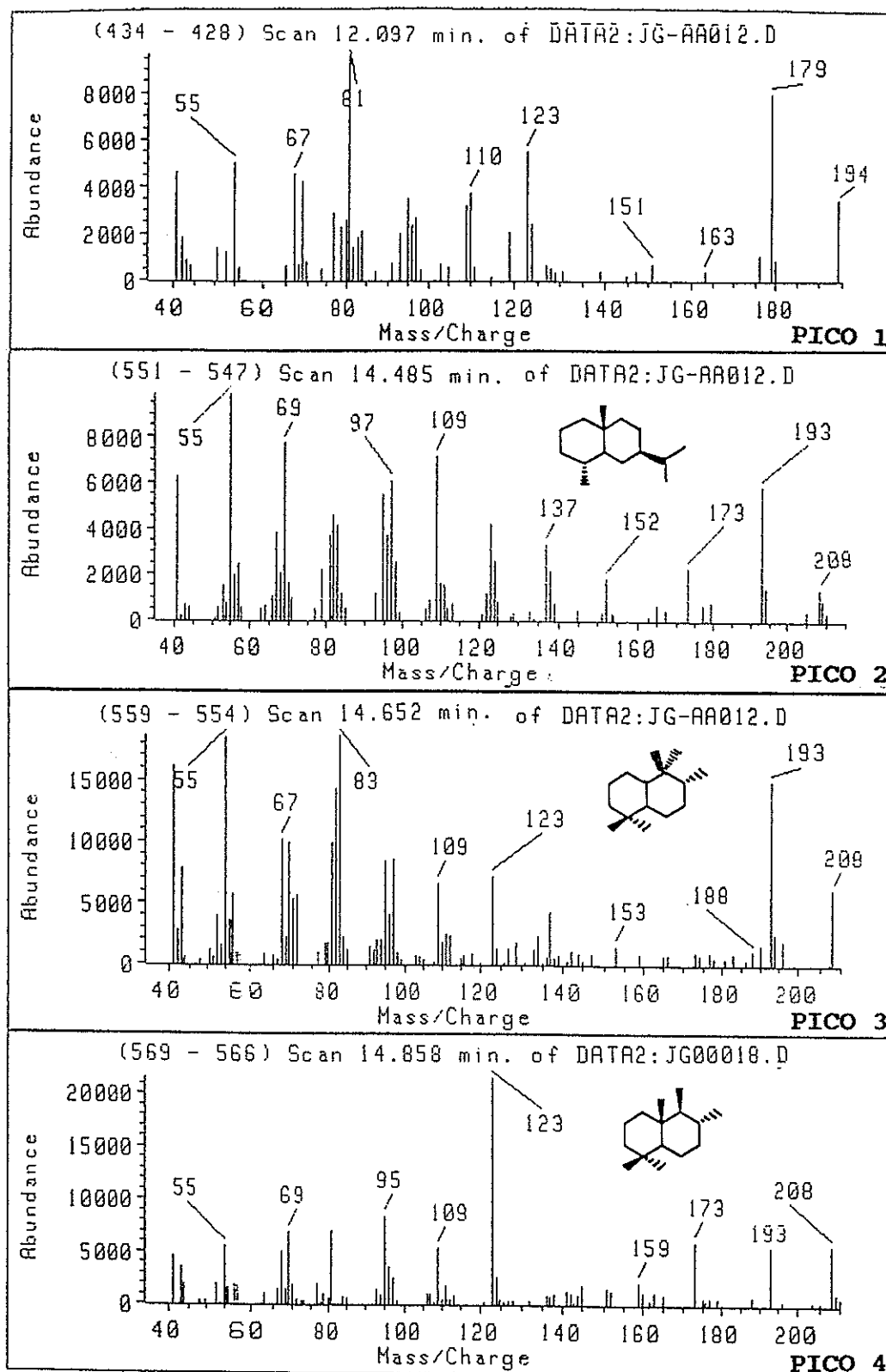


Figura IV.6.- Espectros de masas de los sesquiterpenos bicíclicos detectados en las fracciones saturadas de las muestras estudiadas. Los números corresponden a los picos cromatográficos del fragmentograma de la Figura IV. 5.

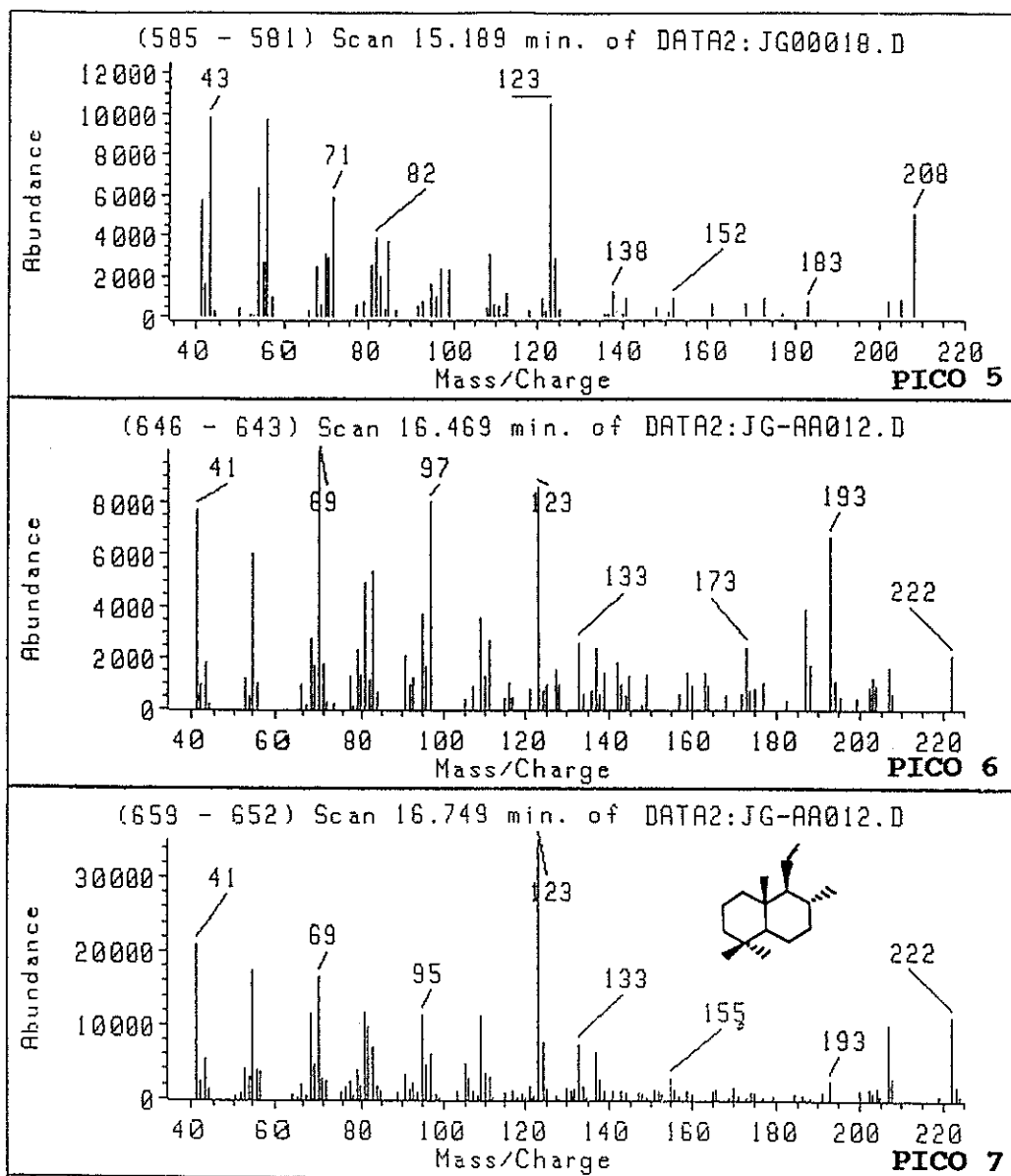


Figura IV.6.- (continuación).

relativos con los existentes en la bibliografía (Alexander *et al.*, 1984; Philp, 1985a,b; Weston *et al.*, 1989). El sesquiterpeno predominante en todas las muestras fue el 8 β (H)-homodrimano (7), destacando también el 8 β (H)-drimano (4) en la pizarra PB.

Tabla IV.4.- Identificación de picos del cromatograma parcial del ion m/z 123, correspondientes a la Figura IV.5.

Nº pico	Identificación	Formula
1	Nordrimano	C ₁₄ H ₂₆
2	Eudesmano	C ₁₅ H ₂₈
3	Drimano "rearranged"	C ₁₅ H ₂₈
4	8 β -drimano	C ₁₅ H ₂₈
5	desmetil homodrimano	C ₁₅ H ₂₈
6	isómero del homodrimano	C ₁₆ H ₃₀
7	8 β (H)-homodrimano	C ₁₆ H ₃₀
8	norabietano	C ₁₉ H ₃₄
9	fichtelita	C ₁₉ H ₃₄
10	Diterpeno C ₁₉	C ₁₉ H ₃₄

El esqueleto drimano es análogo al fragmento correspondiente a los anillos AB de los triterpenos. El enlace 8(14) en el anillo C de los triterpenos pentacíclicos parece ser susceptible de rotura mediante catálisis ácida dando lugar al 8,14-*sec*hopano (Rinaldi *et al.*, 1988). El enlace 11(12), en todos los compuestos con el anillo C

abierto, es relativamente débil y puede romperse obteniéndose el sesquiterpeno del tipo drimano (Schmitter *et al.*, 1982; Alexander *et al.*, 1984; Mackenzie, 1984; Brassell, 1985) según el esquema de la Figura IV.7. Otro origen posible de los sesquiterpenoides con esqueleto drimano es por reducción del drimenol (Killops y Killops, 1993).

El eudesmano, por otra parte, está relacionado con el eudesmanol, compuesto que sólo se ha detectado en plantas superiores, por lo que su presencia es una clara indicación de un aporte de plantas superiores. Este compuesto se ha detectado únicamente en la muestra PB, aunque en baja concentración.

Sesquiterpenos bicíclicos aromáticos. Diversos sesquiterpenos monoaromáticos con estructura de tipo drimano se detectaron en el rango de C₁₃ a C₁₅ en las fracciones aromáticas de las muestras estudiadas. En la Figura IV.8 se muestran los espectros de masas de algunos de ellos. Los espectros de masas del 1,2,5-trimetil-1,2,3,4-tetrahidronaftaleno y del 1,1,5,6-tetrametil-1,2,3,4-tetrahidronaftaleno se caracterizan por la presencia de un pico base a M-15 (*m/z* 159 y 173 respectivamente) debido a la pérdida de un grupo metilo, mientras que el 5-etil-1,1,6-trimetil-1,2,3,4-tetrahidronaftaleno presenta un pico base a M-29 (*m/z* 173) por pérdida de un grupo etilo. Otros tetrahidronaftalenos se detectaron por SIM, monitorizando fragmentos característicos a *m/z* 145, 159

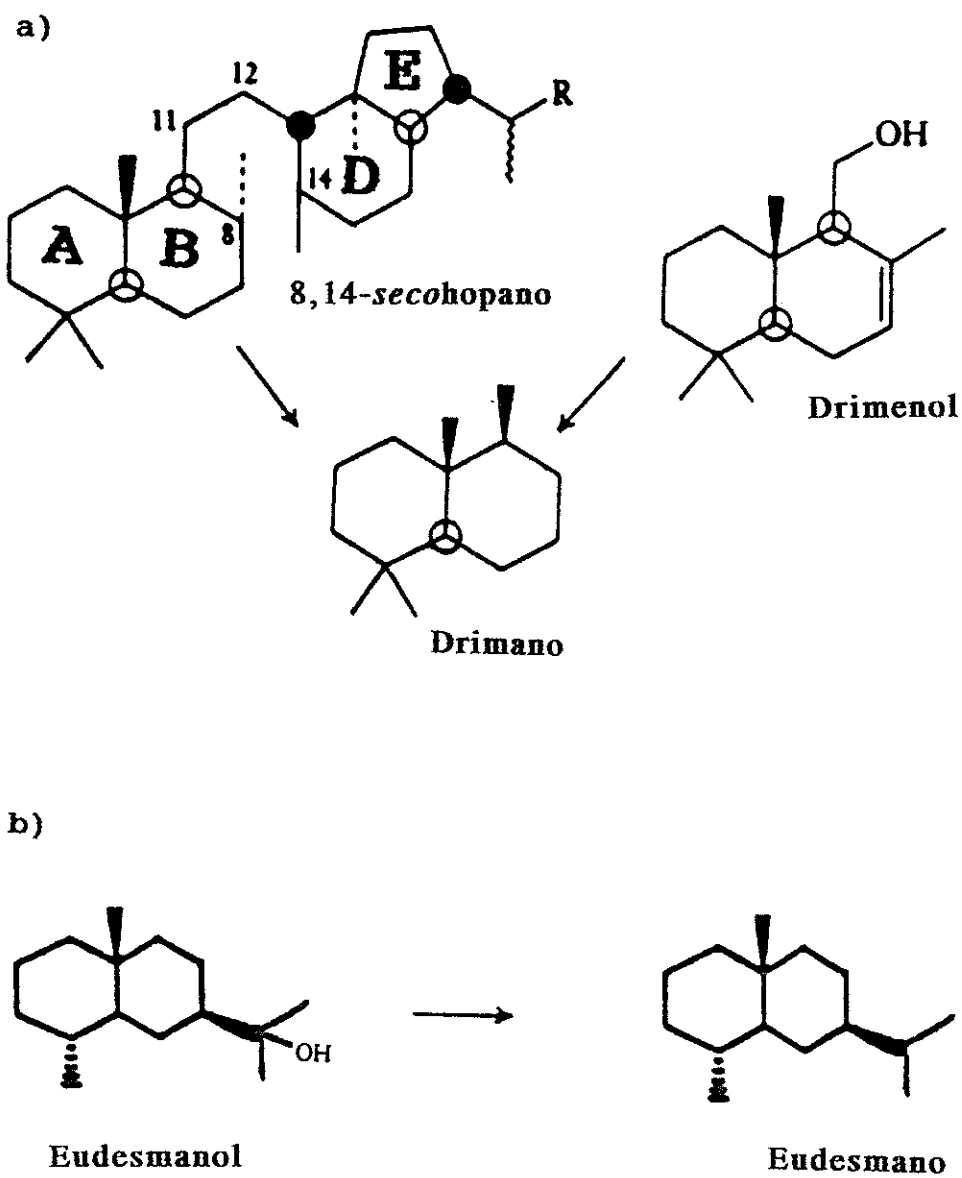


Figura IV.7.- a) Formación de sesquiterpenos del tipo drimano a partir de compuestos del tipo 8,14-*secohopano* y del drimenol (Schmitter *et al.*, 1982; Mackenzie, 1984; Brassell, 1985) b) Formación del eudesmano a partir del eudesmanol.

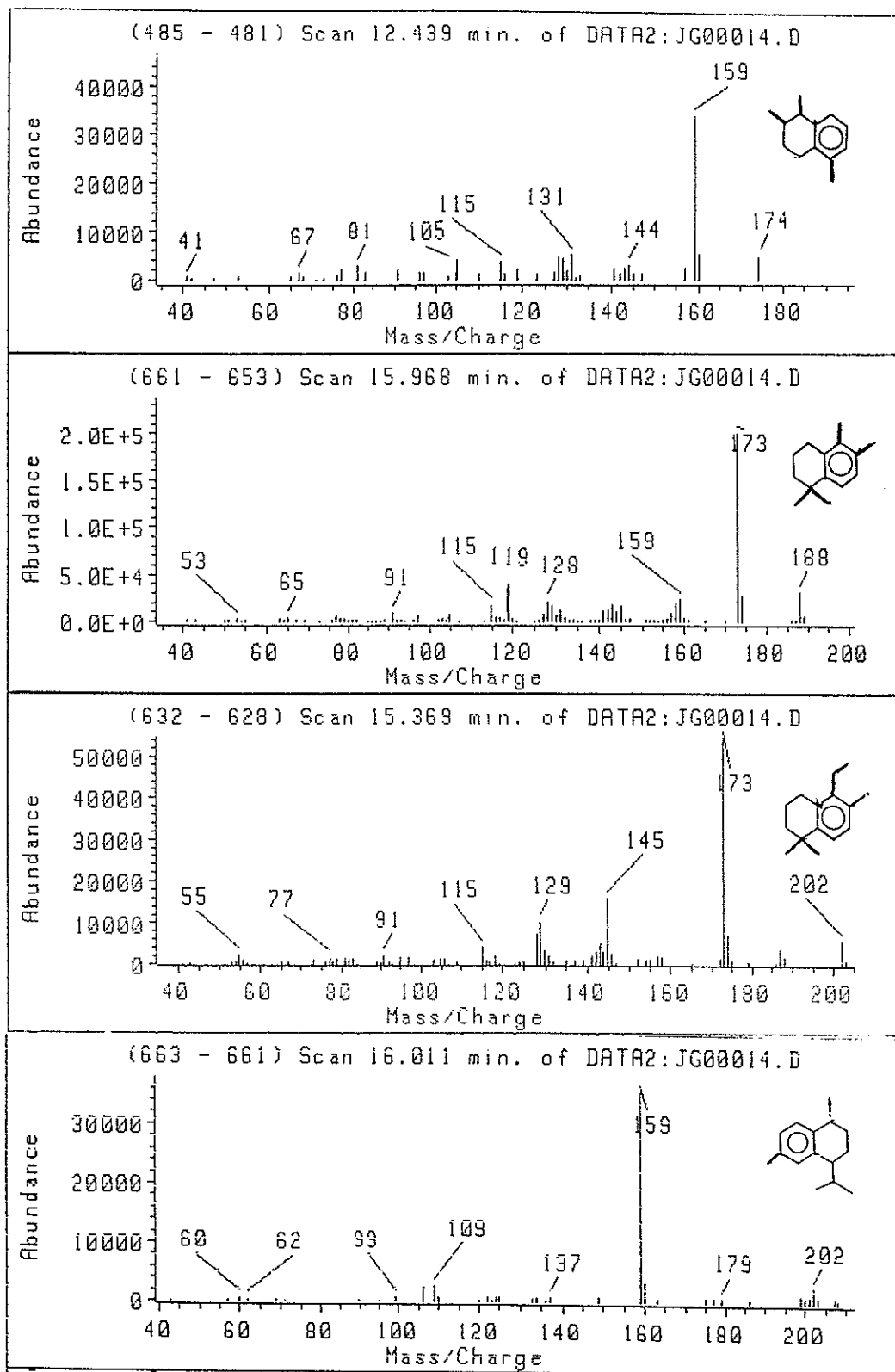


Figura IV.8.- Espectros de masas de 1,2,5-trimetil-1,2,3,4-tetrahidronaftaleno, 1,1,5,6-tetrametil-1,2,3,4-tetrahidronaftaleno, 5-etil-1,1,6-trimetil-1,2,3,4-tetrahidronaftaleno y 1,6-dimetil-4-isopropil-1,2,3,4-tetrahidronaftaleno (calameno).

y 173 y los iones moleculares m/z 188, 202 y 216, aunque sus estructuras no pudieron asignarse con exactitud. Entre éstos destaca la identificación del calameno (1,6-dimetil-4-isopropil-1,2,3,4-tetrahidronaftaleno) que presenta un pico base M-43 (m/z 159) por pérdida del grupo isopropilo.

Los compuestos monoaromáticos del tipo drimano pueden provenir de la aromatización de los sesquiterpenos bicíclicos, identificados en las fracciones saturadas y discutidos anteriormente, o bien, pueden formarse por rotura del enlace 11(12) de estructuras 8,14-*secotriterpenoides* con un anillo aromatzado.

El calameno, sin embargo, proviene de los cadinoles o del derivado insaturado cadineno (como muestra la Figura IV.9), que se encuentran en las resinas y aceites esenciales de plantas superiores, especialmente en coníferas, si bien también se han detectado en algunas algas marinas (Simoneit, 1986; Simoneit *et al.*, 1986).

En el análisis de la fracción aromática también se identificaron compuestos bicíclicos diaromáticos. En la Figura IV.10 se muestra la suma de las trazas de los iones m/z 170, 184 y 198, correspondientes a los iones moleculares de los tri-, tetra- y penta-metilnaftalenos, respectivamente. Los alquilnaftalenos están dominados por los isómeros 1,2,7-trimetil- (1,2,7-TMN) y 1,2,5-trimetilnaftalenos (1,2,5-TMN) y el 1,2,5,6-tetraMN. También se detectó el 1,6-dimetil-4-isopropil-naftaleno (cadaleno). Como ocurría con la serie de sesquiterpenos saturados, la serie de alquil-

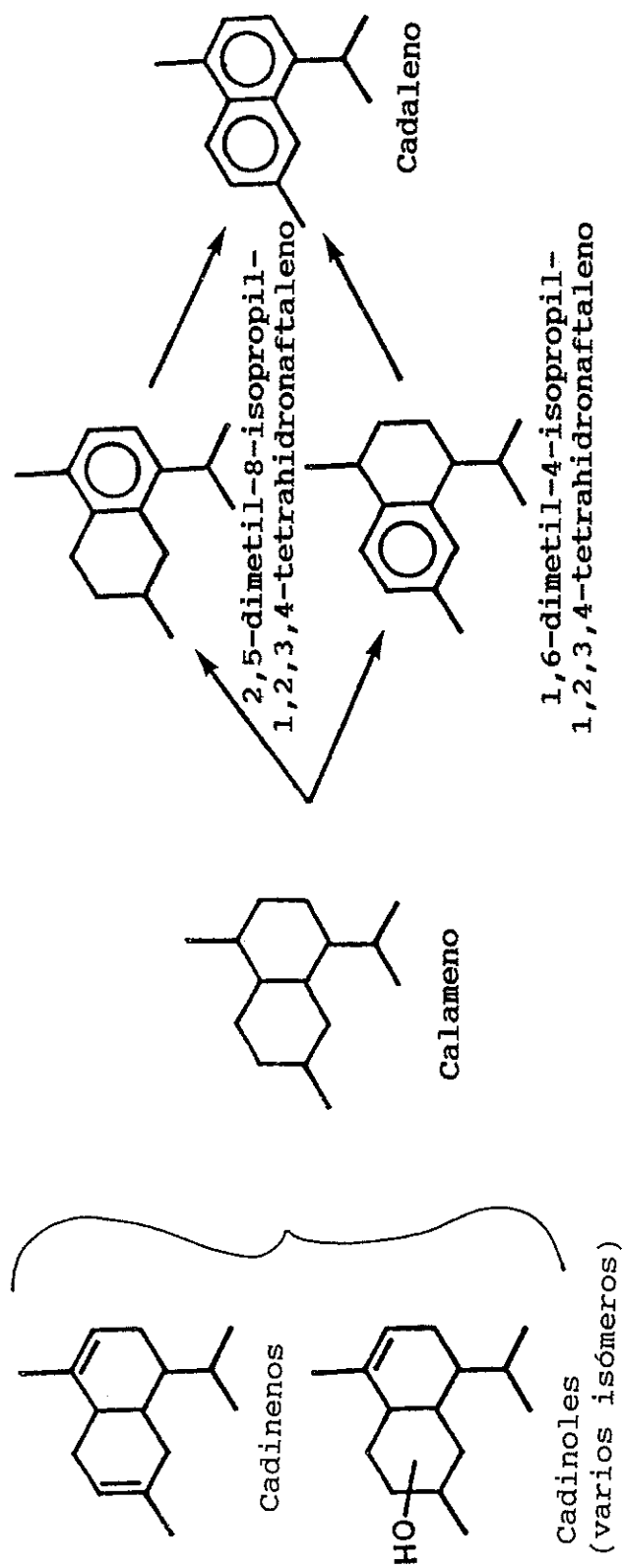


Figura IV.9. - Ruta diagenética de formación de compuestos con estructura del tipo cadinano a partir del derivado insaturado cadineno o de cadinolos (Simoneit, 1986; Simoneit *et al.*, 1986).

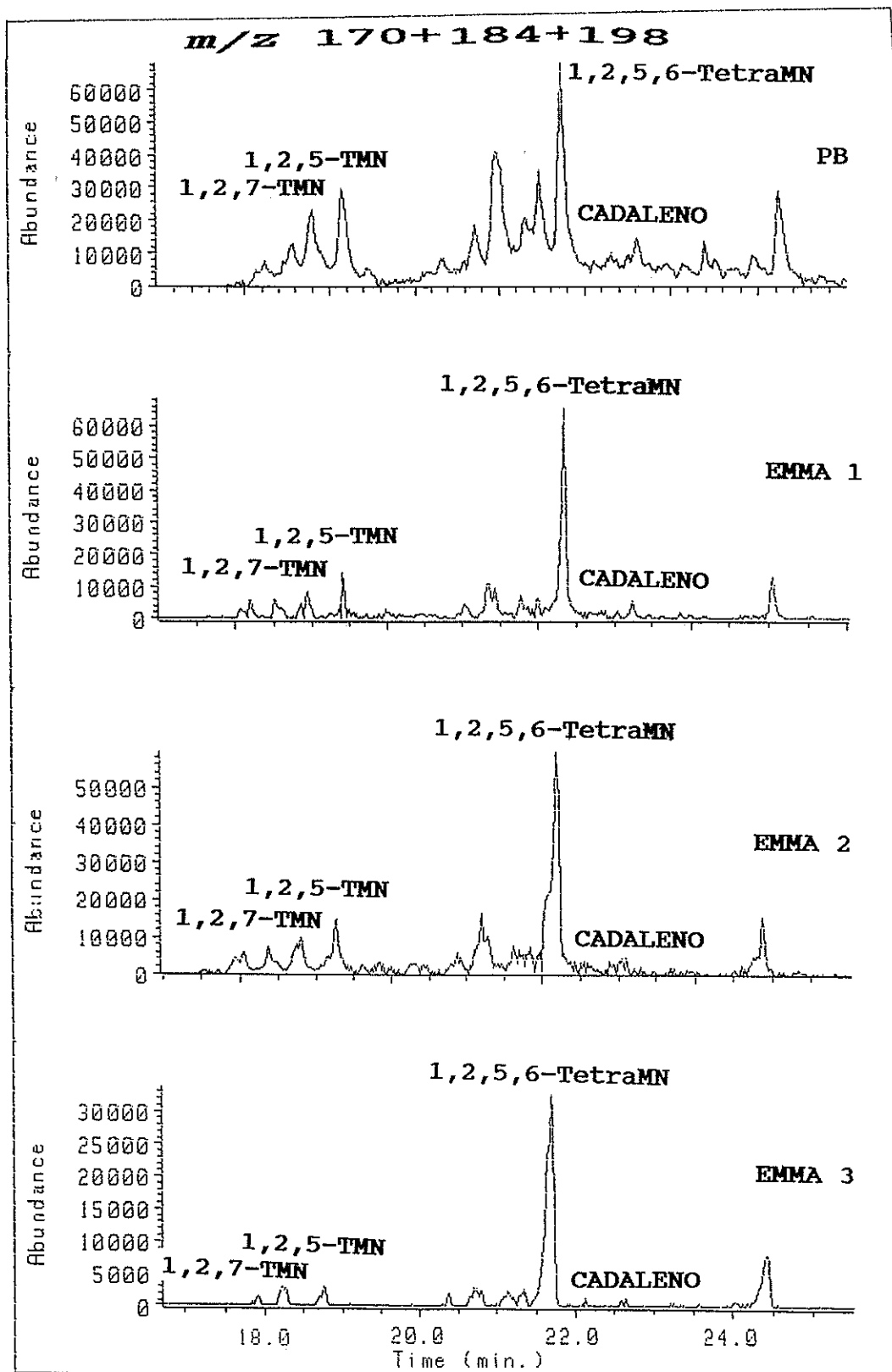


Figura IV.10.- Fragmentograma suma de los iones m/z 170, 184 y 198, característicos de los trimetil-, tetrametil- y pentametilnaftalenos de las fracciones aromáticas de las muestras estudiadas.

naftalenos es más rica en la pizarra PB en comparación con las tres EMMAs, entre la que sólo cabe citar la ligera menor abundancia en la pizarra EMMA 3.

En la Figura IV.11 se muestran los espectros de masas del 1,2,7-TMN, y del 1,2,5-TMN, caracterizados por sus iones moleculares m/z 170 y por un pico base a m/z 155 formado por pérdida de un grupo metilo. El espectro de masas del 1,2,5,6-tetrametilnaftaleno, se caracterizó por el ion molecular m/z 184 y un pico base a m/z 169 por pérdida de un grupo metilo, y el espectro de masas del cadaleno, por el ion molecular m/z 198 y un pico base a m/z 183 por pérdida de un grupo metilo. También pudieron detectarse otros tetra- y pentametilnaftalenos por monitorización de sus iones característicos, aunque sus estructuras no pudieron asignarse con exactitud.

De la misma forma que los sesquiterpenos del tipo drimano pueden proceder del fragmento de los anillos AB de compuestos 8,14-*secotriterpenoides*, estas estructuras naftalénicas pueden formarse por mecanismos similares que se esquematizan en la Figura IV.12. Así, el 1,1,5,6-tetrametil-1,2,3,4-tetrahidronaftaleno se aromatiza totalmente al aumentar la madurez, produciendo el 1,2,5-TMN y el 1,2,5,6-tetraMN, aunque la formación de este último necesitaría la transposición de un grupo metilo desde la posición 1 a la 2, lo cual no es un proceso raro, a partir de estructuras de tipo hopano (Chaffee *et al.*, 1984; Hayatsu *et al.*, 1987; Püttmann y

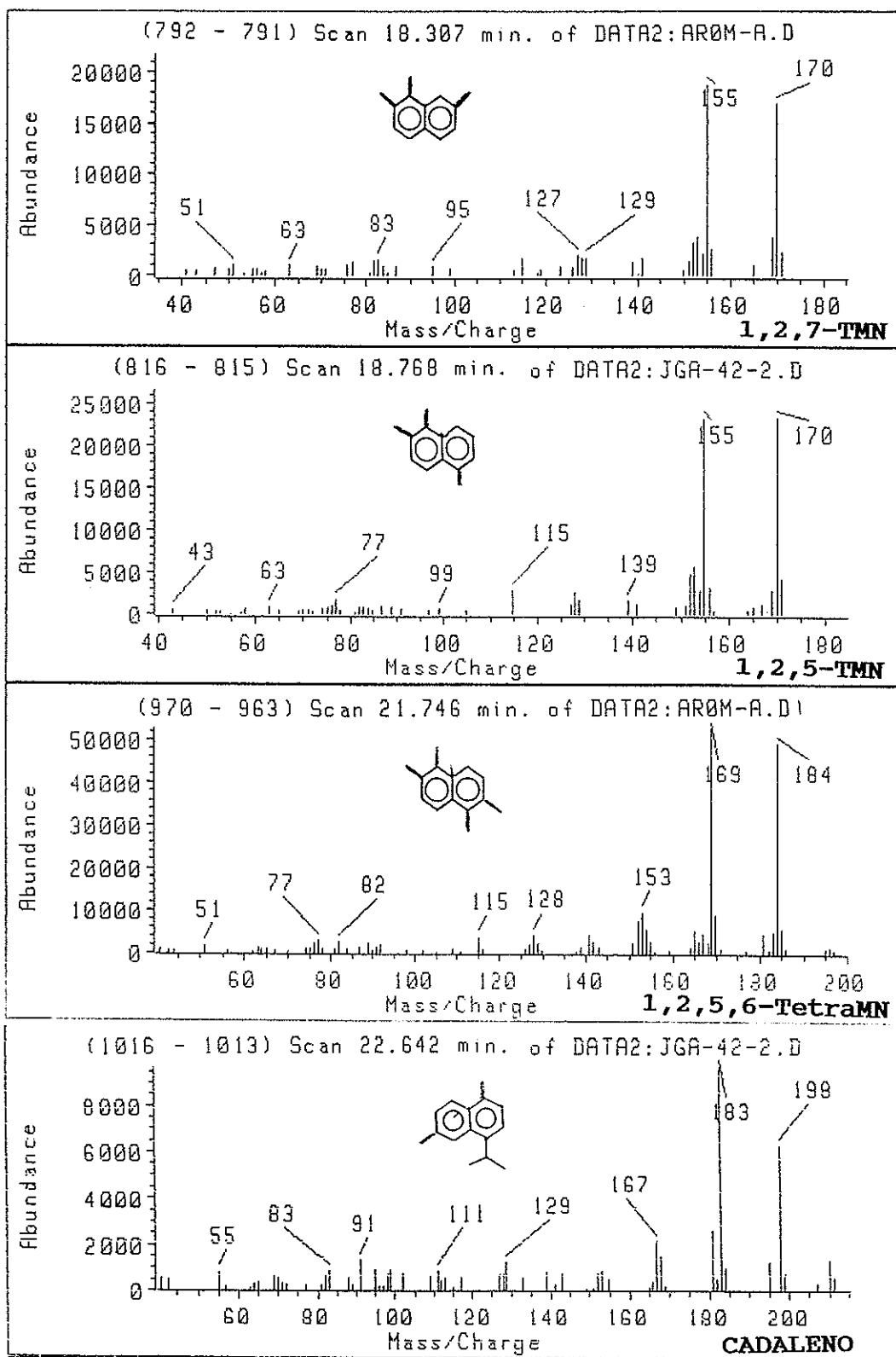


Figura IV.11.- Espectros de masas de 1,2,7-TMN, 1,2,5-TMN, 1,2,5,6-tetraMN y 1,6-dimetil-4-isopropil-naftaleno (cadaleno).

Villar, 1987; Strachan *et al.*, 1988). Por otra parte, el 2,2,7,8-tetrametil-1,2,3,4,tetrahidronaftaleno puede provenir del fragmento DE de estructuras *secotriterpenoides* triaromáticas derivados de, por ejemplo, la β -amirina, y su aromatización daría lugar al 1,2,7-TMN. Los correspondientes fragmentos de los anillos AB producirán el 1,2,5-TMN y el 1,2,5,6-tetraMN. Para entender la formación de este último hidrocarburo a partir de estructuras presentes en plantas superiores (esqueletos oleanano y ursano, principalmente) tiene que producirse primero la tranposición del grupo metilo de la posición 1 a la 2 y la pérdida del grupo OH, y posteriormente la rotura del enlace 11(12). Grandes concentraciones de 1,2,7-TMN respecto de otros polimetilnaftalenos podría ser indicativo, por tanto, de un gran aporte de plantas superiores (angiospermas) al sedimento. Este es el caso de PB, lo que indicaría una relativamente importante contribución de angiospermas a esta pizarra. Sin embargo, al aumentar la madurez del sedimento este parámetro deja de ser válido por la aparición de grandes concentraciones de polimetilnaftalenos no específicos procedentes del cracking del kerógeno (Chaffee *et al.*, 1984; Hayatsu *et al.*, 1987; Püttmann y Villar, 1987; Strachan *et al.*, 1988). En nuestro caso, no se han detectado grandes concentraciones de polimetilnaftalenos no específicos, lo que puede considerarse como una indicación del bajo grado evolutivo de nuestras pizarras.

También el sesquiterpenoide aromático cadaleno está

considerado como un producto de alteración diagenética de precursores naturales relacionados con los cadinanos (Figura IV.9), que se encuentran en los aceites esenciales de la mayoría de las plantas superiores (Bendoraitis, 1974). Su presencia en todas las muestras estudiadas aunque en muy pequeña abundancia es, por tanto, una evidencia de la contribución de plantas superiores a la formación de estas pizarras. Esta contribución sería menor en el caso de las EMMA y, concretamente, en la EMMA 3.

IV.2.4.- HIDROCARBUROS DITERPENOIDES.

En la traza m/z 123 de la Figura IV.5 se detectaron tres compuestos con un PM 262, correspondientes a C_{19} -triciclanos. Los espectros de masas de estos tres compuestos (Figura IV.13) se corresponden con los publicados por Philp (1985a,b) para el norabietano, fichtelita y otro isómero aún no identificado (picos 8, 9 y 10 respectivamente en el fragmentograma de la Figura IV.5). Estos diterpenos se identificaron principalmente en la muestra PB y son minoritarios en las muestras EMMA 1, 2 y 3. Otro hidrocarburo diterpénico C_{20} , el abietano, también se identificó en todos los extractos. Los abietanos provienen de los abietenos y de los ácidos abiéticos, que abundan en las plantas superiores, y en concreto son constituyente mayoritarios de las resinas de coníferas (Thomas, 1969). Los compuestos diterpénicos tricíclicos están ampliamente

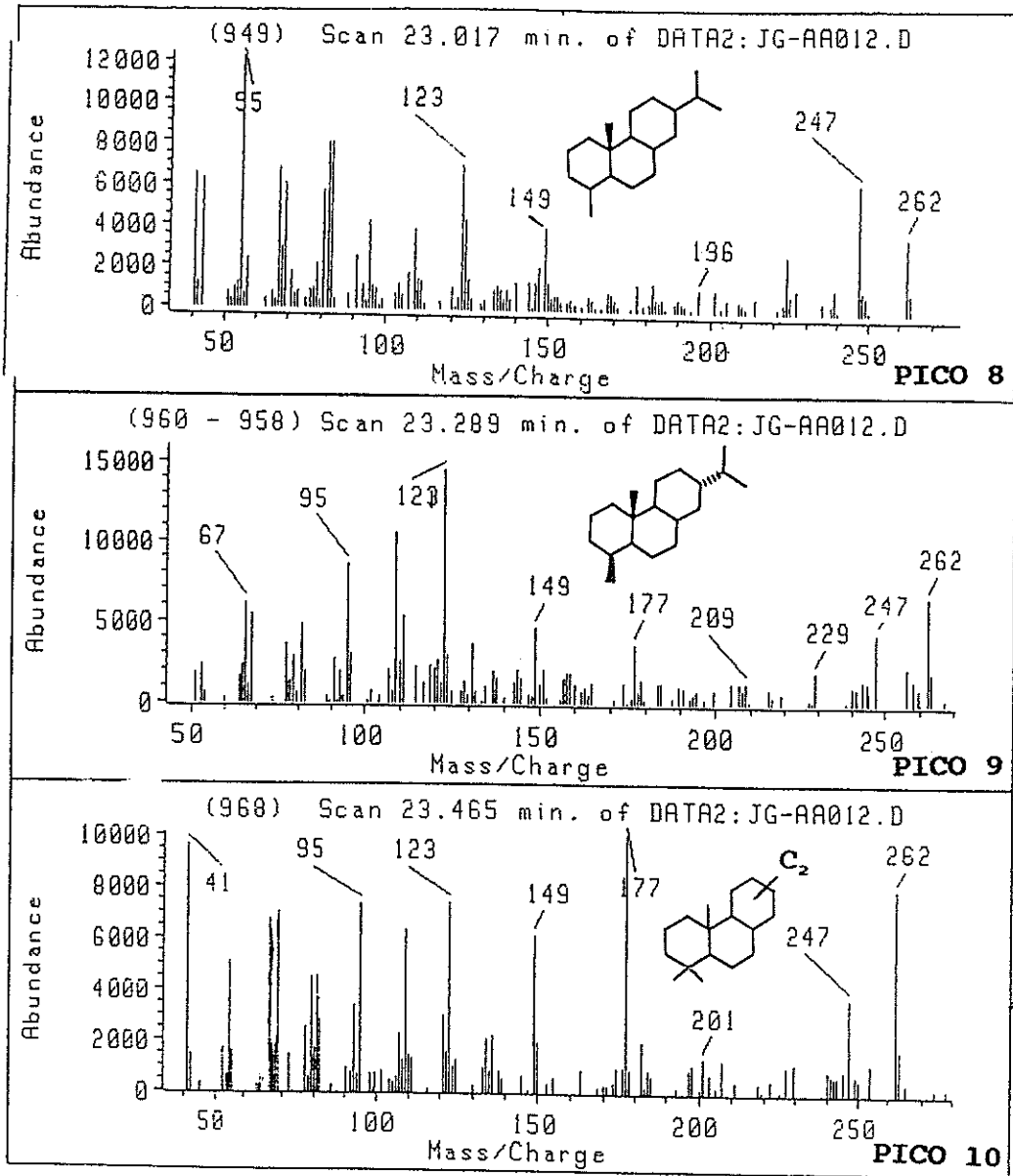


Figura IV.13.- Espectros de masas de norabietano, fichtelita y de un diterpeno tricíclico C₁₉ (picos 8, 9 y 10 en la Figura IV.5.).

distribuidos en el reino vegetal y su presencia en estas muestras se puede considerar por tanto como una indicación de la contribución de materiales provenientes de plantas terrestres superiores, principalmente coníferas, a la materia orgánica original (Philp y Gilbert, 1986a,b; Simoneit, 1986), aunque minoritarios para las EMMAs.

Diterpenos aromáticos. Diversos diterpenos aromáticos tricíclicos como la bisnorsimonelita (7-isopropil-1,2,3,4, tetrahidrofenantreno), la norsimonelita o tetrahidroreteno (1-metil-7-isopropil-1,2,3,4-tetrahidrofenantreno), la simonelita (1,1-dimetil-7-isopropil-1,2,3,4-tetrahidrofenantreno), el pimantreno (1,7-dimetilfenantreno) y el reteno (1-metil-7-isopropilfenantreno), se identificaron en las fracciones aromáticas de las muestras estudiadas. Sus espectros de masas se muestran en la Figura IV.14. Todos están caracterizados por sus respectivos iones moleculares y por los fragmentos provenientes de la pérdida de un grupo metilo.

Estos compuestos son productos bien conocidos de la degradación de ácidos resínicos, tales como el ácido abiético y el ácido pimárico. En la Figura IV.15, se presenta la ruta diagenética de estos compuestos (Simoneit, 1986; Alexander *et al.*, 1987). El tetrahidroreteno y la simonelita son productos intermedios en la conversión del ácido abiético en reteno. La presencia de los compuestos diterpénicos totalmente aromatizados (en nuestro caso

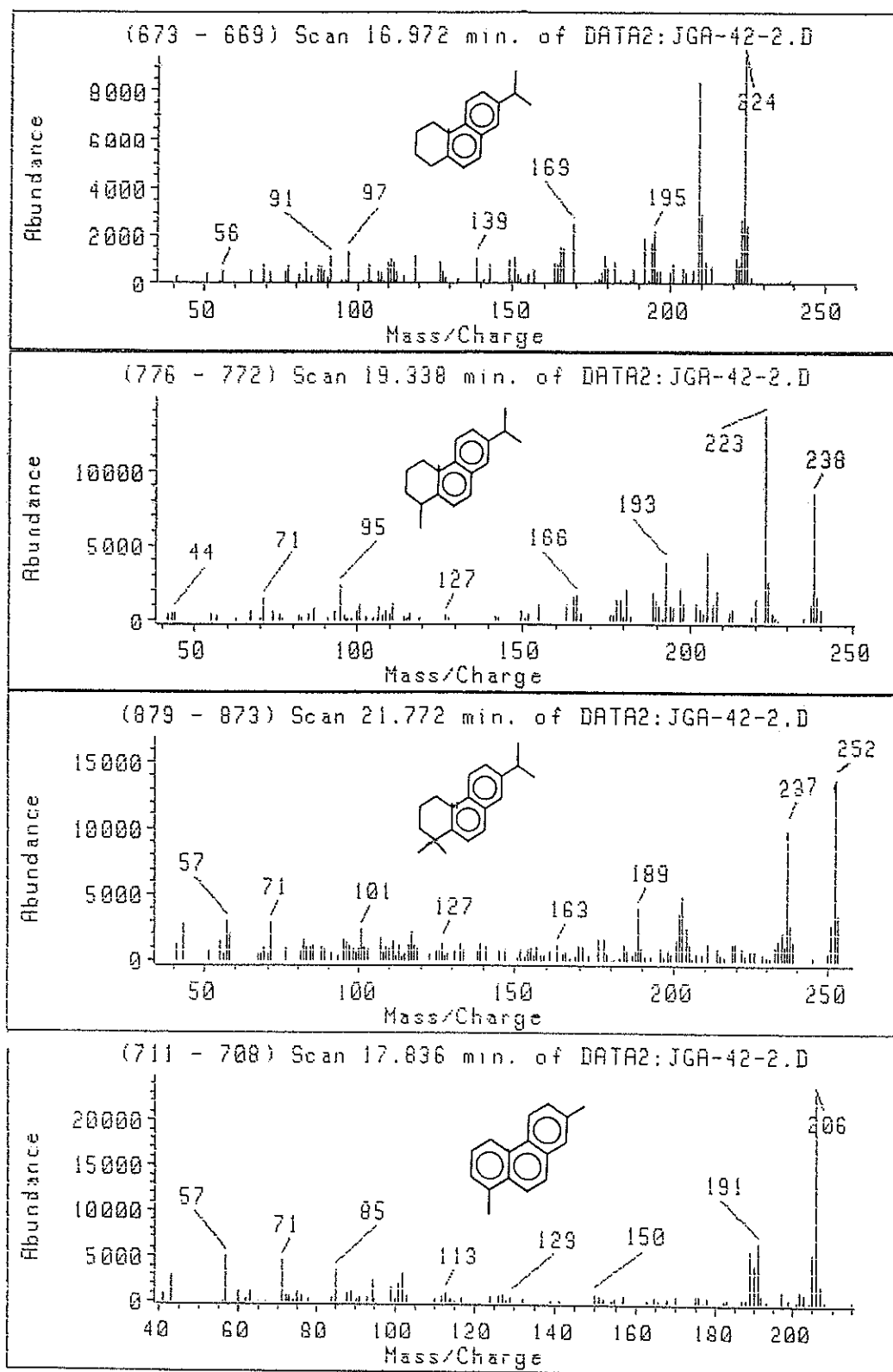


Figura IV.14.- Espectros de masas de 7-isopropil-1,2,3,4, tetrahydrofenantreno (bisenonimelita), 1-metil-7-isopropil-1,2,3,4, tetrahydrofenantreno (nonimelita), 1,1-dimetil-7-isopropil-1,2,3,4, tetrahydrofenantreno (simonelita), 1,7-dimetilfenantreno (pimantreno) y 1-metil-7-isopropilfenantreno (reteno).

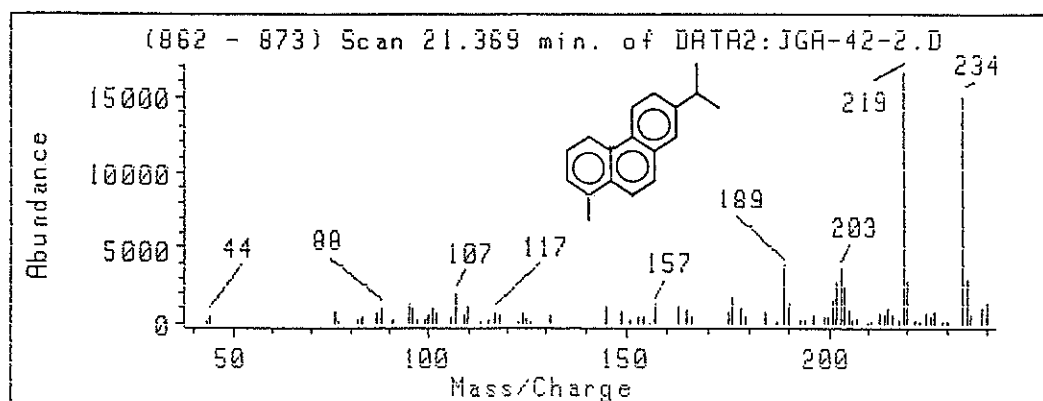


Figura IV.14.- (continuación).

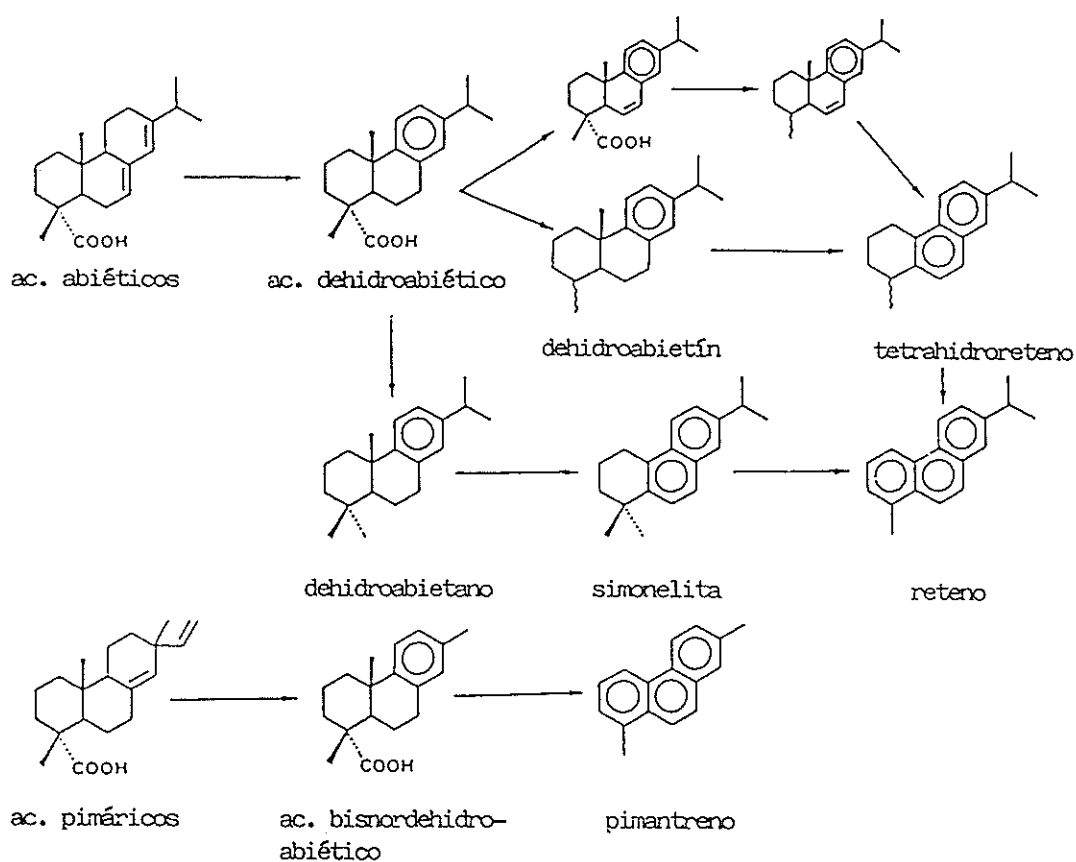


Figura IV.15.- Ruta diagenética de degradación de los principales tipos de ácidos diterpénicos (Simoneit, 1986).

pimantreno y reteno) se considera como prueba de la diagénesis de los abietanos, aunque también podrían provenir de otros diterpenoides como los kauranos o los filocladanos (Noble *et al.*, 1985). En cualquier caso, su detección es una fuerte evidencia de la contribución de plantas terrestres superiores, principalmente coníferas a la materia orgánica deposicional que dió origen a las pizarras.

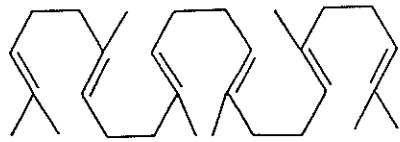
Estos compuestos se detectaron principalmente en la muestra PB, son minoritarios en las muestras EMMA 1 y 2 y prácticamente no se detectaron en la muestra EMMA 3, indicando una posible menor contribución de material terrestre a esta capa. Estos datos concuerdan también con la abundancia de los sesquiterpenos bicíclicos saturados observada en las fracciones saturadas de las pizarras, bastante importante en la muestra PB y menos abundante en las tres EMMAS. Este hecho parece indicar que posiblemente los sesquiterpenos del tipo drimano, tan importantes en la pizarra PB, se hayan originado a partir de las estructuras 8,14 *secotriterpénicas* que se encuentran en plantas superiores (oleananos y ursano, principalmente). Además, corroborando el aparente menor aporte de plantas superiores a la formación de la pizarra EMMA 3, recordemos que la distribución de *n*-alcanos, en la fracción saturada de la EMMA 3, mostraba un ligero predominio de los homólogos inferiores a C₂₃ que indicaría una mayor contribución de derivados de residuos algales o bacterianos (Gelpi *et al.*, 1970).

IV.2.5. HIDROCARBUROS TRITERPENOIDES.

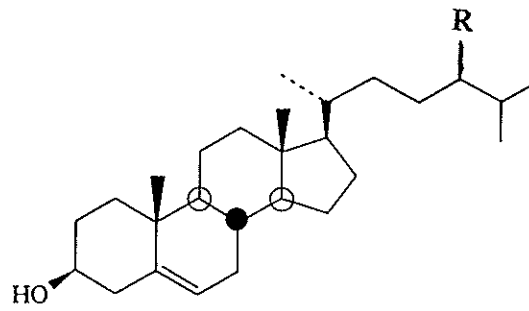
La biosíntesis de los compuestos triterpenoides ocurre en los organismos vivos por ciclación del escualeno, un hidrocarburo isoprenoide no cíclico ($C_{30}H_{50}$), que es un componente ubicuo en organismos. Los triterpenos pueden tener tres, cuatro o cinco anillos en su estructura. Los triterpenos tetracíclicos más importantes son los esteroidales, y geoquímicamente destacan los compuestos de C_{27} a C_{30} con un grupo β -hidroxi en la posición C-3. Los triterpenos pentacíclicos se encuentran normalmente en las plantas superiores, concretamente como constituyente de las resinas y pueden distinguirse tres grandes tipos, oleanano, ursano y lupano. Otra importante serie de triterpenos pentacíclicos asociada a bacterias es la que presenta el anillo E de ciclopentano, configurando el esqueleto hopano, entre los que destaca, por ejemplo, el bacteriohopanotetrol (Figura IV.16).

IV.2.5.1.- Triterpenos tricíclicos.

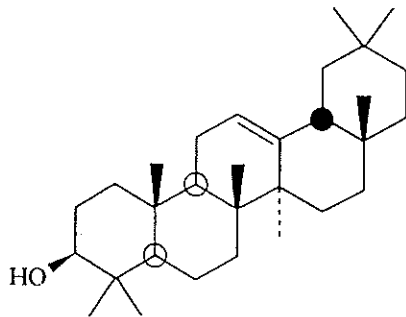
En la Figura IV.17 se muestra la distribución de las series de hidrocarburos terpénicos tricíclicos, detectados en las fracciones saturadas de las pizarras estudiadas por monitorización del ion característico m/z 191. Otras dos series de triterpenos tetracíclicos también se pudieron observar en esta traza y se discutirán posteriormente.



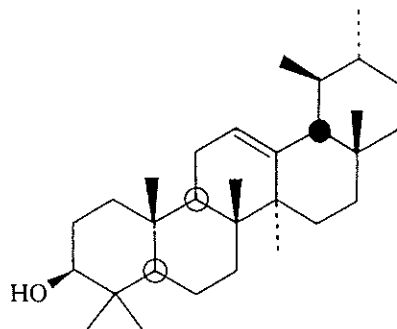
Escualeno



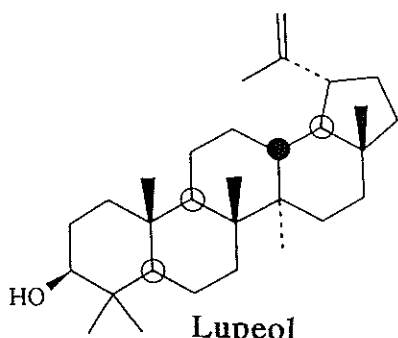
Esteroles



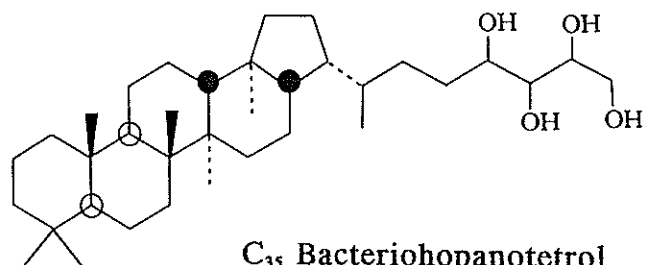
β -amirina



α -amirina



Lupeol



C₃₅ Bacteriohopanotetrol

Figura IV.16.- Principales triterpenos presentes en organismos vivos.

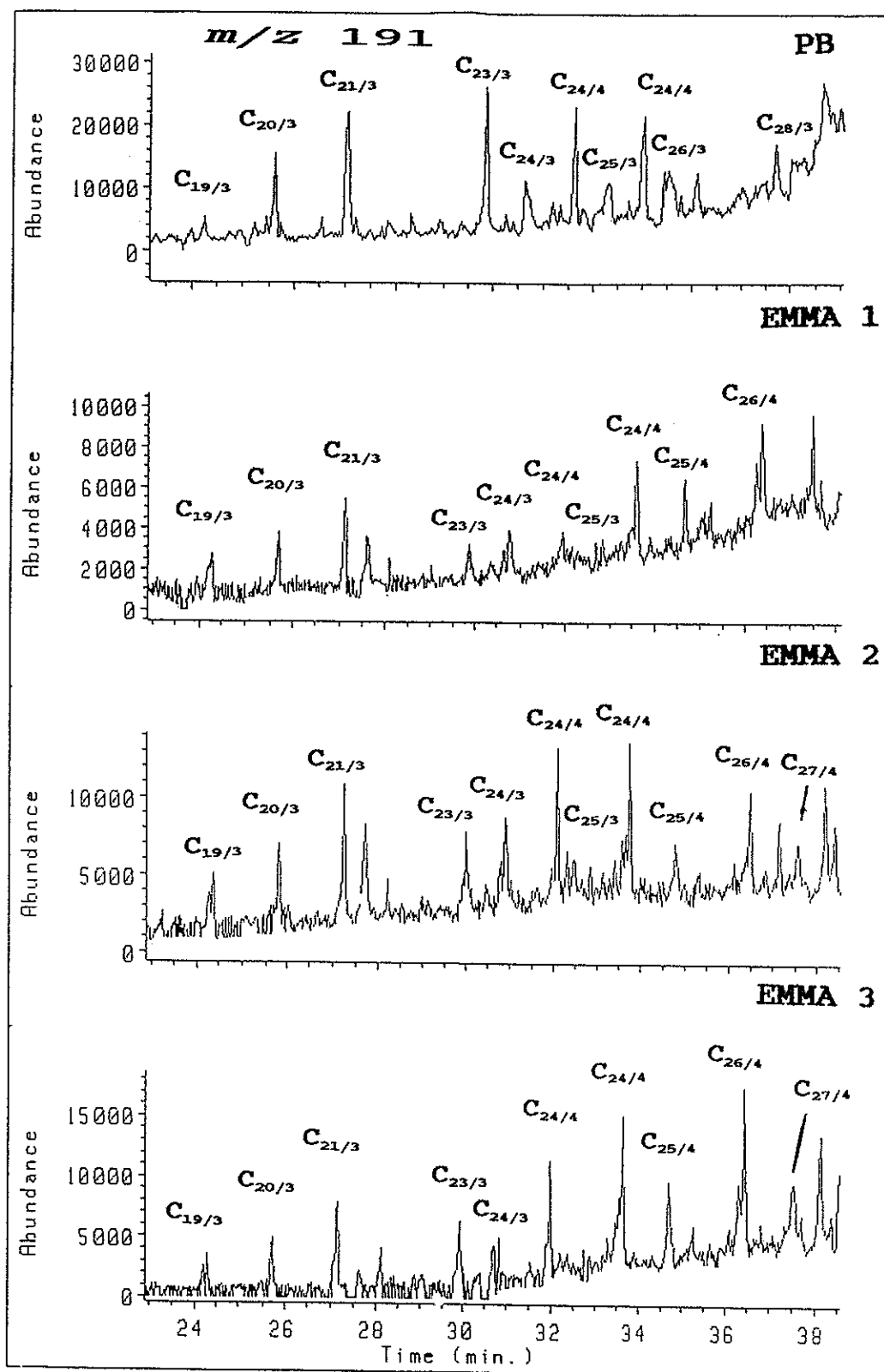


Figura IV.17.- Fragmentograma parcial (m/z 191) mostrando la distribución de los triterpenos tri- y tetracíclicos presentes en las fracciones saturadas de las muestras estudiadas.

En la muestra PB se detectaron los homólogos desde el $C_{19/3}$ al $C_{28/3}$, mientras que en las muestras EMMAs se detectaron principalmente los homólogos inferiores ($C_{19/3}$ - $C_{25/3}$), con un predominio de los $C_{20/3}$ y $C_{21/3}$. La escasa abundancia de los terpenos tricíclicos $C_{22/3}$ y $C_{27/3}$ es debido a la rotura desfavorable en las posiciones C-21 y C-26 (Moldowan *et al.*, 1983). De los homólogos $C_{26/3}$ y $C_{28/3}$ se detectaron en la muestra PB los isómeros R y S.

En la Figura IV.18a se muestran los espectros de masas de los terpenos tricíclicos $C_{20/3}$ y $C_{21/3}$ caracterizados por el pico base a m/z 191 y los correspondientes iones moleculares m/z 276 y 290, respectivamente. Aquino Neto *et al.*, (1983) observaron que los terpenos tricíclicos estaban presentes exclusivamente en petróleos de origen marino y estaban generalmente ausentes en los de origen terrestre, sugiriendo un origen microbiano y/o algal para estos compuestos. El triciclohexaprenol un constituyente habitual y ubicuo en células, formado anaerobicamente a partir del hexaprenol, se ha propuesto (Figura IV.19) como precursor potencial de esta serie (Aquino Neto *et al.*, 1983; Moldowan *et al.*, 1983; Ekweozor y Strausz, 1983; Cyr y Strausz, 1983; Kruge *et al.*, 1990).

La mayor abundancia de los terpenos tricíclicos de menor peso molecular en las muestras EMMAs pudiera ser consecuencia de una mayor madurez de estas muestras, ya que estos compuestos se formarían probablemente por la rotura de las cadenas laterales de los homólogos de mayor peso molecular (Aquino Neto *et al.*, 1983).

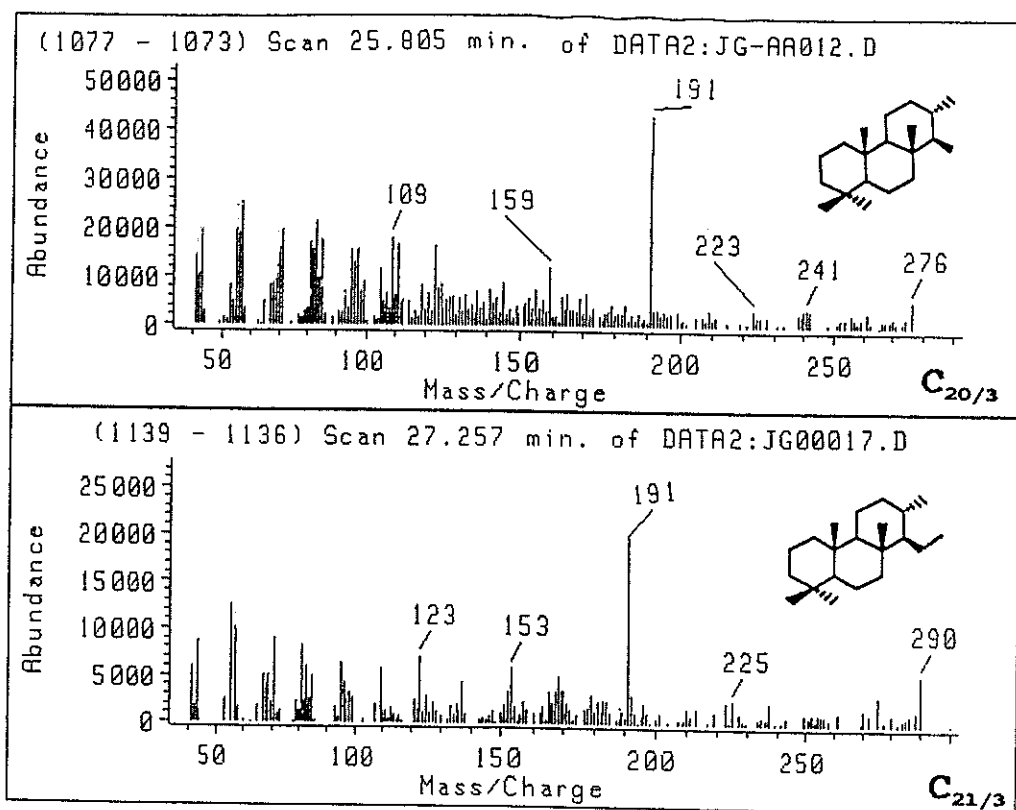


Figura IV.18.- a) Espectros de masas de los triterpenos tricíclicos $C_{20/3}$ y $C_{21/3}$.

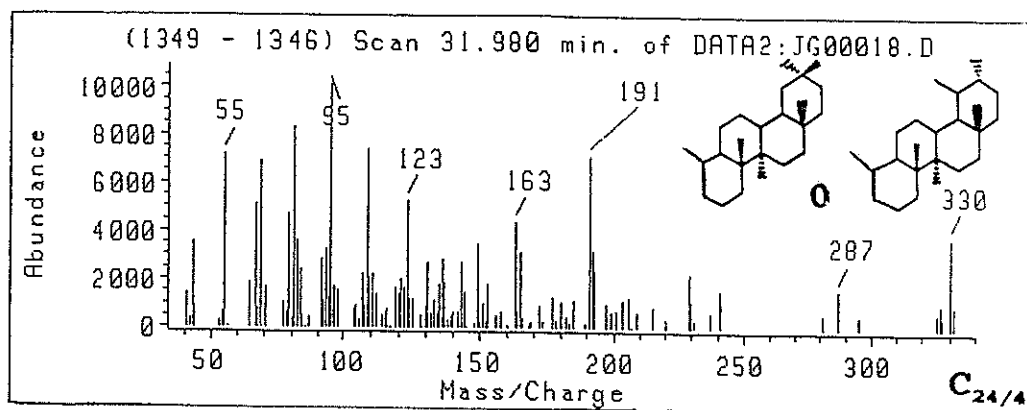


Figura IV.18.- b) Espectro de masas de des-A-triterpeno de tipo oleanano o ursano ($C_{24/4}$).

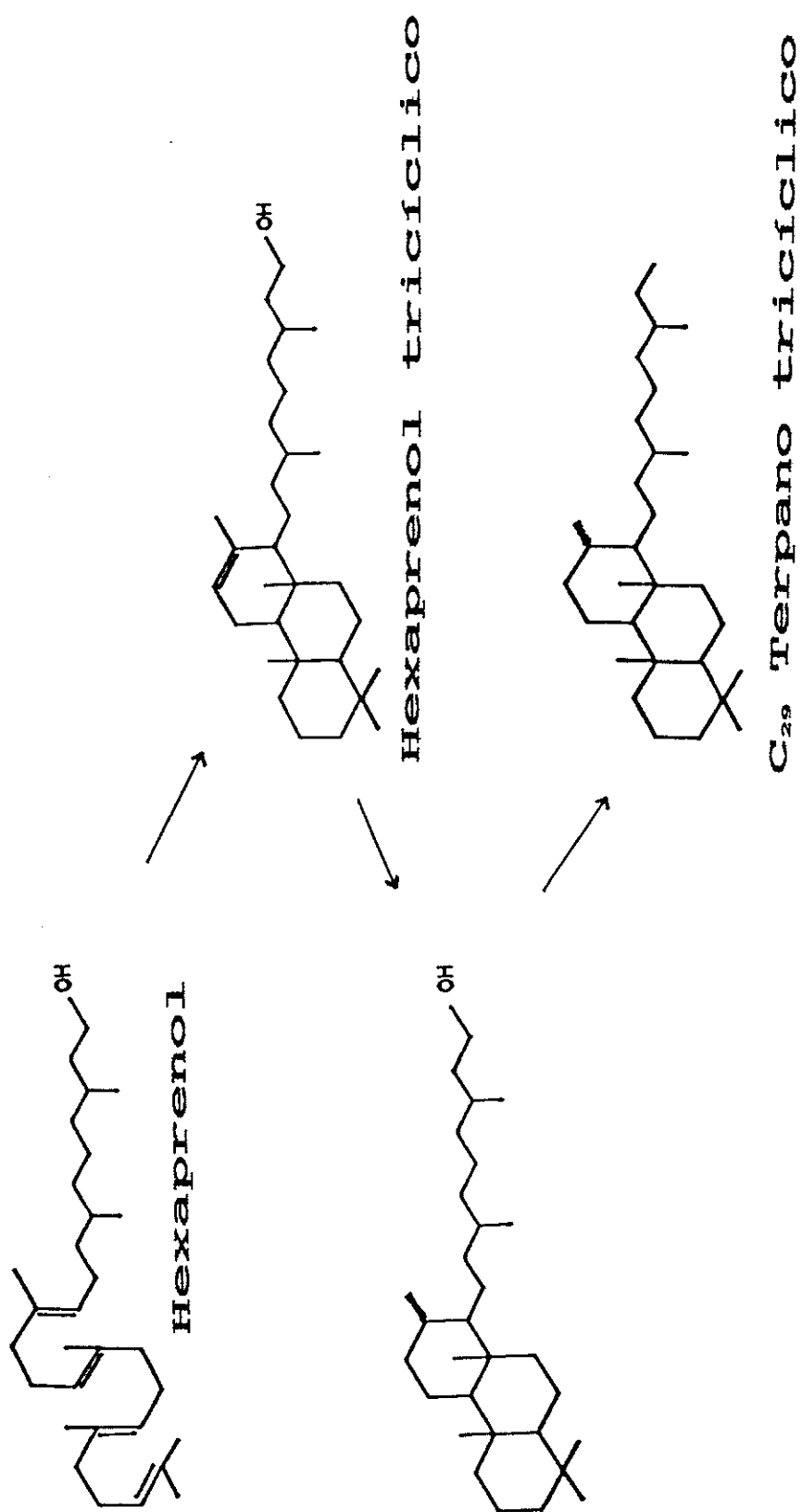


Figura IV.19. - Propuesta de formación de los triterpenos tricíclicos extendidos a partir del hexaprenol (Aquino Neto *et al.*, 1983).

La presencia de triterpenos tricíclicos característicos de sedimentos marinos, parece sugerir que estas pizarras se han formado en un ambiente costero, posiblemente de estuario o delta.

IV.2.5.2. Triterpenos tetra- y pentacíclicos con esqueleto oleanano y ursano.

En la traza m/z 191 de la Figura IV.17 se detectó un hidrocarburo triterpénico tetracíclico, que de acuerdo con su espectro de masas (Figura IV.18b) y su tiempo de retención relativos, se identificó como un hidrocarburo tetracíclico des-A-triterpenoide $C_{24/4}$, derivado de un esqueleto del tipo oleanano o bien de tipo ursano. Este compuesto tetracíclico se ha detectado en todas las muestras estudiadas y es un producto típico de la degradación de los triterpenos de plantas superiores que poseen un grupo funcional en la posición C-3 del esqueleto, como la α -amirina y β -amirina (Simoneit, 1986; Hayatsu *et al.*, 1987). La presencia de triterpenos tetracíclicos $C_{24/4}$ del tipo des-A-oleanano o des-A-ursano ha sido previamente descrita en carbones y petróleos derivados principalmente de materiales terrestres. La mayor abundancia de estos triterpenos tetracíclicos $C_{24/4}$ frente a los triterpenos tricíclicos en las muestras de pizarra (excepto en la EMMA 1), puede considerarse como una indicación del aporte significativo de material proveniente de plantas terrestres superiores (Trendel *et al.*, 1982).

Triterpenos aromáticos. Diversos triterpenos tetra- y pentacíclicos con varios grados de aromatización, se identificaron en cantidades relativamente abundantes en las fracciones aromáticas de las pizarras PB y EMMA 2 y en menor proporción en las EMMAS 1 y 3. Los distintos triterpenos aromáticos identificados provienen de las diferentes vías de aromatización que los triterpenos del tipo oleanano y ursano, característicos de angiospermas, pueden sufrir durante la diagénesis. En la Figura IV.20 se muestra como ejemplo las diferentes rutas diagenéticas de degradación de la β -amirina detallándose en la misma únicamente los compuestos aromáticos detectados en las muestras. Las rutas diagenéticas señaladas son las siguientes: (I) aromatización progresiva desde el anillo A al anillo E para generar hidrocarburos aromáticos pentacíclicos con diversos grados de aromatización, siendo el 2,9-dimetilpiceno el producto final; (II) degradación del anillo A y posterior aromatización progresiva desde el anillo B al anillo E dando lugar a la formación de alquilcrisenos; (III) aromatización y rotura del anillo C vía intermedios del tipo estructuras 8,14-*seco*, dando lugar a la formación de hidrocarburos aromáticos bicíclicos.

(I) Hidrocarburos aromáticos pentacíclicos: los compuestos pentacíclicos mono- y diaromáticos, que se producen en los primeros pasos de la aromatización progresiva de los correspondientes precursores, en un proceso que empieza en el anillo A y se extiende

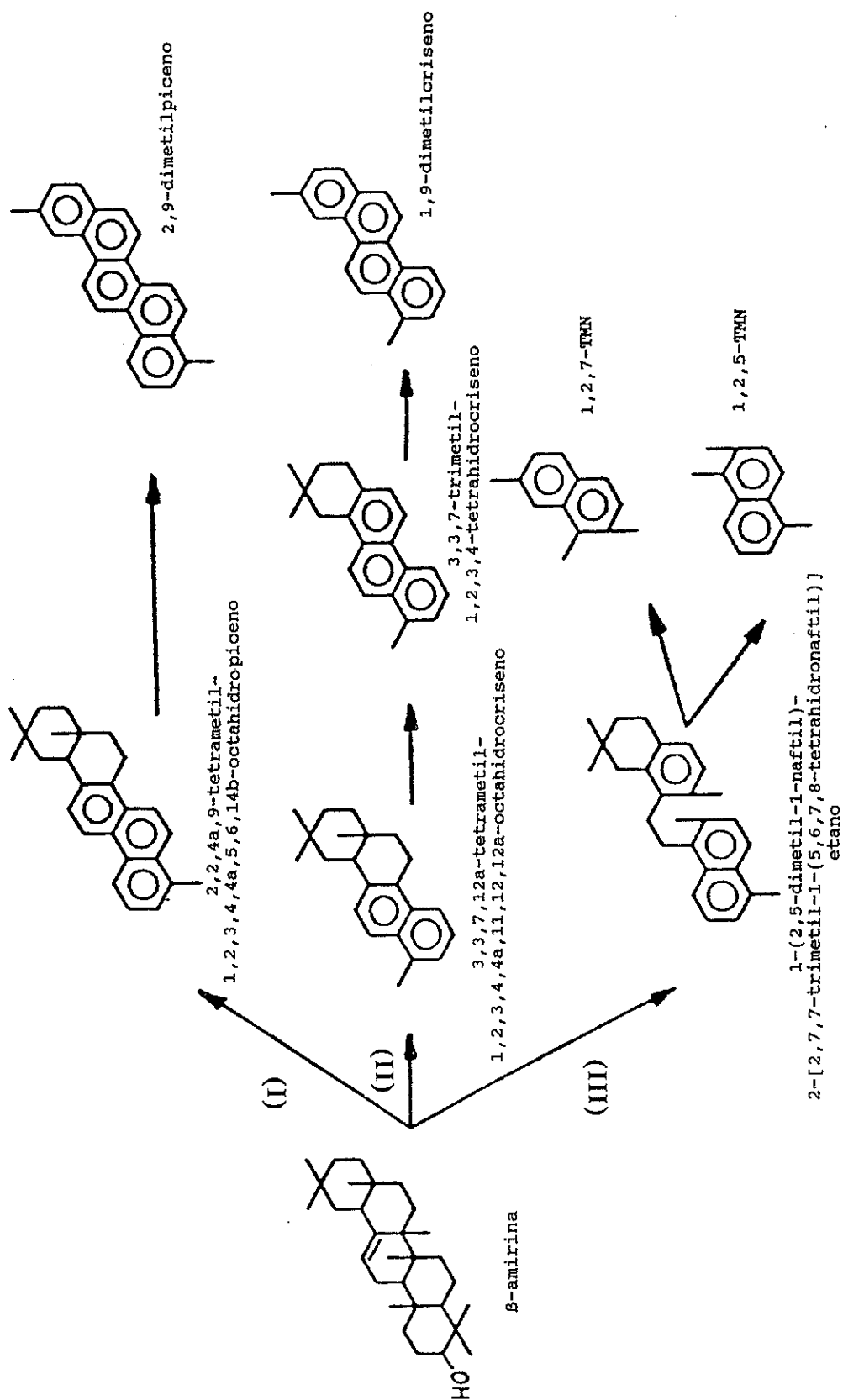


Figura IV.20.- Rutas diagenéticas de degradación de los compuestos triterpénicos identificados en la pizarra de Puertollano (por ejemplo, β -amirina) (Corbet *et al.*, 1980; Chaffee y Johns, 1983; Simoneit, 1986; Hayatsu *et al.*, 1987; Villar y Püttmann, 1990).

al anillo E, no se pudieron detectar en ninguna de las muestras estudiadas. Los principales hidrocarburos aromáticos pentacíclicos detectados fueron los triaromáticos (octahidropicenos) con esqueleto de tipo ursano y oleanano. En la Figura IV.21 se muestra el espectro de masas del octahidropiceno de tipo oleanano (2,2,4a,9-tetrametil-1,2,3,4,4a,5,6,14b-octahidropiceno), caracterizado por el pico molecular a m/z 342. A pesar de la posición inicial del doble enlace en la α - y β -amirina, la aromatización de los triterpenos de plantas superiores comienza en el anillo A tras la pérdida del grupo funcional en C-3 y progresa secuencialmente a través de los anillos B y C (Chaffee y Johns, 1983; Simoneit, 1986; Hayatsu *et al.*, 1987). Los hidrocarburos pentacíclicos tetraaromáticos (tetrahidropicenos) correspondientes a un paso posterior de aromatización de los compuestos pentacíclicos triaromáticos tampoco se detectaron en nuestras muestras. Sin embargo, los compuestos pentacíclicos pentaaromáticos (picenos) sí se detectaron en la fracción aromática. El piceno y el 2,9-dimetilpiceno fueron los únicos compuestos detectados con esta estructura. La presencia del último miembro del esquema de aromatización de la β -amirina en muy baja concentración pudiera ser una indicación de la presencia de otra vía preferencial de degradación.

(II) Hidrocarburos aromáticos con el anillo A degradado (des-A-triterpenos): las series con esqueleto des-A-oleanano y des-A-

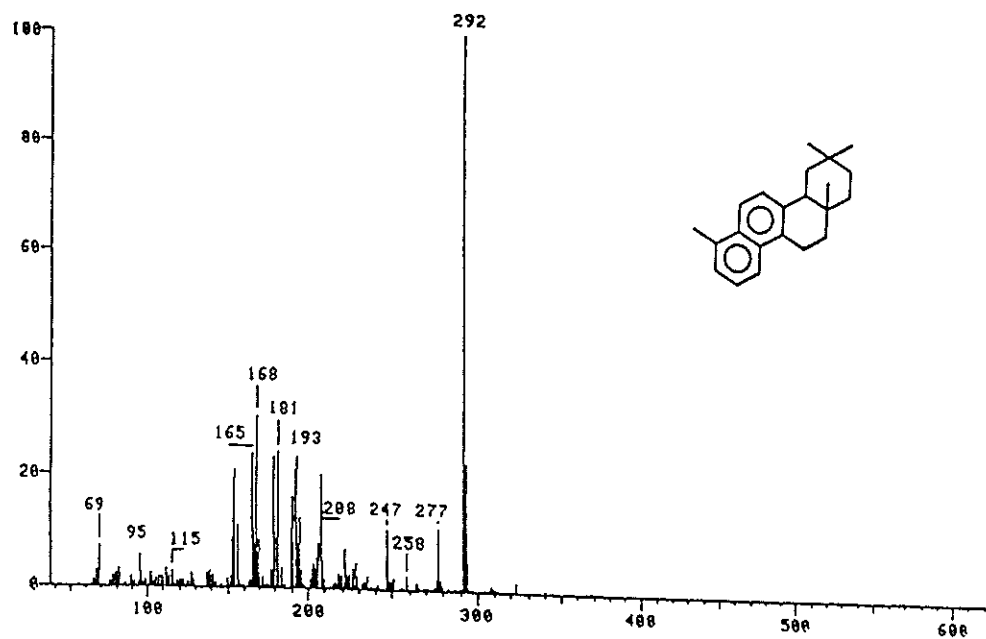
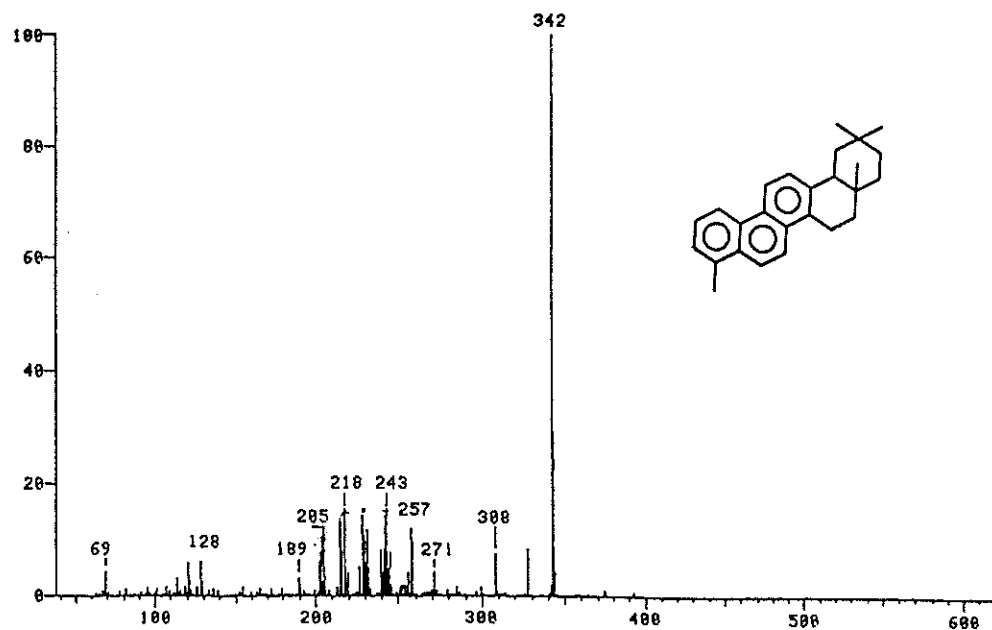


Figura IV.21.- Espectros de masas de 2,2,4a,9-tetrametil-1,2,3,4,4a,5,6,14b-octahidropiceno, 3,3,7,12a-tetrametil-1,2,3,4,4a,11,12,12a-octahidrocriseno, 3,4,7-trimetil-1,2,3,4-tetrahidrocriseno, 1,9-dimetilcriseno y 1,9,10-trimetilcriseno.

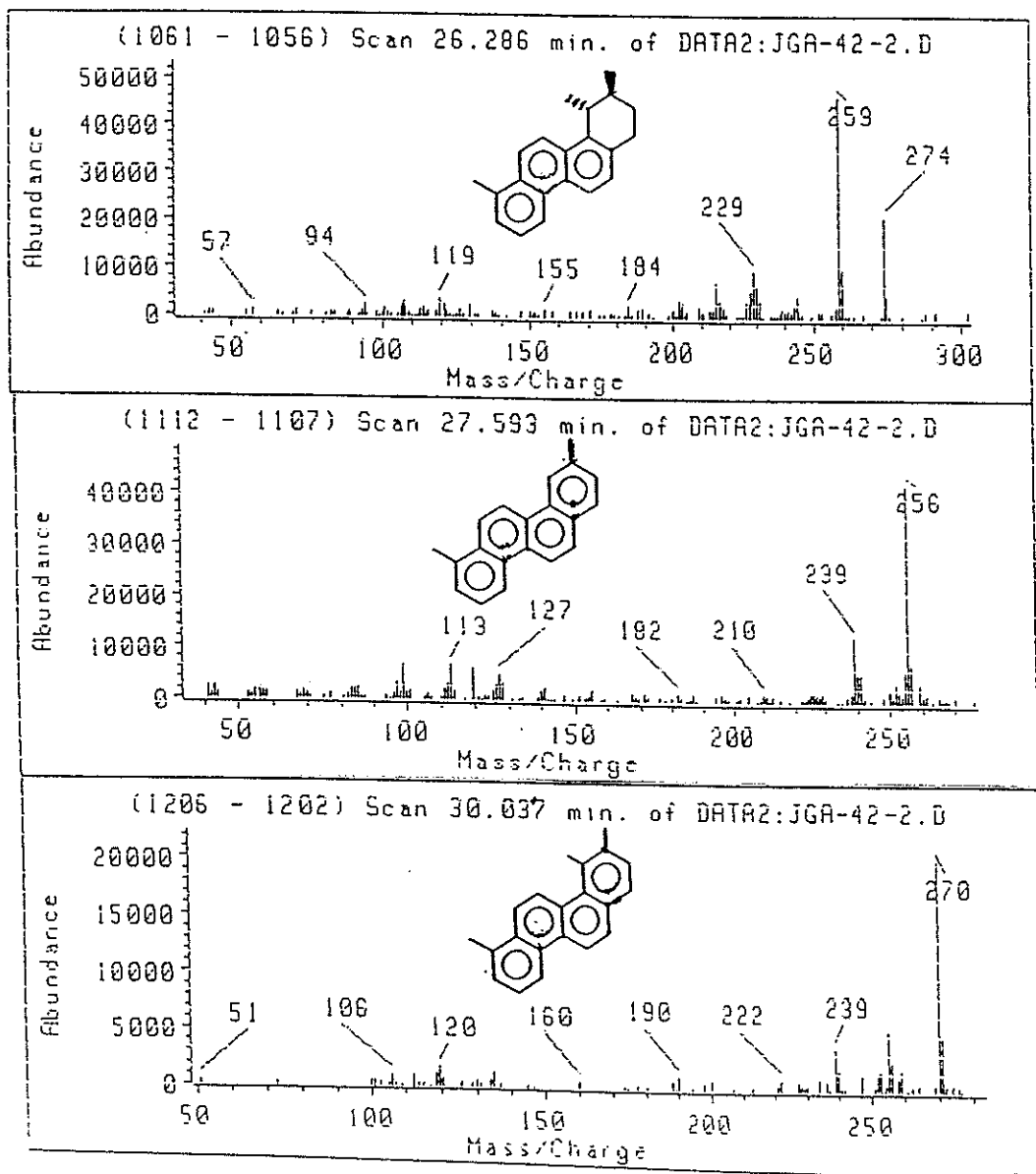


Figura IV.21.- (continuación)

ursano se han detectado en las pizarras estudiadas con diversos grados de aromatización desde el anillo B al E y en cantidades relativamente abundantes. Los miembros monoaromáticos de estas series no se detectaron mientras que los diaromáticos sólo se detectaron en la muestra PB, aunque en cantidades trazas. Un compuesto triaromático con esqueleto de tipo ursano se detectó en gran abundancia en todas las muestras, al igual que compuestos tetraaromáticos con esqueleto ursano y oleanano. En la Figura IV.21 se muestran los espectros de masas de los compuestos citados: un des-A-oleanano diaromático (3,3,7,12a-tetrametil-1,2,3,4,4a,11,12,12a-octahidrocriseno), con un pico molecular a m/z 292; el des-A-ursano triaromático (3,4,7-trimetil-1,2,3,4-tetrahidrocriseno), con un pico base m/z 259 por pérdida de un grupo metilo; y el de un C₂-tetraaromático y un C₃-tetraaromático (el 1,9-dimetilcriseno y el 1,9,10-trimetilcriseno, respetivamente), caracterizados por sus iones moleculares a m/z 256 y 270, respetivamente. Estos compuestos provienen de la degradación del anillo A del triterpeno precursor, empezando por el grupo funcional oxigenado a C-3, y posterior aromatización. Se ha sugerido que tales reacciones podrían ser debidas a la actividad bacteriana (Spyckerelle *et al.*, 1977; Corbet *et al.*, 1980).

Por otra parte, un compuesto tetracíclico monoaromático, con un ion molecular a m/z 324 y fragmentos característicos a m/z 145, 157 y 171, se identificó en relativamente alta concentración en la

muestra PB (Figura IV.22). Un compuesto con un espectro de masas similar ha sido descrito por Loureiro y Cardoso (1990) en otra pizarra bituminosa. Estos autores sugirieron una estructura con esqueleto del tipo des-A-fernano para este compuesto. Los posibles precursores pudieran ser triterpenoides como el fernenol y fernenona, característicos de helehos, que darían lugar a los C_{24} monoaromáticos tetracíclicos vía degradación del anillo A (Figura IV.23).

(III) Triterpenoides aromáticos con el anillo C degradado (compuestos aromáticos 8,14-*seco* ursanos y oleananos): los hidrocarburos tetracíclicos aromáticos con esqueleto 8,14-*seco*ursano y oleanano, representan sólo un grupo minoritario de compuestos detectados en las fracciones aromáticas de las pizarras estudiadas. De hecho, solamente se ha detectado un compuesto con esta estructura, identificado tentativamente como el triaromático 8,14-*seco*oleanano, derivado de la β -amirina y observado por otros autores en muestras similares (Villar *et al.*, 1988; Püttmann y Villar, 1987). Bajo condiciones ácidas, en presencia de minerales de arcilla, ésta parece ser la ruta más favorecida para la degradación de los triterpenoides de angiospermas. Estos compuestos aromáticos tetracíclicos de estructura 8,14-*seco* son importantes intermediarios en la formación de los hidrocarburos bicíclicos (Hayatsu *et al.*, 1987; Villar *et al.*, 1988; Püttmann y Villar, 1987; Villar y

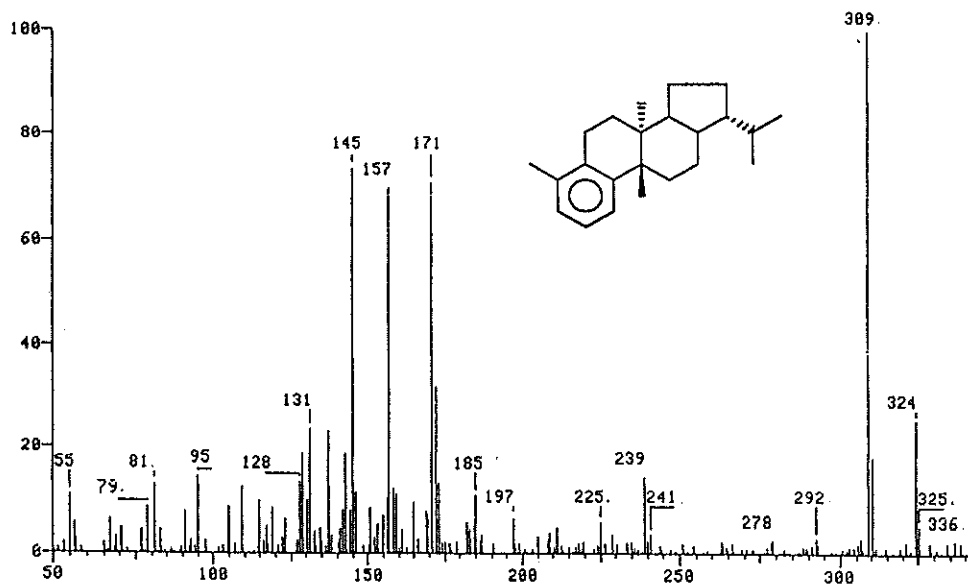


Figura IV.22.- Espectro de masas de un compuesto con esqueleto del tipo des-A-ferneno.

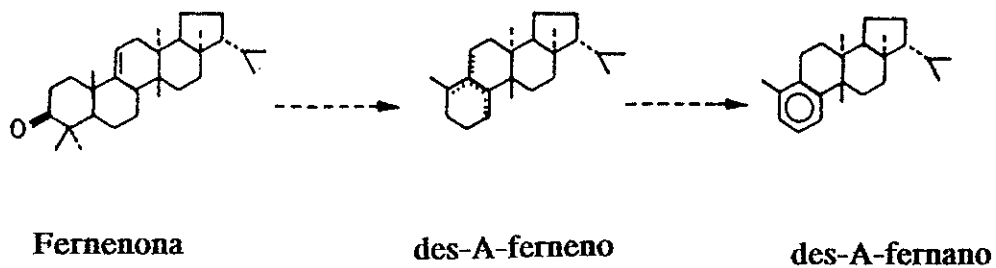


Figura IV.23.- Propuesta diagenética de formación de compuestos con esqueleto del tipo des-A-ferneno a partir de fernenol y fernenona (Loureiro y Cardoso, 1990).

Püttmann, 1990).

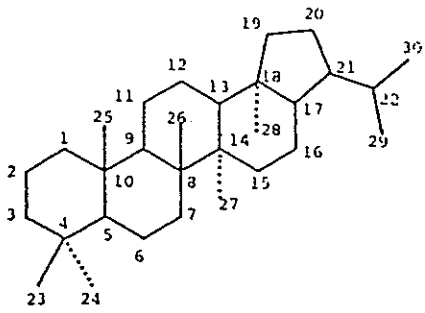
El predominio de las estructuras naftalénicas (del tipo 1,2,5-TMN, 1,2,7-TMN y 1,2,5,6-tetraMN) respecto a sus potenciales precursores, los compuestos 8,14-*secotriterpenoides*, podría ser consecuencia de una completa rotura del anillo C de las estructuras triterpénicas pentacíclicas en una única etapa concertada. Esta reacción podría competir con la rotura, únicamente, del enlace 8(14) y la formación de los correspondientes 8,14-*secotriterpenos* aromáticos.

Los triterpenos naturales con esqueletos de tipo oleanano y ursano se encuentran normalmente en angiospermas y derivan principalmente de triterpenos de plantas superiores tales como la α - y β -amirina, mientras que los compuestos de esqueleto tipo fernano son característicos de helechos y su presencia aboga por la contribución de tales plantas a la biomasa original de las pizarras de Puertollano. De acuerdo con los compuestos que se han identificado en la fracción aromática, parece evidente que la degradación del anillo A (ruta II) y la posterior aromatización progresiva desde el anillo B al E formando des-A-triterpenoides ha sido la ruta degradativa más importante que los triterpenos de plantas superiores han experimentado en las diversas pizarras estudiadas. Muchos de los triterpenoides pentacíclicos que se presentan en la naturaleza tienen una función alcohol en la posición C-3 del anillo A. Si la oxidación de estos alcoholes ocurre durante las primeras etapas de

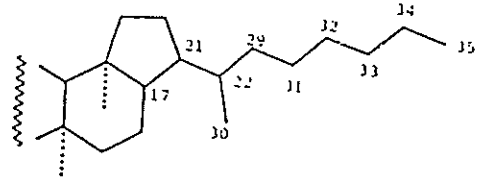
la diagénesis, la degradación del anillo A debería estar favorecida, dando lugar a la formación de derivados del criseno (Corbet *et al.*, 1980; Hayatsu *et al.*, 1987). Se ha sugerido que esta degradación tiene lugar mediante procesos microbianos y/o fotoquímico.

IV.2.5.3. Triterpenos con esqueleto de tipo hopano.

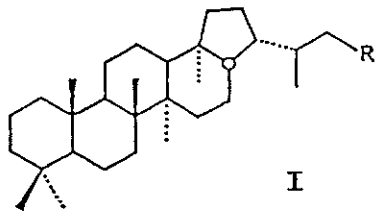
Triterpenos pentacíclicos saturados del tipo hopano. La presencia ubicua de los hopanos en muestras geológicas está relacionada principalmente con la actividad bacteriana y también con la presencia de algas verde-azuladas (Ourisson *et al.*, 1979,1987; Rohmer *et al.*, 1984,1992). Se acepta normalmente que los hopanos derivan de un hopano C₃₀ insaturado, el diplopteno, o de un C₃₅-bacteriohopanotetrol, presentes ambos en microorganismos (Ourisson *et al.*, 1979,1984). En la Figura IV.24, se muestra la estructura general de hopanos y las configuraciones más características. Los precursores bioquímicos de los hopanos tienen la estereoquímica 17 β (H),21 β (H) (II) y con la configuración R en la posición C-22. Durante los procesos de maduración, esta configuración evoluciona hacia otras termodinámicamente más estables; en una primera etapa se forman los moretanos, con la configuración 17 β (H),21 α (H) (III), y finalmente los compuestos de mayor estabilidad termodinámica, los 17 α (H),21 β (H) (I) (van Dorsselaer *et al.*, 1977; Ensminger *et al.*, 1977). Paralelamente a estos procesos, en la posición C-22 de



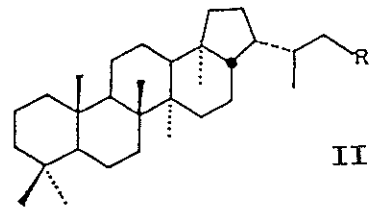
Esqueleto general de hopanos



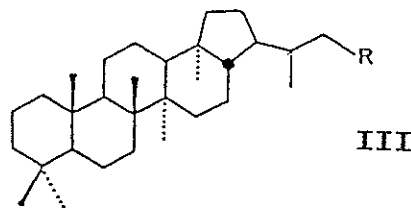
Hopanos extendidos



17 α (H),21 β (H)-hopanos



17 β (H),21 β (H)-hopanos



17 β (H),21 α (H)-moretanos

Figura IV.24.- Estructura general de hopanos con sus configuraciones más características.

los homólogos superiores tiene lugar una racemización, llegando a un estado de equilibrio con un mayor predominio (60%) del isómero 22S (Mackenzie *et al.*, 1980).

Las distribuciones de los hidrocarburos pentacíclicos con esqueleto hopanoide (C_{27} - C_{35}) identificados en las diversas muestras se presentan en los cromatogramas parciales del ion m/z 191 de la Figura IV.25. La identificación de los componentes individuales se realizó de acuerdo con los espectros de masas y tiempos de retención relativos publicados en la bibliografía (Seifert y Moldowan, 1978, 1981; Philp, 1985a,b).

En la Figura IV.26 se muestran los espectros de masas de los hopanos $17\alpha(H),21\beta(H)-C_{29}$, $17\beta(H),21\alpha(H)-C_{29}$ y $17\beta(H),21\beta(H)-C_{29}$. Se puede observar que hay una significativa variación en la relativa abundancia de los iones m/z 191 y m/z 148 + R. Así, en la configuración $17\alpha(H),21\beta(H)$, el ion m/z 191 presenta mayor intensidad que el ion m/z 177, mientras en la configuración $17\beta(H),21\beta(H)$ es el fragmento m/z 177 el que presenta mayor intensidad. En la configuración de $17\beta(H),21\alpha(H)$ (moretanos), la relación de intensidades es similar.

En la Figura IV.27 se muestran los espectros de masas de los tres C_{27} -hopanos, $18\alpha(H)-22,29,30$ -trisorhopano (T_s), $17\alpha(H)-22,29,30$ -trisorhopano (T_m) y $17\beta(H)-22,29,30$ -trisorhopano ($C_{27}\beta$). Tanto T_s como T_m presentan un pico base a m/z 191 y fragmentos característicos a m/z 149, mientras que el $17\beta(H)-C_{27}$ presenta un

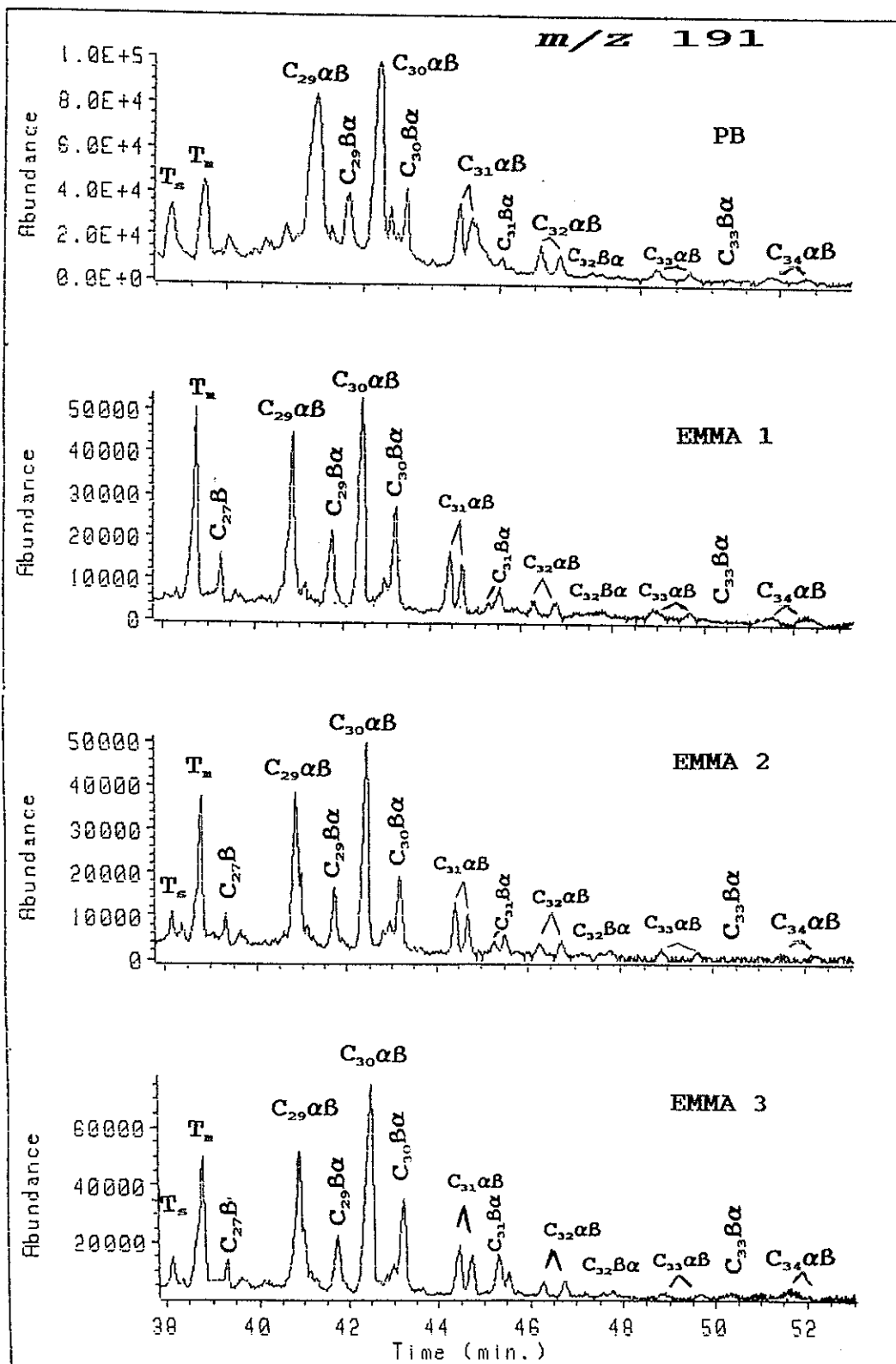


Figura IV.25.- Fragmentograma parcial (m/z 191) mostrando la distribución de los triterpenos hopanoides (C_{27} - C_{35}) presentes en las fracciones saturadas de las muestras estudiadas.

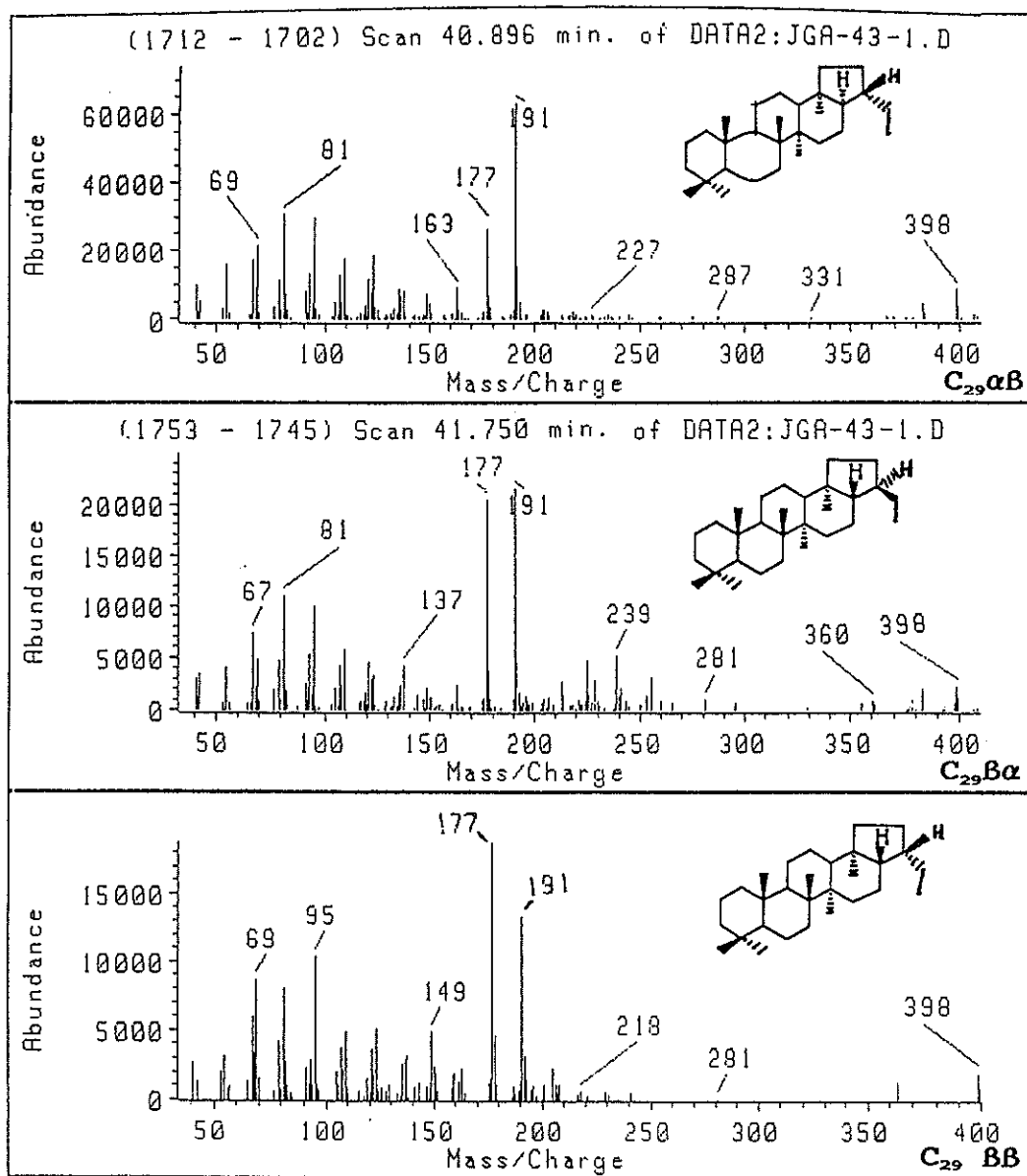


Figura IV.26.- Espectros de masas de los hopanos (C_{29}) $17\alpha(H),21\beta(H)$, $17\beta(H),21\alpha(H)$ y $17\beta(H),21\beta(H)$.

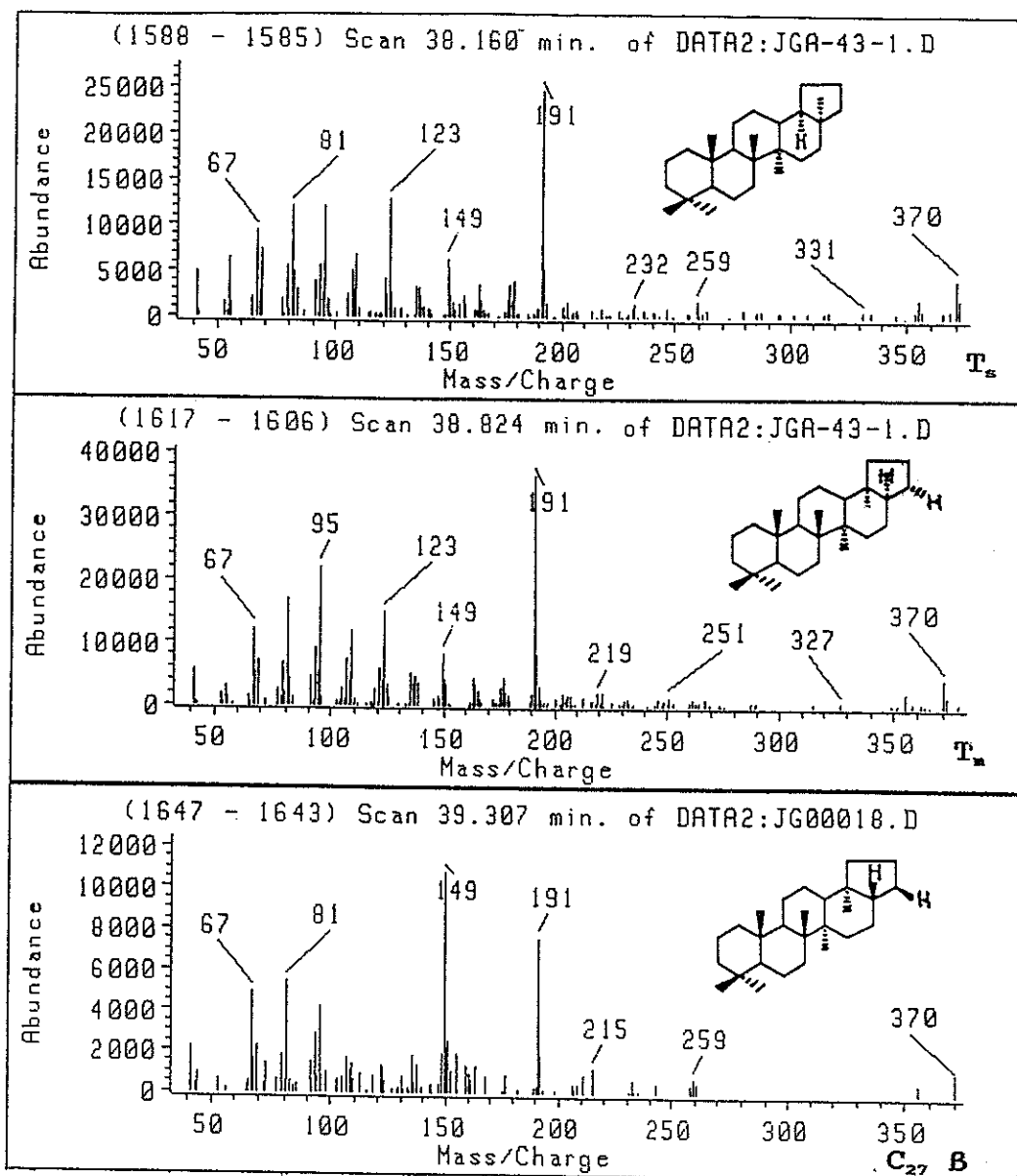


Figura IV.27.- Espectros de masas de los tres hopanos C₂₇, 18 α (H)-22,29,30-trisnorhopano (T_s), el 17 α (H)-22,29,30-trisnorhopano (T_m) y el 17 β (H)-22,29,30-trisnorhopano (C₂₇ B).

pico base a m/z 149.

Como se observa en los cromatogramas de la Figura IV.25, las series de hopanos están dominadas por los homólogos de configuración $17\alpha(H),21\beta(H)$, con la presencia de los epímeros 22S y 22R para los homólogos extendidos ($> C_{31}$). Los componentes más abundantes en todas las muestras son el $17\alpha(H)-22,29,30$ -trisorhopano (T_m), el C_{29} $17\alpha(H),21\beta(H)$ -norhopano y el C_{30} $17\alpha(H),21\beta(H)$ -hopano. La serie de $17\beta(H),21\alpha(H)$ -hopanos (moretanos), también está presente pero en menor abundancia.

En la Tabla IV.5 se muestran algunos parámetros geoquímicos de madurez, basados en las distribuciones de hopanos.

Tabla IV.5.- Parametros geoquimicos referidos a la distribución de hopanos.

Parámetro	PB	EMMA 1	EMMA 2	EMMA 3
$C_{29} + C_{30}/C_{27}$	4.0	2.0	2.9	2.6
$C_{30} \beta\alpha/\alpha\beta$	0.3	0.4	0.3	0.4
$C_{31} R/R + S$	0.4	0.4	0.4	0.4
T_s/T_m	0.6	n.d	0.2	0.2

Se considera que los hopanos C_{29} y C_{30} (hopanos primarios) dan lugar al hopano C_{27} (hopano secundario), por tanto, la abundancia de los hopanos C_{29} y C_{30} respecto de los C_{27} (superior a

2), sugiere que estas pizarras tienen aún poca madurez, ya que la relación tiende a la unidad con el aumento de la madurez (Seifert y Moldowan, 1978,1981; Philp, 1985a,b). La razón de los C_{30} $17\beta(H),21\alpha(H)$ -moretano y $17\alpha(H),21\beta(H)$ -hopano en el caso de las pizarras estudiadas (0.3-0.4) también sugiere que son de baja madurez, ya que en muestras muy maduras su valor se aproxima a 0.1 (Seifert *et al.*, 1978; Seifert y Moldowan, 1978,1981; Philp, 1985a,b). La razón entre las abundancias relativas de los isómeros 22S y 22R para el hopano C_{31} (60:40) nos indicaría una relación de equilibrio (Mackenzie *et al.*, 1980). Igualmente el predominio de T_m sobre T_s en la muestra PB, EMMA 2 y EMMA 3, también indicaría la baja madurez de estas pizarras, porque mientras T_m se ve afectado por cambios en la madurez de un sedimento, el T_s no (Seifert y Moldowan, 1978,1981). Todos estos parámetros parecen indicar además que las muestras EMMAS son ligeramente más maduras que la PB.

Triterpenos pentacíclicos aromáticos del tipo hopano. En la fracción aromática de la pizarra PB se detectó un compuesto en cantidades trazas, con ion molecular a m/z 346, que hemos identificado tentativamente como el hidrocarburo diaromático 8,14,18-trisnormetiladiapentaeno. En el caso de los triterpenos con esqueleto hopanoide, la ruta de degradación implica una aromatización secuencial desde el anillo D al anillo A (Figura

IV.28) (Greiner *et al.*, 1976). Esta secuencia de aromatización parece deberse a la isomerización del doble enlace observada en el diplopteno.

La escasa presencia de estos hopanoides aromáticos en la pizarra PB y su ausencia en las pizarras EMMAs pudiera ser una indicación del poco estado evolutivo de estas pizarras, o bien pudiera deberse a la presencia de otra vía preferencial de degradación de los precursores hopanoides como puede ser, por ejemplo, la rotura total o parcial del anillo C, reacciones que compiten con las correspondientes reacciones de aromatización (Killops y Killops, 1993), que desarrollaremos a continuación.

Triterpenos tetracíclicos 17(21)-*secohopanos*. En la traza *m/z* 191 de la Figura IV.17 también se identificaron una serie de hidrocarburos tetracíclicos, que de acuerdo con sus espectros de masas, los tiempos de retención relativos y las asignaciones hechas previamente por Aquino Neto *et al.*, (1983) y Czochanska *et al.*, (1988), se corresponden con los 17,21-*secohopanos*. Esta serie se detectó en relativamente alta abundancia en las muestras EMMA 1, 2 y 3, desde el C_{24/4} al C_{27/4}. En la muestra PB solo se pudo identificar el homólogo C_{24/4}. Estos triterpenos tetracíclicos 17(21)-*secohopanos* se han encontrado en muestras similares en el rango C₂₄-C₂₇ (Trendel *et al.*, 1982; Aquino Neto *et al.*, 1983). En la Figura IV.29 se muestran los espectros de masas de los tres

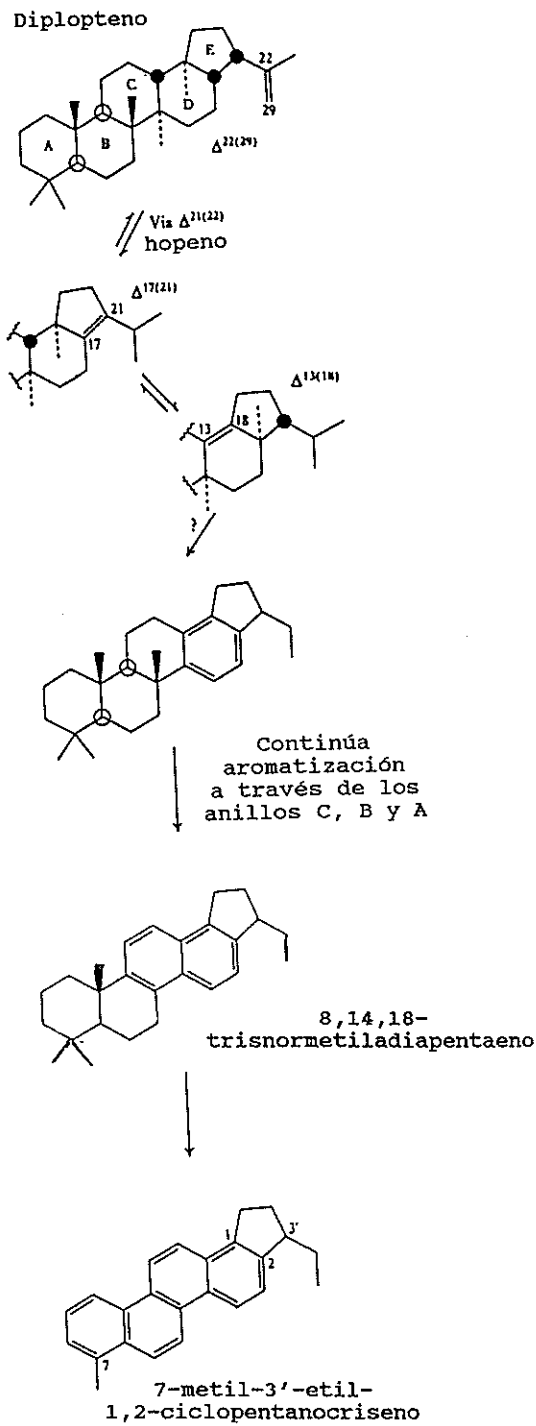


Figura IV.28.- Esquema de aromatización de triterpenos con esqueleto hopanoide (Greiner *et al.*, 1976).

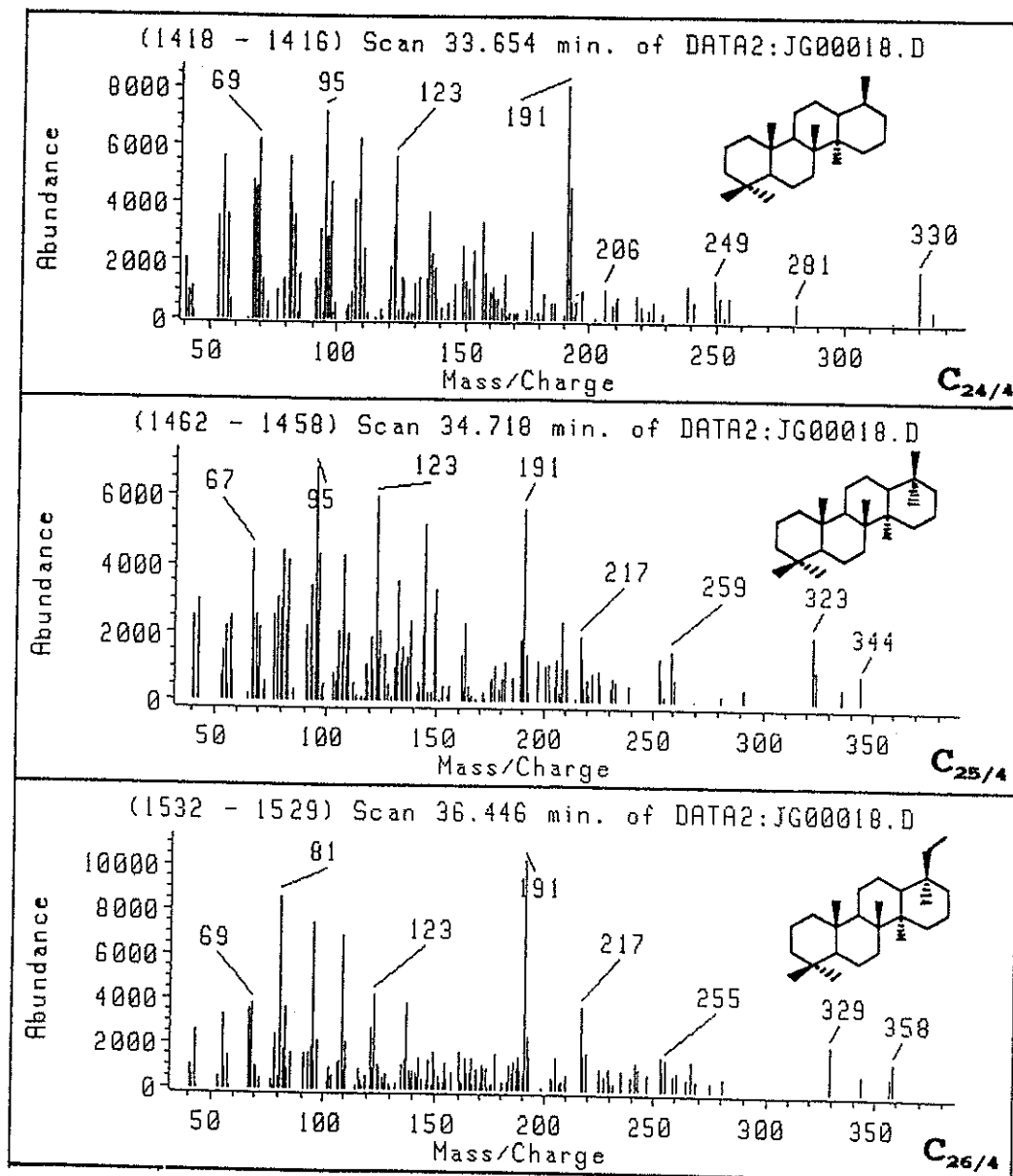


Figura IV.29.- Espectros de masas de los 17,21-secohopanos $C_{24/4}$, $C_{25/4}$ y $C_{26/4}$ identificados en el cromatograma de la Figura IV.17.

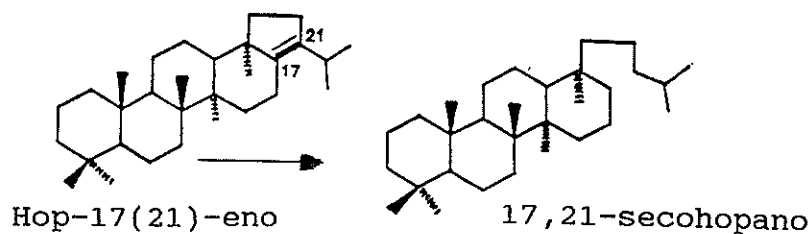


Figura IV.30.- Formación de los 17,21-secohopanos por degradación bacteriana del hop-17(21)-eno (Trendel *et al.*, 1982).

primeros miembros de la serie, el C_{24/4} (17β(H)-20,21,22,28,29,30-hexaquisnorhopano), el C_{25/4} (17β(H)-20,21,22,29,30-pentaquisnorhopano) y el C_{26/4} (17β(H)-21,22,29,30-tetraquisnorhopano). En todos ellos está presente el fragmento característico *m/z* 191 y los iones moleculares *m/z* 330, 344 y 358, respectivamente.

La transformación de los triterpenos pentacíclicos de esqueleto hopano en compuestos tetracíclicos es previsible que ocurra por rotura del enlace 17(21) del hopano precursor, hop-17(21)-eno, según el esquema de la Figura IV.30, por influencia microbiana durante las primeras etapas de la diagénesis, o por degradación termocatalítica (Trendel *et al.*, 1982).

Triterpenos tetracíclicos del tipo 8,14-*seco*hopanos. Una mezcla compleja de 8,14-*seco*hopanos pudo detectarse en la fracción de hidrocarburos saturados de la pizarra PB, pero en cantidades trazas. Debido a la complejidad de esta serie, se analizó por cromatografía de gases acoplada a un sistema tandem de espectrometría de masas (GC-MS/MS). En la Figura IV.31 se muestra el correspondiente fragmentograma GC-MS/MS del pico base *m/z* 123, así como de los respectivos iones padre (*m/z* 372, 400, 414 y 428). En el primer cuadrupolo se seleccionaron los iones moleculares a *m/z* 372 + 14n y en el tercer cuadrupolo el pico base característico de la serie *m/z* 123. La serie pudo así detectarse en el rango desde C₂₇ a C₃₂ con la

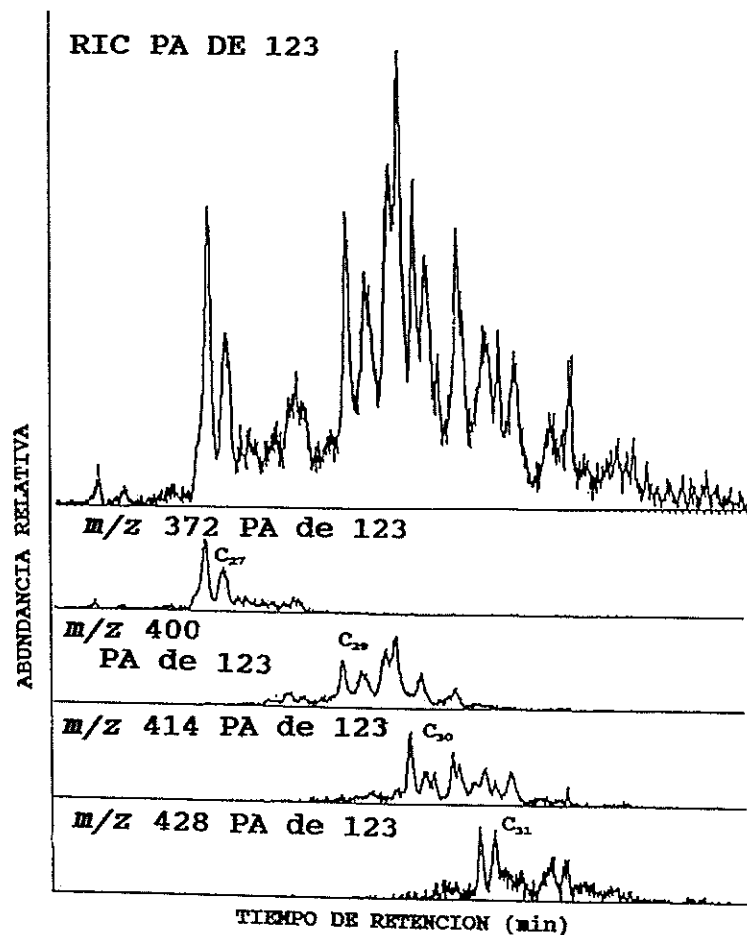


Figura IV.31.- Fragmentograma de GC-MS/MS (ion hijo a m/z 123) mostrando la distribución de los 8,14-*seco*hopanos (iones padre a m/z 372, 400, 414 y 428).

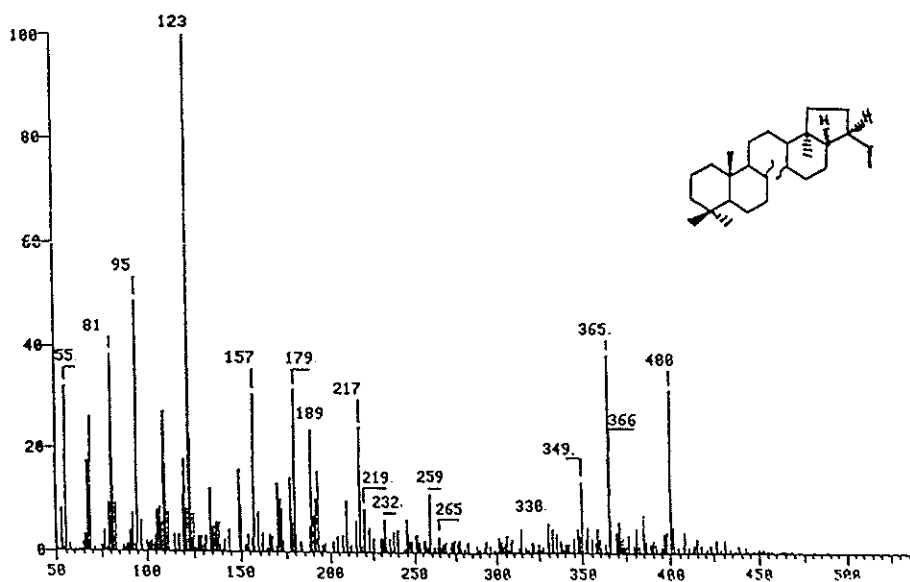


Figura IV.32.- Espectro de masas de C_{29} 8,14-*seco*hopano.

excepción del homólogo C₂₈. Dos estereoisómeros (S y R) pudieron resolverse para los homólogos C₃₁ y C₃₂. Se pudo también detectar la presencia de diferentes isómeros, aunque no fue posible asignar la estereoquímica de los mismos. En la Figura IV.32 se muestra el espectro de masas de un 8,14-*seco*hopano C₂₉, con la presencia del ion característico *m/z* 123 y el molecular *m/z* 400.

Los 8(14)-*seco*hopanos derivan directamente de los hopanos pentacíclicos por rotura del enlace 8(14) en el anillo C (Rinaldi *et al.*, 1988; Fazeelat *et al.*, 1994), aparentemente mediante catálisis ácida y probablemente son los precursores de la serie de sesquiterpenos bicíclicos de esqueleto tipo drimano previamente discutidas, por una rotura posterior del enlace 11(12) (Alexander *et al.*, 1984; Hussler *et al.*, 1984a), como ya se indicó en la Figura IV.7.a)

8,14-*seco*hopanos con el anillo D aromatzado. También se identificaron en las fracciones aromáticas de las pizarras estudiadas en cantidades relativamente abundantes, mediante monitorización del ion característico a *m/z* 365 (Figura IV.33). Esta serie se encontró en el rango C₂₉-C₃₂ con la presencia de dos estereoisómeros para el C₃₁ y C₃₂ y con un predominio de los homólogos C₂₉ y C₃₀ al igual que se ha observado en otros sedimentos (Hussler *et al.*, 1984b; Connan *et al.*, 1986). En la Figura IV.34 se muestran los espectros de masas del C₂₉ y C₃₀ 8,14-*seco*hopanos con el anillo D

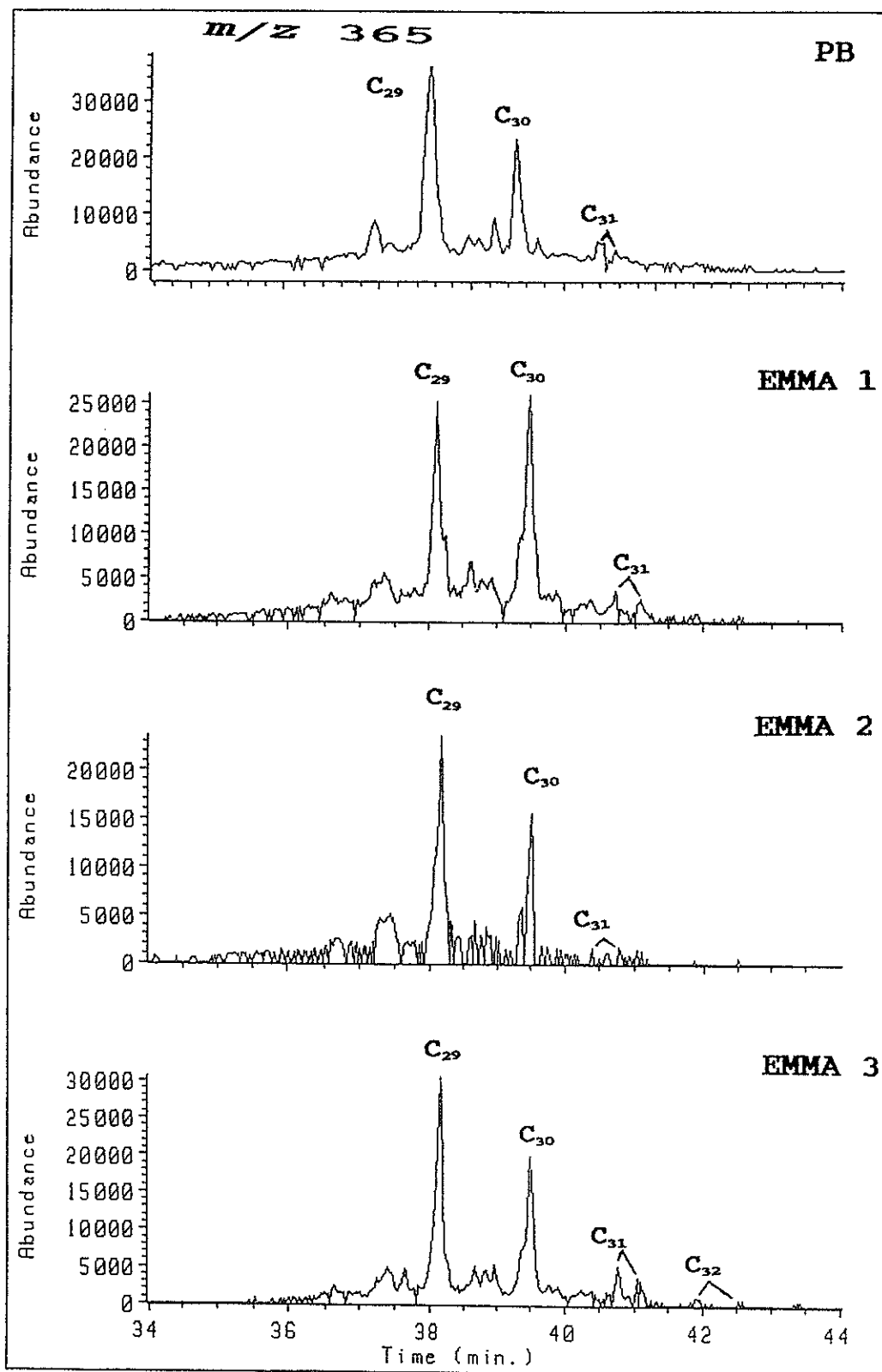


Figura IV.33.- Fragmentograma (m/z 365) mostrando la distribución de los 8,14-secohopanos con el anillo D aromatizado presentes en las fracciones saturadas de las muestras estudiadas.

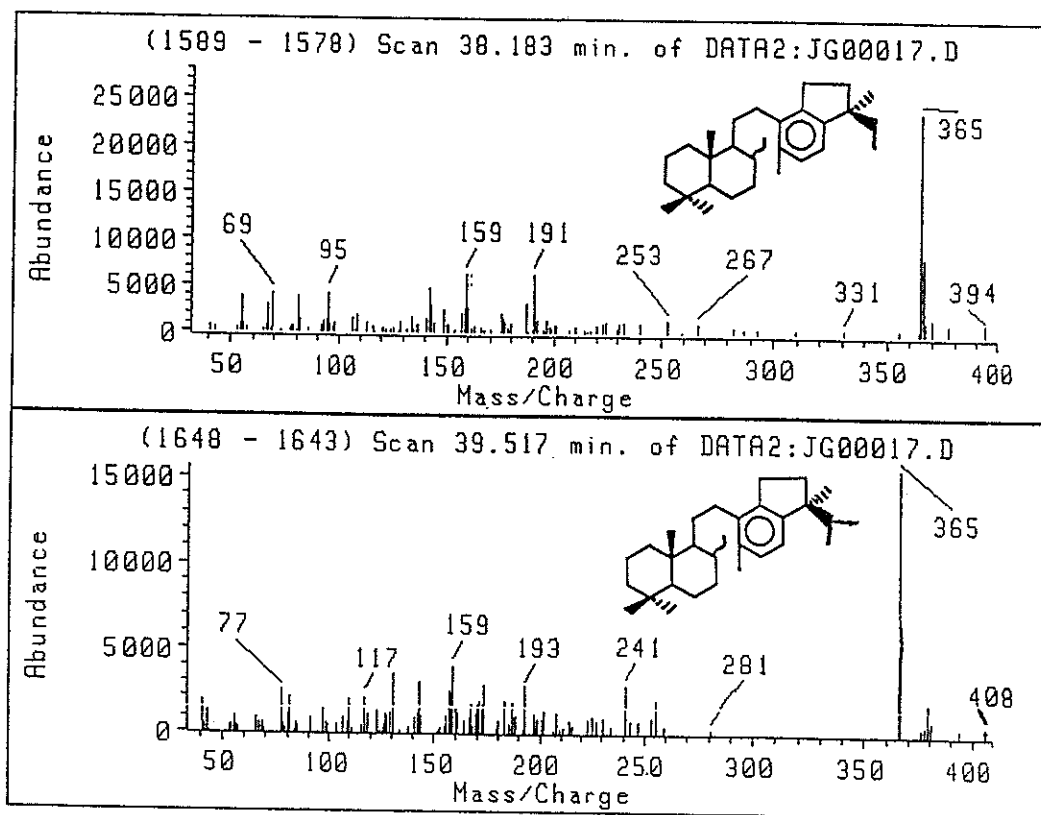


Figura IV.34.- Espectros de masas de *C*₂₉ y *C*₃₀ 8,14-secohopanos con el anillo D aromatizado.

aromatizado, caracterizados por el ion m/z 365 de la pérdida del grupo etilo e isopropilo, respectivamente. Los *secohopanos* monoaromáticos han sido frecuentemente detectados en pizarras bituminosas inmaduras (Hussler *et al.*, 1981) y se han considerado indicativos de ambientes deposicionales relacionados con evaporitas y carbonatos.

Hopanos hexacíclicos. Un compuesto con un tiempo de retención intermedio entre el C_{31} y C_{32} $17\alpha(H),21\beta(H)$ -hopanos y un espectro de masas con pico base a m/z 191 y con un ion molecular a m/z 424, se detectó también en la fracción saturada de la muestra PB (Figura IV.35). Este tipo de compuestos no se detectó en las otras muestras. El espectro de masas es similar al publicado por Rinaldi *et al.*, (1988) y Connan y Dessort (1987) para un hopano hexacíclico de 31 átomos de carbono ($C_{31/6}$), el $18\alpha(H)$ -hopano hexacíclico y cuya estructura se muestra en la misma Figura. Se ha sugerido que este compuesto se forma por ciclación del bacteriohopanotetrol durante las primeras etapas de la diagénesis. La estructura de este compuesto es diferente a la de la serie de compuestos hexacíclicos de esqueleto hopanoide identificada por Connan y Dessort (1987) en el rango C_{32} - C_{35} (Figura IV.35 (b)), la cual no se detectó en la pizarra de Puertollano, lo que sugiere una ruta diagenética diferente de formación entre éstos y el $C_{31/6}$ identificado en la muestra PB.

Una serie de compuestos con peso molecular 432, 446, 460

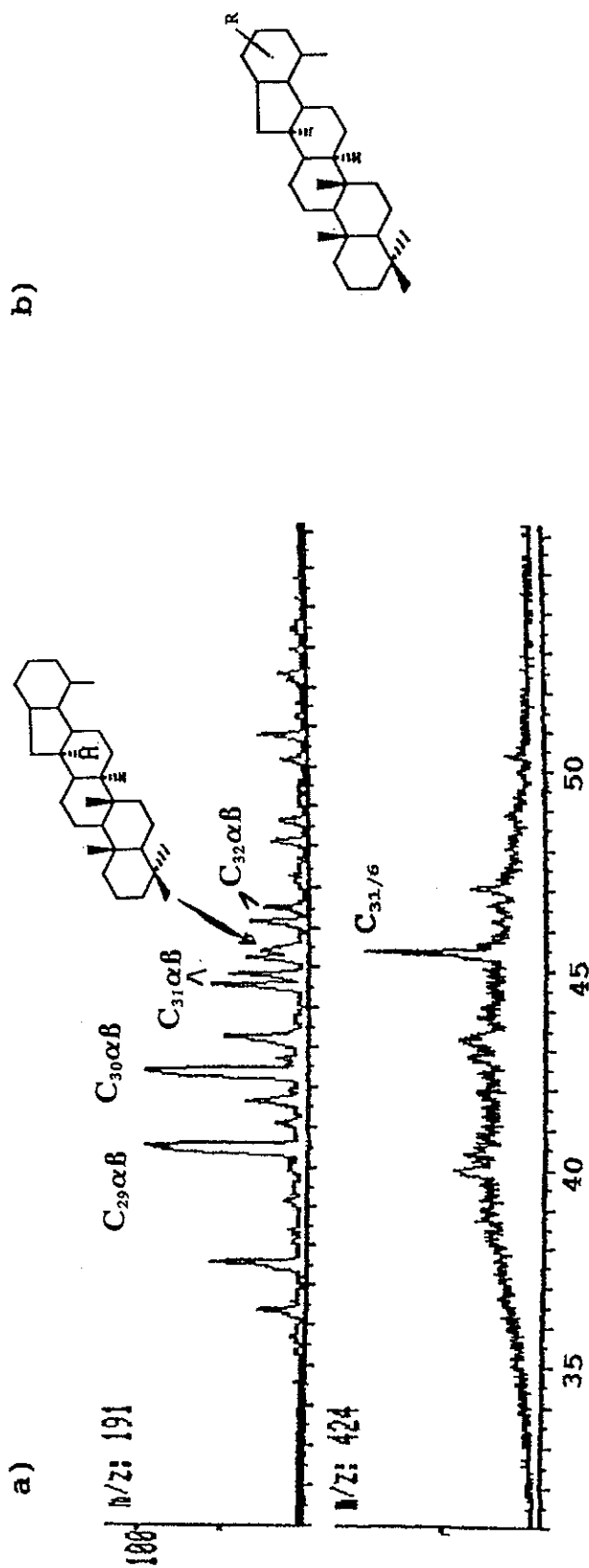


Figura IV.35. - a) Fragmentograma (m/z 424) correspondiente al C_{32} , $18\alpha(H)$ -hopano hexacíclico. b) Serie de hopanos hexacíclicos en el rango C_{32} - C_{35} descrita por Connan y Dessort (1987)

y 474, y con un pico base a m/z 191, también se identificaron únicamente en la fracción saturada de la muestra PB. Estos compuestos corresponden a una serie de benzohopanos desde el C_{32} hasta el C_{35} , que han sido previamente descritos por Hussler *et al.*, (1984b) y Rinaldi *et al.*, (1988). En la Figura IV.36 se muestran los espectros de masas de los dos primeros miembros de la serie, caracterizados por un pico base a m/z 191 y un doblete de iones de análoga intensidad a m/z 211 + R y m/z 226 + R. Hussler *et al.*, (1984b) sugirieron que la serie de benzohopanos (C_{32} - C_{35}) pudiera derivar del bacteriohopanotetrol por deshidratación y ciclación durante las primeras etapas de la diagénesis. La degradación posterior de la cadena lateral daría lugar a la formación de los homólogos menores. Por otra parte, Rinaldi *et al.*, (1988) postularon una oxidación biológica anterior a la reacción de degradación para explicar la formación de los primeros homólogos de la serie. La aromatización se llevaría a cabo por oxidación bacteriana bajo condiciones anaeróbicas. La serie de benzohopanos suele encontrarse en aceites y sedimentos recientes asociados normalmente con los 8,14-*sec*ohopanos con el anillo D aromatizado. Por tanto, ambas series se originan probablemente a partir de los mismos precursores, los C_{35} -bacteriohopanoides, aunque los benzohopanos parecen formarse en una anterior etapa diagenética, por reacciones que desarrollarían la ciclación de la cadena lateral sobre el anillo E (Hussler *et al.*, 1984b).

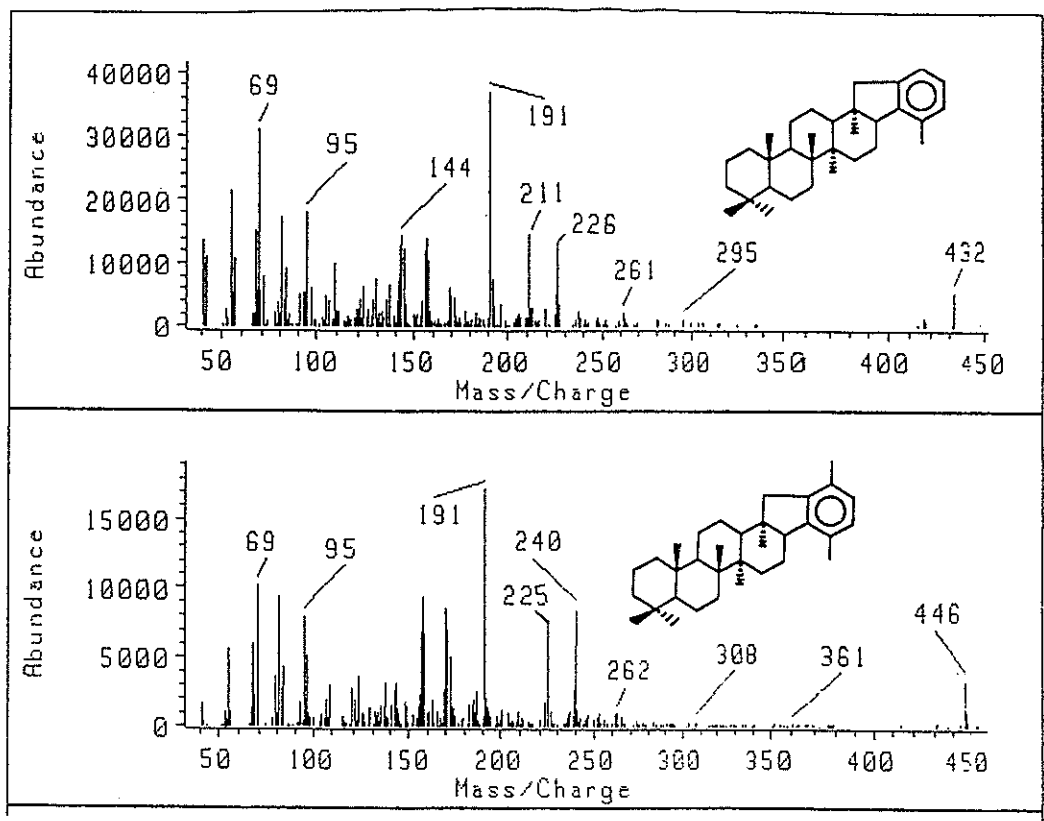


Figura IV.36.- Espectros de masas de C₃₂ y C₃₃ benzohopano.

La presencia en relativamente alta abundancia de biomarcadores con esqueleto hopanoide, permite concluir que el bacteriohopanotetrol (precursor bioquímico de las diferentes series) ha sido un constituyente significativo de la biomasa original de la pizarra bituminosa de Puertollano, así como que estas aportaciones bacterianas se desarrollaron en condiciones reductoras. En la Figura IV.37 se detallan las posibles rutas degradativas y de formación de los triterpenos del tipo hopano en la muestra PB. Durante la diagénesis, los 8,14-*seco*hopanos saturados y aromáticos parecen ser tan estables como los hopanos y la relación de las concentraciones de los *seco*hopanos respecto de sus productos de degradación (los hidrocarburos bicíclicos), permanece prácticamente constante. Este comportamiento es consecuencia de la completa rotura del anillo C en una etapa concertada, reacción que compite con la rotura del enlace 8(14) de los precursores hopanoicos. Por lo tanto, los sesquiterpenos bicíclicos, los *seco*hopanos y los hopanos pueden representar productos de reacciones en competencia. Estas reacciones también compiten con las correspondientes reacciones de aromatización (Killops y Killops, 1993).

IV.2.5.4. Triterpenos esteroidales.

Esteranos y diasteranos. En las fracciones de hidrocarburos saturados de las muestras, se identificaron mezclas complejas de esteranos regulares y diasteranos en el rango C₂₇-C₂₉. En la Figura

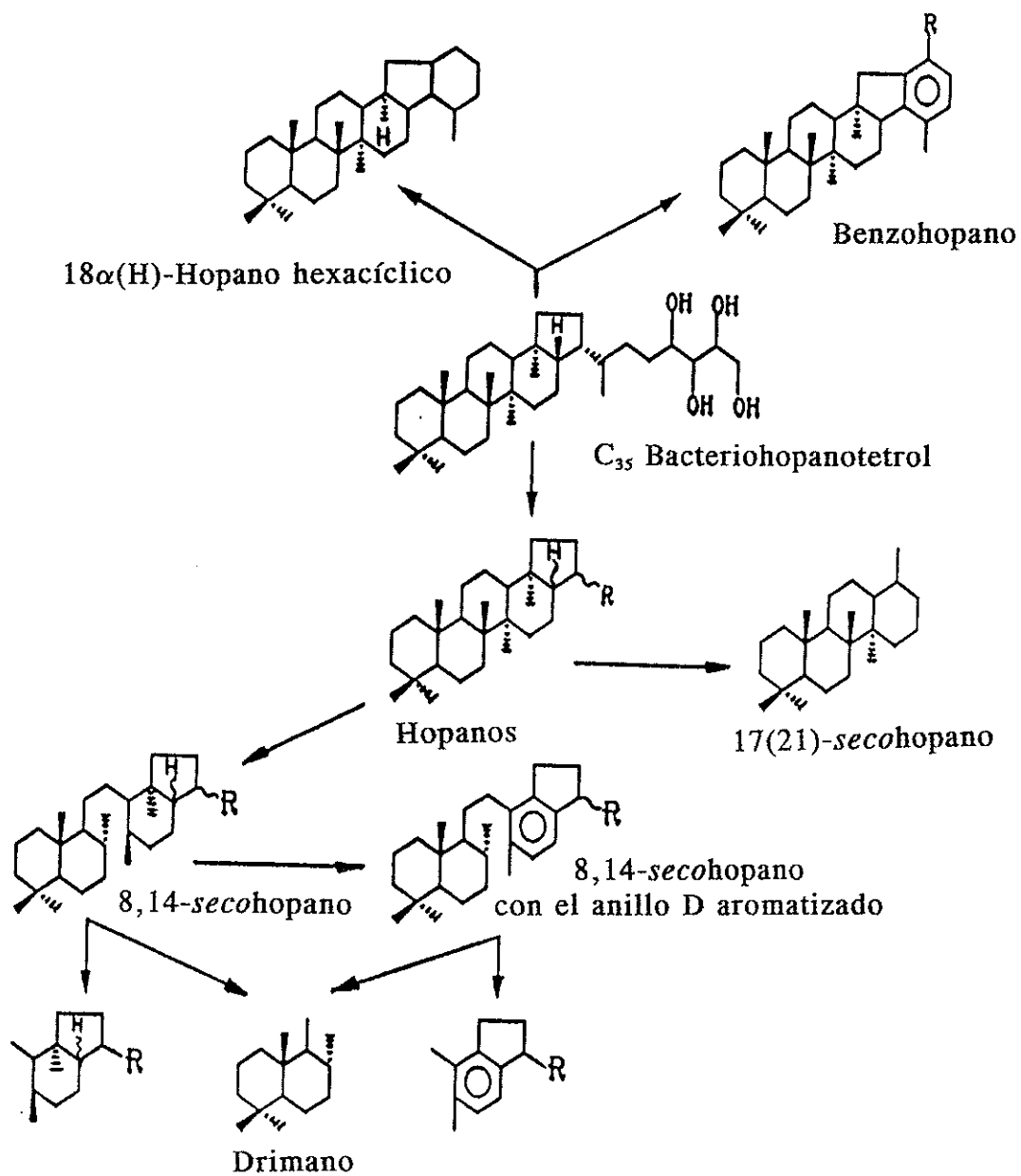
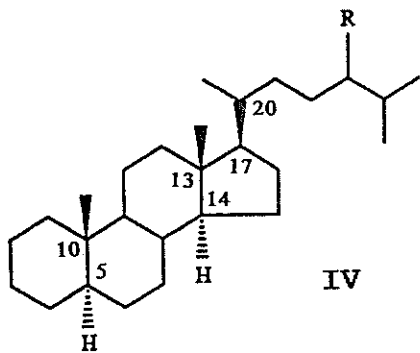


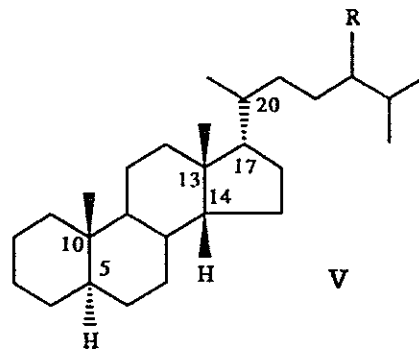
Figura IV.37.- Ruta degradativa y de formación de los triterpenos pentacíclicos del tipo hopano en la pizarra bituminosa de Puertollano.

IV.38 se muestran las estructuras generales de esteranos y diasteranos. Como muchos de ellos coeluyen, su exacta identificación presenta muchas dificultades. Para conseguir una identificación de cada isómero individual, los esteranos de la fracción saturada de la muestra PB se analizaron por GC-MS/MS. La distribución de los iones padre de los esteranos (que corresponden a los iones moleculares, m/z 372, 386 y 400) que dan lugar al fragmento m/z 217 se muestra en la Figura IV.39. En la Figura IV.40 se muestran las distribuciones de esteranos en las pizarras EMMAs por monitorización del ion m/z 217. La identificación de los componentes individuales se recoge en la Tabla IV.6.

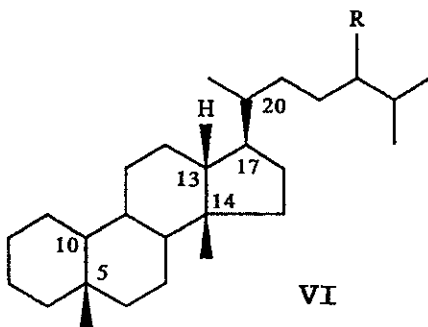
Los esteranos provienen de los esteroides. Los esteroides naturales tienen todos la configuración $8\beta(H), 9\alpha(H), 10\beta(CH_3), 14\alpha(H), 17\alpha(H), 20R$ y cualquiera de las configuraciones R o S en la posición C_{24} . Durante la diagénesis y maduración, los esteranos se convierten en las configuraciones más estables produciéndose cambios en las posiciones $C_5, C_{14}, C_{17},$ y C_{20} . Así, a partir de la configuración originaria $5\alpha(H), 14\alpha(H), 17\alpha(H), 20R$, se producen los correspondientes epímeros en las posiciones 5, 14 y 17. Destacan las configuraciones $14\alpha(H), 17\alpha(H), 20S$ (IV) y las $14\beta(H), 17\beta(H), 20R$ (V), que aparecen en la mayoría de las muestras geológicas maduras. La epimerización de estos centros se combina con la isomerización en C_{20} , que pasa de la configuración R a la S



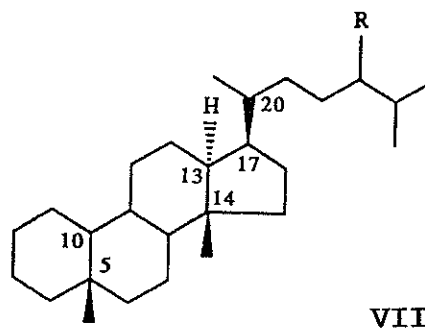
14 α (H),17 α (H)-esteranos



14 β (H),17 β (H)-esteranos



13 β (H),17 α (H)-diasteranos



13 α (H),17 β (H)-diasteranos

Figura IV.38.- Estructuras generales de esteranos y diasteranos

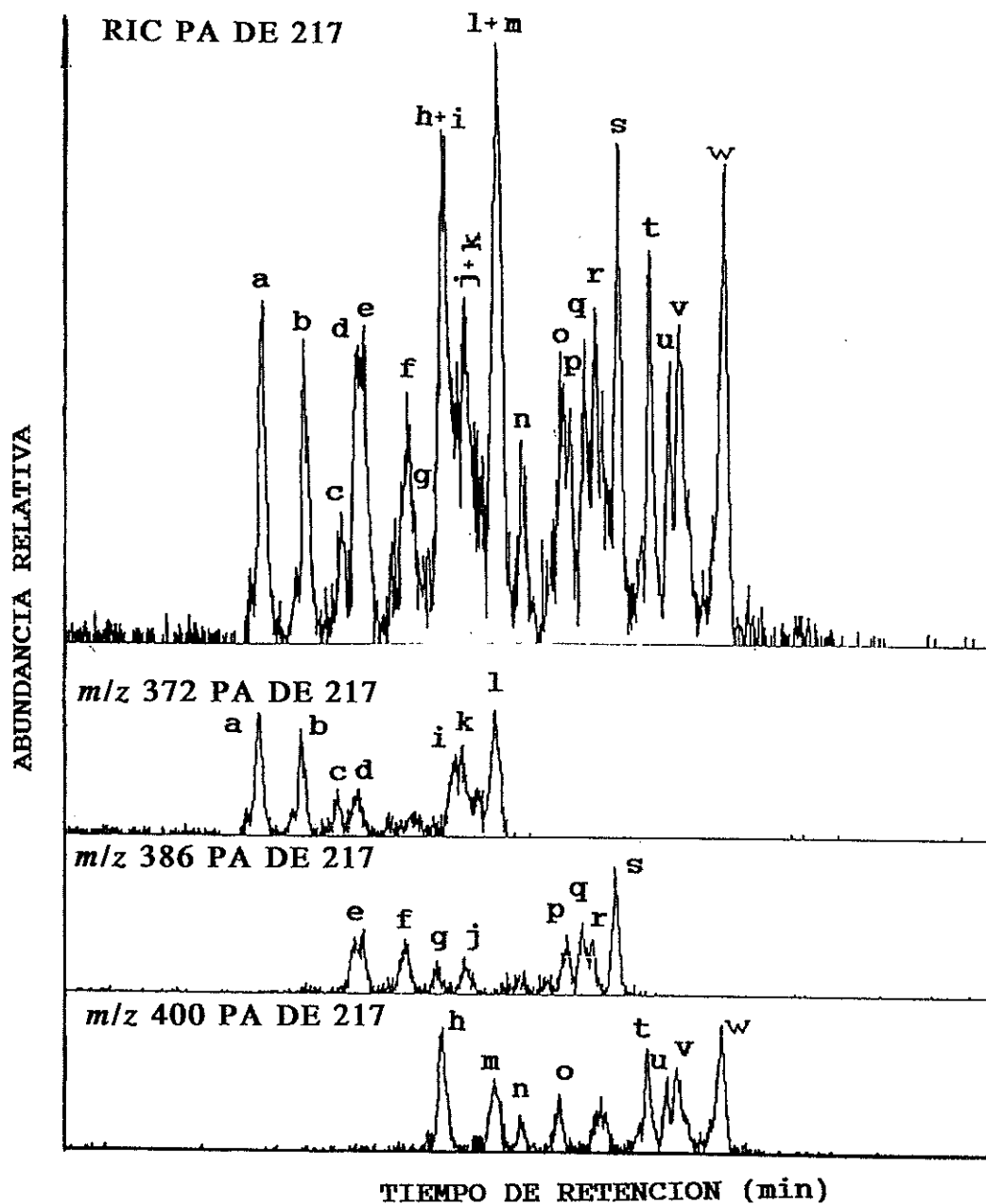


Figura IV.39.- Fragmentograma de GC-MS/MS (ion hijo a m/z 217) mostrando la distribución de los C_{27} , C_{28} y C_{29} esteranos (iones padre a m/z 372, 386 y 400) presentes en la fracción saturada de la muestra PB. La identificación de picos cromatográficos se detalla en la Tabla IV.6.

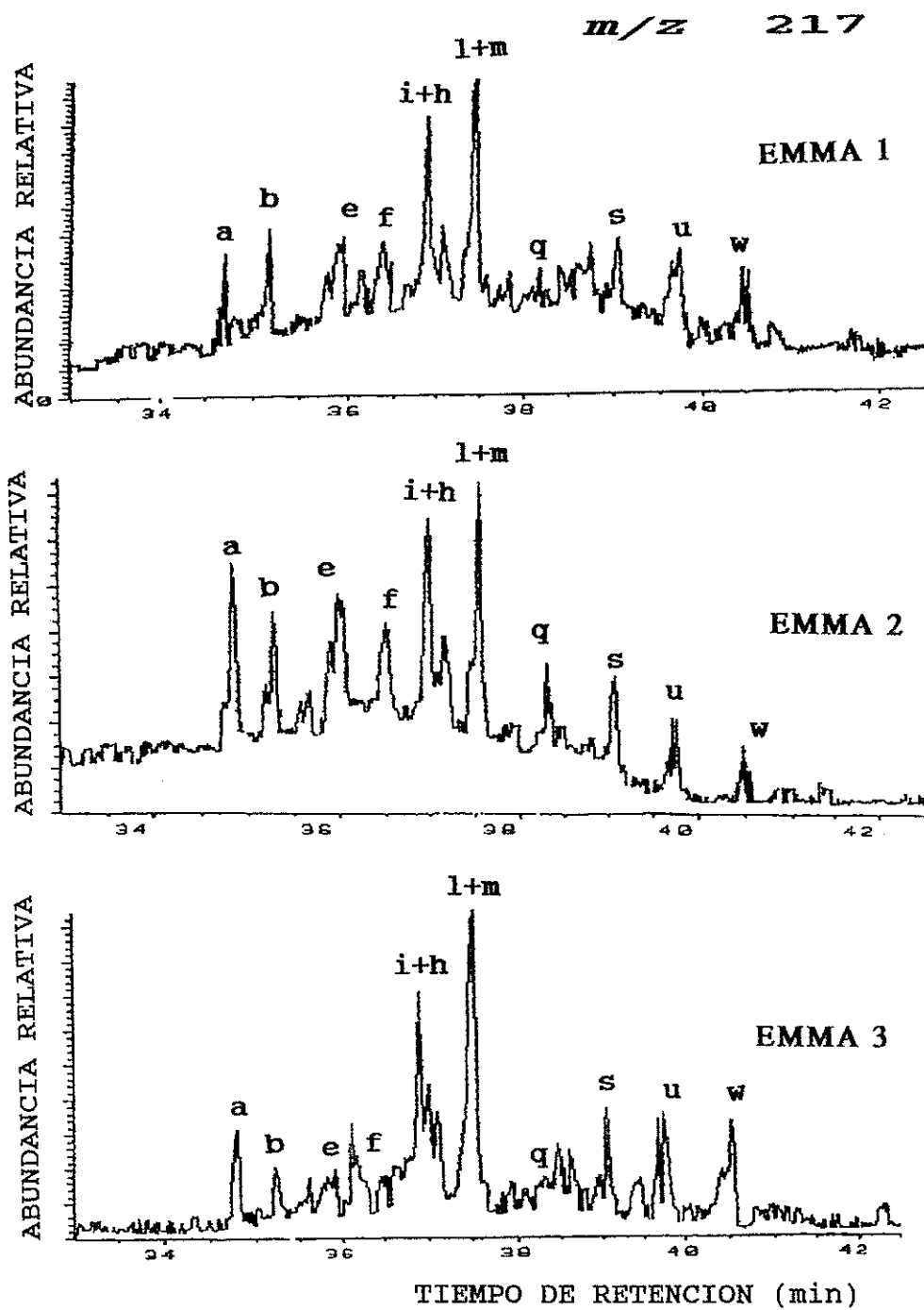


Figura IV.40.- Fragmentograma (m/z 217) mostrando la distribución de los esteranos presentes en las fracciones saturadas de las muestras EMMA 1, EMMA 2 y EMMA 3. La identificación de los picos cromatográficos se detalla en la Tabla IV.6

Tabla IV.6.- Identificación de picos del cromatograma del ion m/z 217 que corresponden a las Figuras IV.39. y IV.40.

Pico	Compuesto	Composición Elemental	Estructura
a	13 β ,17 α -diacolestano (20S)	C ₂₇ H ₄₈	VI, R = H
b	13 β ,17 α -diacolestano (20R)	C ₂₇ H ₄₈	VI, R = H
c	13 α ,17 β -diacolestano (20S)	C ₂₇ H ₄₈	VII, R = H
d	13 α ,17 β -diacolestano (20R)	C ₂₇ H ₄₈	VII, R = H
e	13 β ,17 α -24-metildiacolestano (20S)	C ₂₈ H ₅₀	VI, R = CH ₃
f	13 β ,17 α -24-metildiacolestano (20R)	C ₂₈ H ₅₀	VI, R = CH ₃
g	13 α ,17 β -24-metildiacolestano (20S)	C ₂₈ H ₅₀	VII, R = CH ₃
h	13 β ,17 α -24-etildiacolestano (20S)	C ₂₉ H ₅₂	VI, R = C ₂ H ₅
i	14 β ,17 β -colestano (20R)	C ₂₇ H ₄₈	V, R = H
j	14 β ,17 β -colestano (20S)	C ₂₇ H ₄₈	V, R = H
k	13 α ,17 β -24-metildiacolestano (20R)	C ₂₈ H ₅₀	VII, R = CH ₃
l	14 α ,17 α -colestano (20R)	C ₂₇ H ₄₈	IV, R = H
m	13 β ,17 α -24-etildiacolestano (20R)	C ₂₉ H ₅₂	VI, R = C ₂ H ₅
n	13 α ,17 β -24-etildiacolestano (20S)	C ₂₉ H ₅₂	VII, R = C ₂ H ₅
o	13 α ,17 β -24-etildiacolestano (20R)	C ₂₉ H ₅₂	VII, R = C ₂ H ₅
p	14 α ,17 α -24-metilcolestano (20S)	C ₂₈ H ₅₀	IV, R = CH ₃
q	14 β ,17 β -24-metilcolestano (20R)	C ₂₈ H ₅₀	V, R = CH ₃
r	14 β ,17 β -24-metilcolestano (20S)	C ₂₈ H ₅₀	V, R = CH ₃
s	14 α ,17 α -24-metilcolestano (20R)	C ₂₈ H ₅₀	IV, R = CH ₃
t	14 α ,17 α -24-etilcolestano (20S)	C ₂₉ H ₅₂	IV, R = C ₂ H ₅
u	14 β ,17 β -24-etilcolestano (20R)	C ₂₉ H ₅₂	V, R = C ₂ H ₅
v	14 β ,17 β -24-etilcolestano (20S)	C ₂₉ H ₅₂	V, R = C ₂ H ₅
w	14 α ,17 α -24-etilcolestano (20R)	C ₂₉ H ₅₂	IV, R = C ₂ H ₅

al aumentar la madurez. En el caso de los diasteranos, se produce una reordenación estructural, transponiéndose los metilos de la posición 13 a la 14 y de la 10 a la 5. Las principales configuraciones son la 13 β (H),17 α (H) (VI), más estable, y la 13 α (H),17 β (H) (VII) con casi igual abundancia de las configuraciones 20R y 20S.

En la Tabla IV.7 se muestran algunos parámetros de madurez basados en la distribución de esteranos. Se observa una abundancia similar de los esteranos C₂₇ (IV y V, R=H), C₂₈ (IV y V, R=CH₃) y C₂₉ (IV y V, R=C₂H₅) en la muestra PB, mientras que en las EMMAs predominan los esteranos C₂₇. Esto indicaría que ha habido una contribución similar de materiales terrestres y algales en la formación de la pizarra PB, mientras que en las EMMAs ha habido una mayor contribución algal (Huang y Meinschein, 1979).

Los isómeros 5 α (H),14 α (H),17 α (H) predominan sobre los 5 α (H),14 β (H),17 β (H) y también se observó una alta abundancia de diasteranos en todas las muestras. El predominio de los isómeros biológicos $\alpha\alpha$ R sobre los termodinámicamente más estables $\beta\beta$, presentes en muestras más evolucionadas, es otra indicación del bajo nivel evolutivo de estas pizarras bituminosas y también de la ausencia de biodegradación (Philp, 1985a,b). La relación hopano/estero, bastante elevada en todas las muestras y en particular en las pizarras PB y EMMA 1, hace pensar que las aportaciones bacterianas son bastante significativas en las cuatro

pizarras analizadas. Como se ha indicado con anterioridad los compuestos triterpénicos con estructura hopanoide son producidos fundamentalmente por bacterias, mientras que las estructuras esteroidales provienen de organismos eucarioticos (algas o plantas superiores).

Tabla IV.7.- Parametros geoquimicos referidos a esteranos.

Parámetro	PB	EMMA 1	EMMA 2	EMMA 3
Hop/Est	10.0	17.0	5.0	5.0
$\alpha\alpha R C_{27}/C_{29}$	1.2	4.3	5.6	5.1
$D_{27}\text{-}B\alpha/S_{29}BB$	0.9	2.0	2.6	1.0
$S_{27}\text{-}R$ $BB/BB + \alpha\alpha$	0.4	0.4	0.4	0.4
$S_{29}\text{-}R$ $BB/BB + \alpha\alpha$	0.3	0.3	0.5	0.5

Esteranos aromáticos. Diversos compuestos esteroidales mono- y triaromáticos se identificaron en las muestras estudiadas, principalmente en la muestra PB. Los compuestos esteroidales con el anillo C aromatzado se detectaron por monitorización del ion m/z 253 y consistieron en una compleja mezcla de isómeros. Debido a ésto y a la coelución de muchos de ellos ha sido prácticamente imposible el asignar estructuras definitivas para cada uno de ellos. La distribución de los compuestos esteroidales triaromáticos se

obtuvo por monitorización del ion característico m/z 231 (Figura IV.41). Estos compuestos se detectaron en el rango desde C_{26} a C_{28} , con cantidades equivalentes de los isómeros 20R y 20S.

Los compuestos esteroidales monoaromáticos se forman en las primeras etapas de la diagénesis a partir de los esteroides (Hussler *et al.*, 1981). Se encuentran asociados a petróleos (Seifert y Moldowan, 1978,1986; Riolo *et al.*, 1986) y son importantes intermedios en la deshidrogenación geológica, proceso que conduce a la completa aromatización (compuestos esteroidales triaromáticos) de los esteroides (Mackenzie *et al.*, 1981; Mackenzie, 1984; Carlson *et al.*, 1992).

IV.3.- ESTUDIO DE ASFALTENOS Y KEROGENOS.

El material orgánico geopolimérico representa una de las formas más fidedignas de la materia orgánica original en los sedimentos y, por tanto, su conocimiento químico puede dar información útil sobre la misma, así como de las condiciones paleoambientales de deposición y el tipo de procesos que ha experimentado durante la diagénesis.

Para abordar el estudio del kerógeno y del asfalteno, ambos de naturaleza macromolecular compleja, se ha complementado su caracterización geoquímica convencional mediante la utilización de técnicas espectroscópicas como la espectroscopía de Resonancia

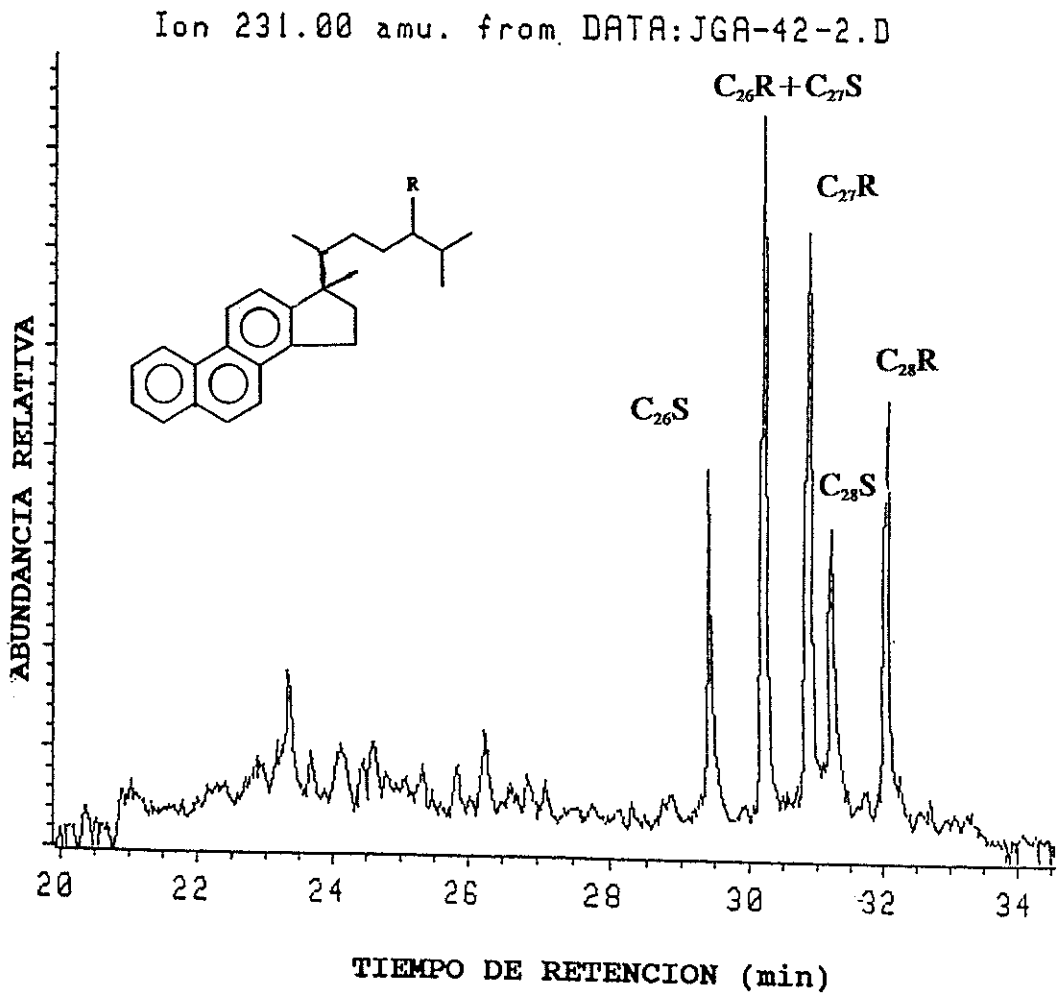


Figura IV.41.- Fragmentograma (m/z 231) mostrando la distribución de los esteranos triaromáticos detectados en la fracción aromática de la muestra PB y representativa de todas las demás.

Magnética Nuclear de ^{13}C en estado sólido (CP\MAS-NMR de ^{13}C), **técnicas degradativas térmicas** basadas en la pirólisis flash de los materiales y el estudio de los productos de degradación por cromatografía gaseosa y cromatografía de gases/espectrometría de masas (Py-GC, Py-GC-MS), con introducción de importantes novedades metodológicas, y **técnicas degradativas químicas** tales como la oxidación con permanganato en medio alcalino y la oxidación con tetróxido de Rutenio. Expondremos a continuación los resultados obtenidos con los diferentes tipos de análisis.

IV.3.1.- ANALISIS ELEMENTAL.

En la Tabla IV.8 se muestran los análisis elementales de los kerógenos y asfaltenos de las cuatro pizarras bituminosas estudiadas. Se pueden observar diferencias en los contenidos de C y O + S_{org} de los kerógenos y asfaltenos de las muestras PB y EMMA 2 respecto de las EMMA 1 y EMMA 3, así como una clara diferenciación en el contenido de hidrógeno de la muestra PB respecto de las demás.

La interpolación de las razones atómicas H/C y O/C de los kerógenos de las cuatro muestras estudiadas en el diagrama de van Krevelen (1961) se muestra en la Figura IV.42. El kerógeno de la pizarra PB se sitúa en la zona comprendida entre los kerógenos de los tipos I y II, mientras que los tres kerógenos de las pizarras EMMAs se sitúan en la franja correspondiente al kerógeno tipo II.

Tabla IV.8.- Análisis elemental de los kerógenos y asfaltenos.

	KERO PB	KERO EMMA 1	KERO EMMA 2	KERO EMMA 3
C	71.2	66.6	71.3	66.8
H	8.9	7.7	7.4	7.5
N	1.4	1.5	2.0	1.8
S _{ORG} + O*	8.6	11.9	9.0	9.9
CENIZAS	9.9	12.3	10.3	14.0
H/C	1.50	1.38	1.24	1.34
O/C	0.09	0.13	0.09	0.11

	ASFAL PB	ASFAL EMMA 1	ASFAL EMMA 2	ASFAL EMMA 3
C	74.0	68.3	74.2	67.1
H	8.7	7.7	7.3	7.2
N	3.0	3.9	3.1	3.4
S _{ORG} + O*	14.3	20.1	15.4	22.3
H/C	1.41	1.34	1.18	1.28
O/C	0.14	0.22	0.15	0.24

* por diferencia

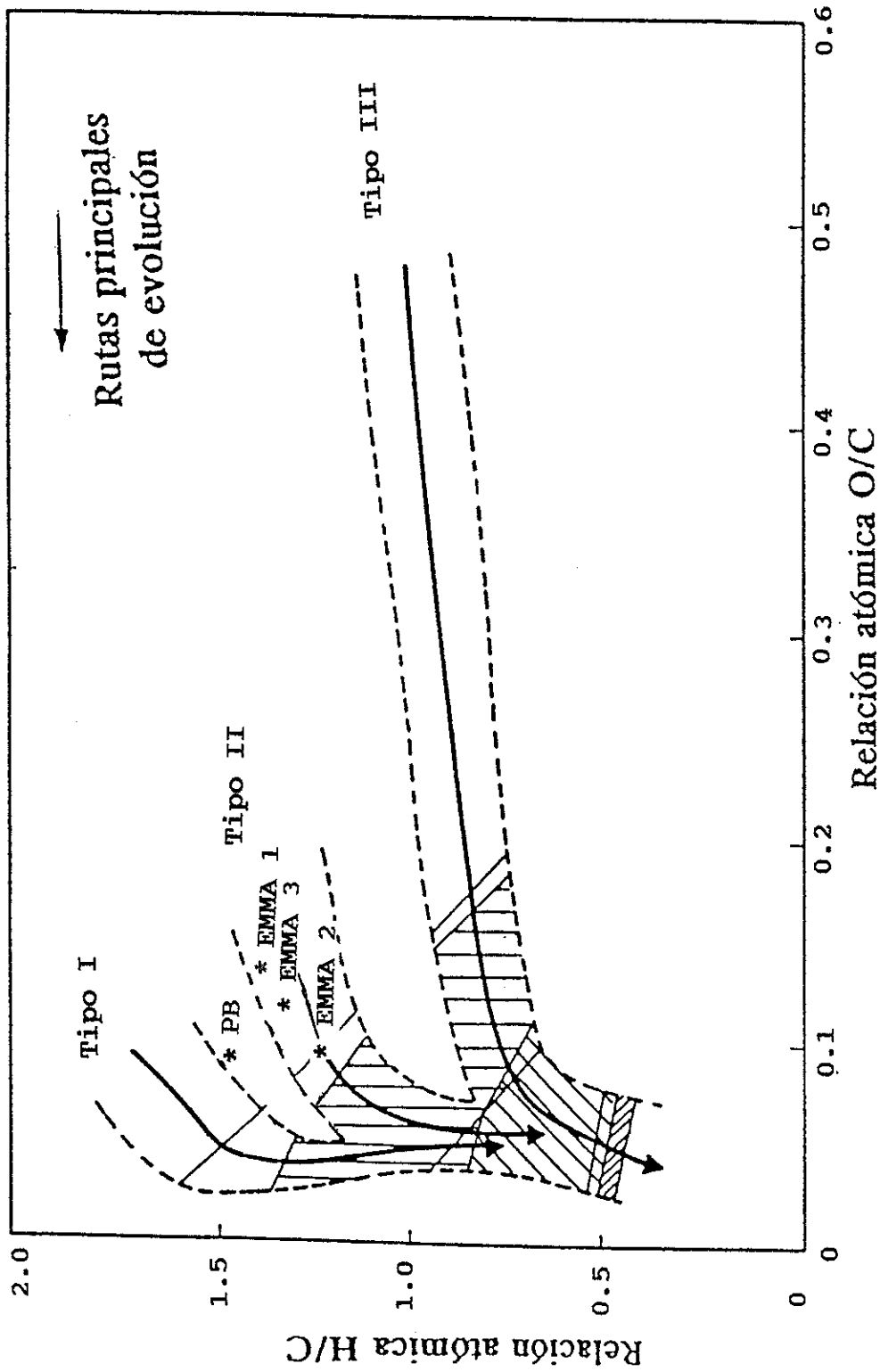


Figura IV.42.- Interpolación de las razones atómicas H/C y O/C de los kerógenos aislados de las pizarras, en el diagrama de van Krevelen.

Según esta gráfica los cuatro kerógenos se encuentran próximos a la ventana de generación de petróleo.

Estos datos difieren algo de los obtenidos por pirólisis Rock-Eval de las pizarras brutas. El diagrama IH vs. T_{max} situaba a las pizarras PB, EMMA 1 y EMMA 2 en la zona correspondiente al kerógeno tipo I y a la EMMA 3, en la de tipo II. Una posible explicación a esta aparente diferencia puede deberse al tratamiento ácido que se realiza a la pizarra extraída para la separación de la matriz inorgánica, el cual puede originar transformaciones en la materia orgánica (Durand y Nicaise, 1980).

IV.3.2.- ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR DE ^{13}C EN ESTADO SOLIDO (CP\MAS-NMR DE ^{13}C).

En la Figura IV.43 se muestran los espectros de ^{13}C -NMR en estado sólido de las fracciones de kerógenos (Figura IV.43a) y asfaltenos (Figura IV.43b) aislados de las diferentes muestras estudiadas. Los espectros obtenidos son similares a los registrados por numerosos autores para materiales geopoliméricos similares (Wilson, 1987; Patience *et al.*, 1992; Miknis *et al.*, 1993). En todos los casos se observa la presencia de dos bandas correspondientes a las resonancias de carbones alifáticos (15-40 ppm) y carbones aromáticos (110-140 ppm), lo que indica una gran similitud en las estructuras de asfaltenos y kerógenos. De hecho, los asfaltenos se

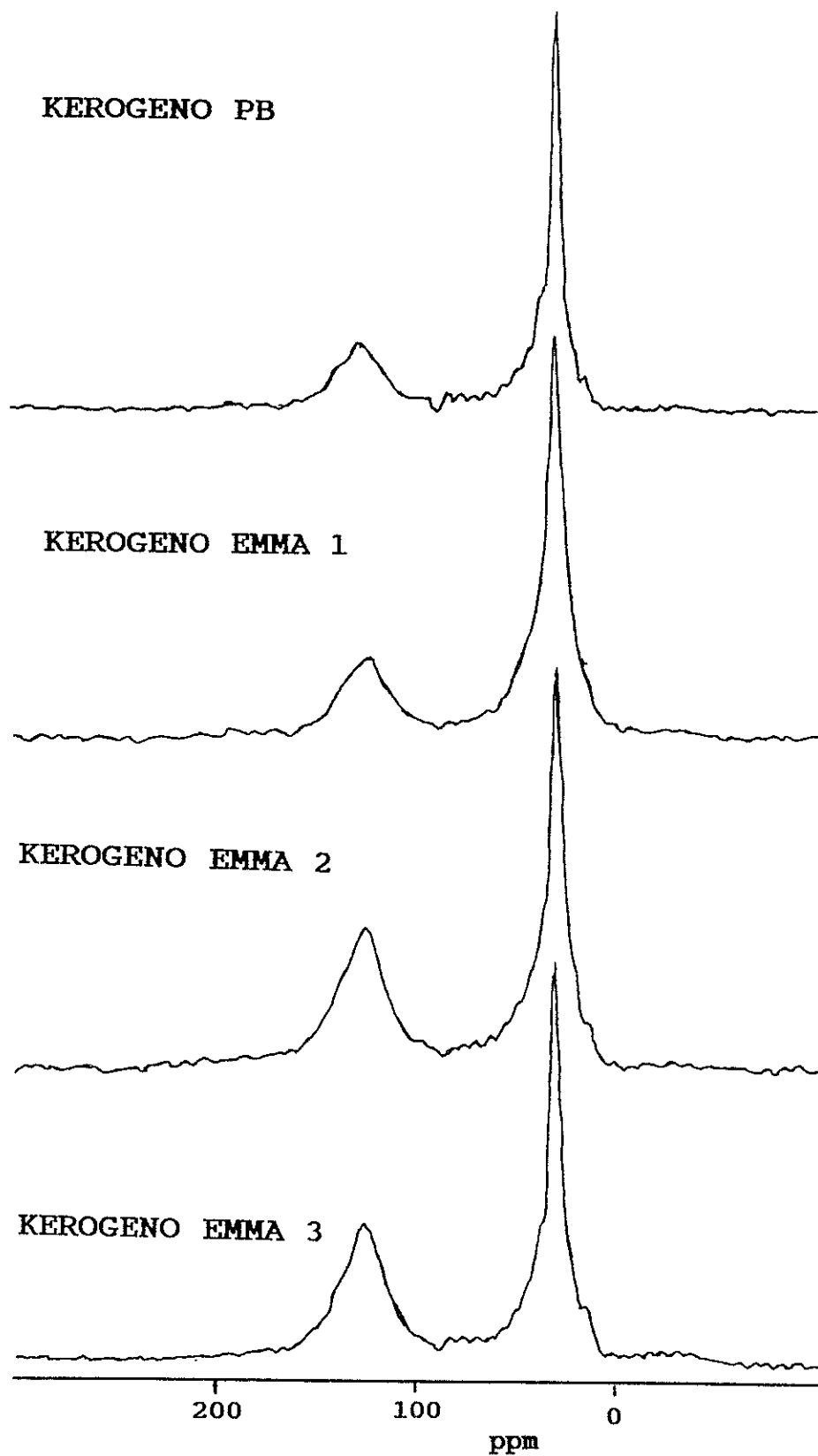


Figura IV.43a.- Espectros CP\MAS-NMR de ^{13}C de los kerógenos de las muestras estudiadas.

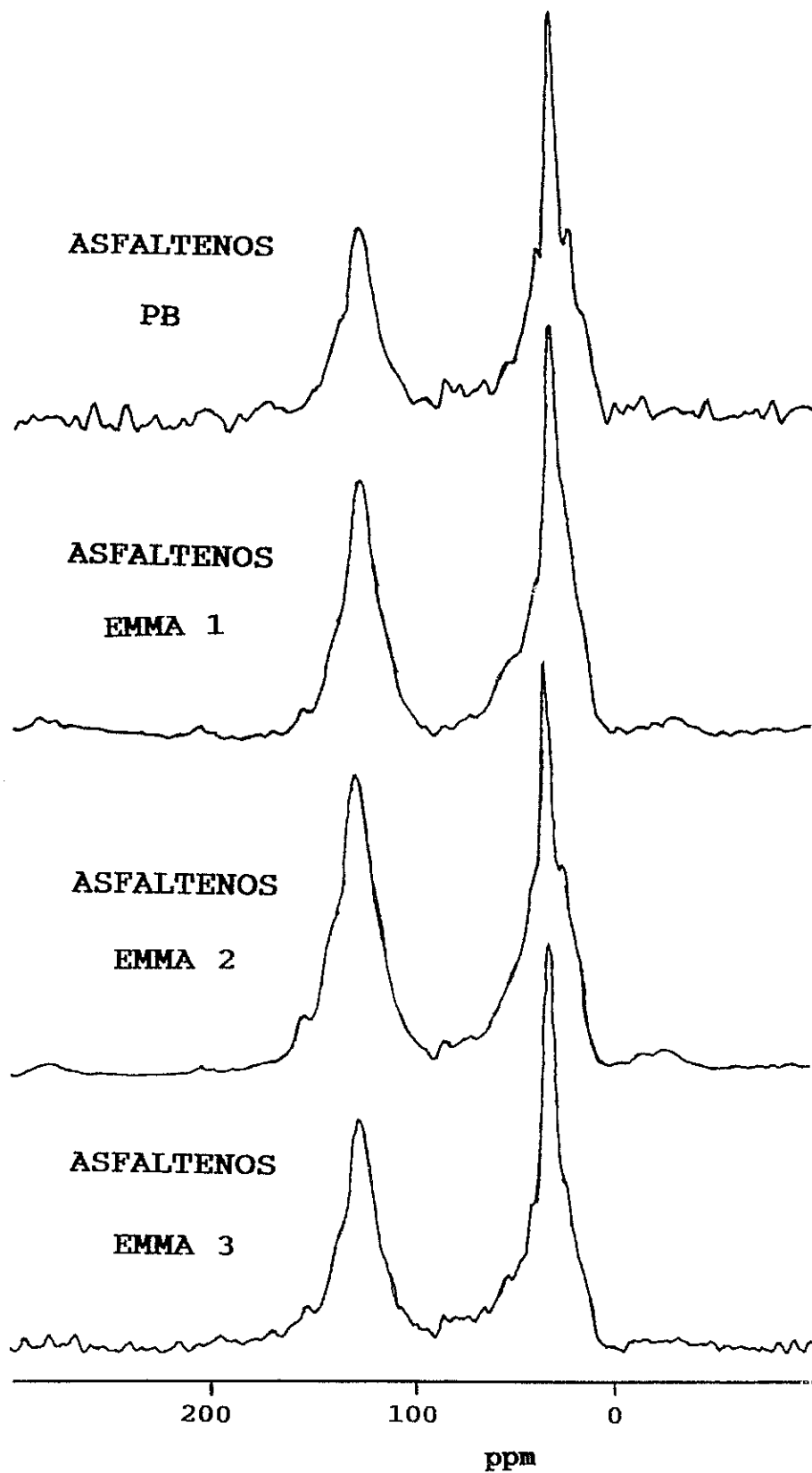


Figura IV.43b.- Espectros CP\MAS-NMR de ^{13}C de los asfaltenos de las muestras estudiadas.

consideran como fragmentos más pequeños de kerógenos y, por tanto, más solubles que han sido liberados por la rotura de enlaces heteroaromáticos (Tissot y Welte, 1984). En la Tabla IV.9 se presenta la cuantificación de los diferentes tipos de átomos de C. Se observa que los asfaltenos presentan una mayor aromaticidad que los respectivos kerógenos, lo que sugeriría que poseen una estructura más poliaromática o policondensada. La banda envolvente asignada a carbones alifáticos puede reflejar la contribución a la materia orgánica de estos materiales de biopolímeros insolubles, no hidrolizables y altamente alifáticos que están presentes en diversas algas y plantas superiores (Nip *et al.*, 1986a,b; Largeau *et al.*, 1986; Tegelaar *et al.*, 1989a; de Leeuw *et al.*, 1991). La presencia de algas del tipo *Botryococcus sp.* ha sido descrita en las pizarras de Puertollano mediante análisis petrográficos (Borrego, 1992). Estas algas poseen un biopolímero resistente y altamente alifático, denominado *algaenan*, similar a los descritos anteriormente, que presenta un espectro de ^{13}C -NMR dominado por una banda de resonancia de carbones alifáticos en la misma región que la observada en los espectros de los kerógenos y asfaltenos.

A pesar de su escasa concentración en los organismos en los que se encuentra, estos biopolímeros altamente alifáticos son más resistentes a la biodegradación que otros componentes mayoritarios del material original, tales como polisacáridos y proteínas, y tienden a concentrarse en el sedimento durante las primeras etapas de la

diagénesis. El alto grado de preservación de estas estructuras biopoliméricas daría lugar a su creciente enriquecimiento durante la diagénesis. En este sentido ha sido propuesto un modelo alternativo de formación de kerógeno basado en la preservación selectiva de biopolímeros resistentes (Tegelaar *et al.*, 1989a), en contraposición al modelo tradicional de neoformación que suponía que la formación del kerógeno era el resultado de reacciones de repolimerización y policondensación de una pequeña fracción de los productos de biodegradación de los organismos precursores (Tissot y Welte, 1984).

Tabla IV.9.- Cuantificación de los dos tipos de átomos de carbono presentes en los espectros CP\MAS NMR ¹³C de los kerógenos y asfaltenos.

	Ker _{PB}	Ker _{EMMA 1}	Ker _{EMMA 2}	Ker _{EMMA 3}
C _{AROMATICO}	22	20	25	30
C _{ALIFATICO}	78	80	75	70
	Asf _{PB}	Asf _{EMMA 1}	Asf _{EMMA 2}	Asf _{EMMA 3}
C _{AROMATICO}	33	39	42	36
C _{ALIFATICO}	67	61	58	54

IV.3.3.- TECNICAS DEGRADATIVAS TERMICAS.

La estructura macromolecular compleja e insoluble de los geopolímeros asfaltenos y kerógenos hace especialmente difícil su caracterización a nivel molecular. Las técnicas pirolíticas ofrecen una vía para acceder a información estructural a nivel molecular de estos geopolímeros (Van de Meent *et al.*, 1980a; Larter, 1984; Philp *et al.*, 1988a), ya que presentan diversas ventajas sobre otros métodos degradativos. Así, han demostrado ser muy reproducibles, necesitan muy poca cantidad de muestra y los resultados obtenidos pueden interpretarse tanto cualitativamente como cuantitativamente. Además, se obtiene información de la muestra total sin ser necesarios pretratamientos químicos y se obtienen predominantemente productos de pirólisis primarios esenciales para determinar la estructura macromolecular (Maters *et al.*, 1979).

IV.3.3.1.- Pirólisis-flash-cromatografía de gases.

Las fracciones de kerógenos y asfaltenos aisladas de las diferentes muestras de pizarras bituminosas se pirolizaron a 800°C, y los productos de degradación térmica se analizaron "on-line" por cromatografía de gases con detección simultánea por FID y FPD. La Figura IV.44 muestra los cromatogramas FID y FPD de los pirolizados de los kerógenos de las muestras EMMAs y la Figura IV.45 los pirogramas (FID) de los asfaltenos. La traza FPD de los

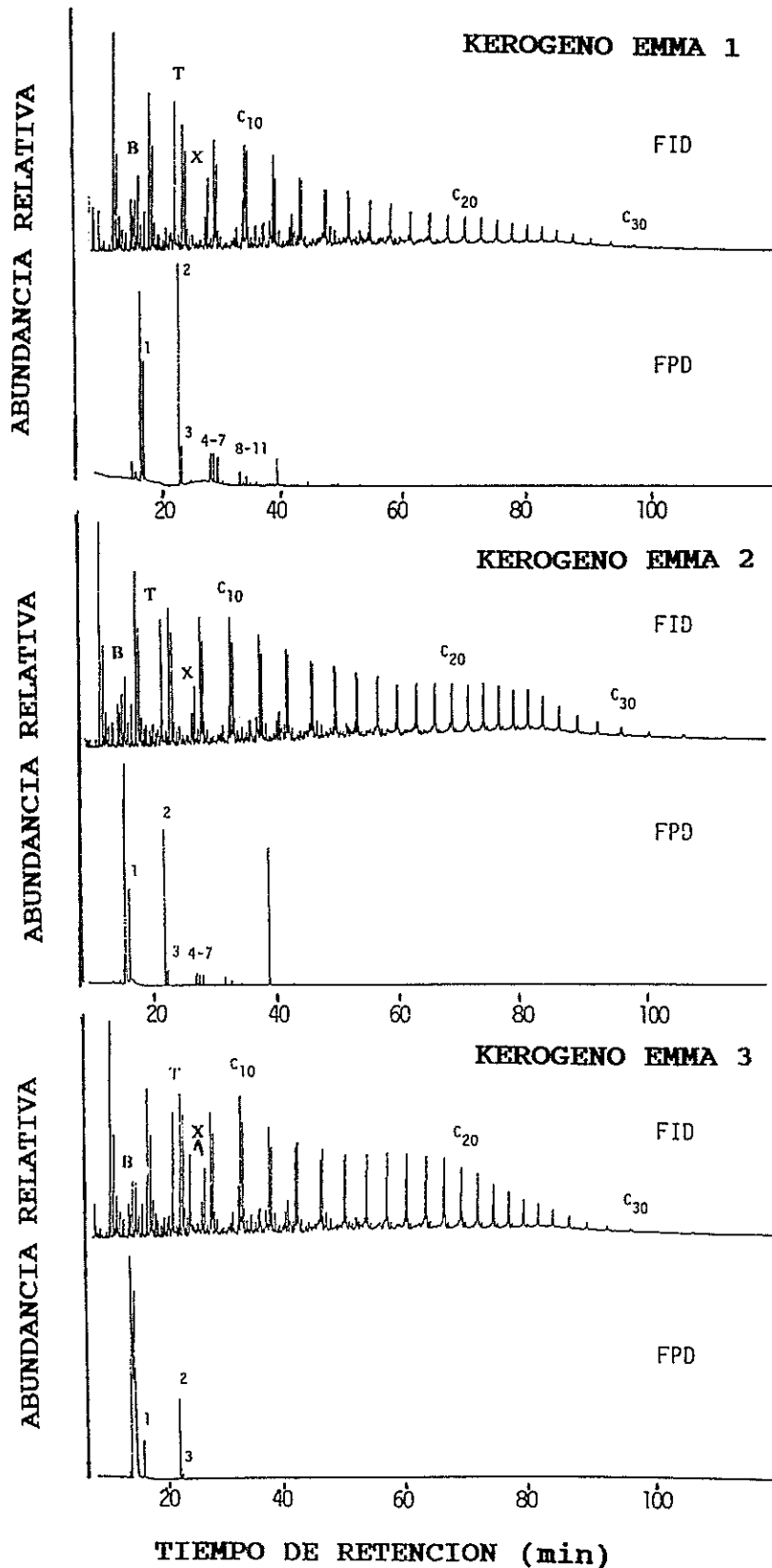


Figura IV.44.- Cromatogramas FID y FPD de los pirolizados de los kerógenos de las muestras EMMA 1, EMMA 2 y EMMA 3.

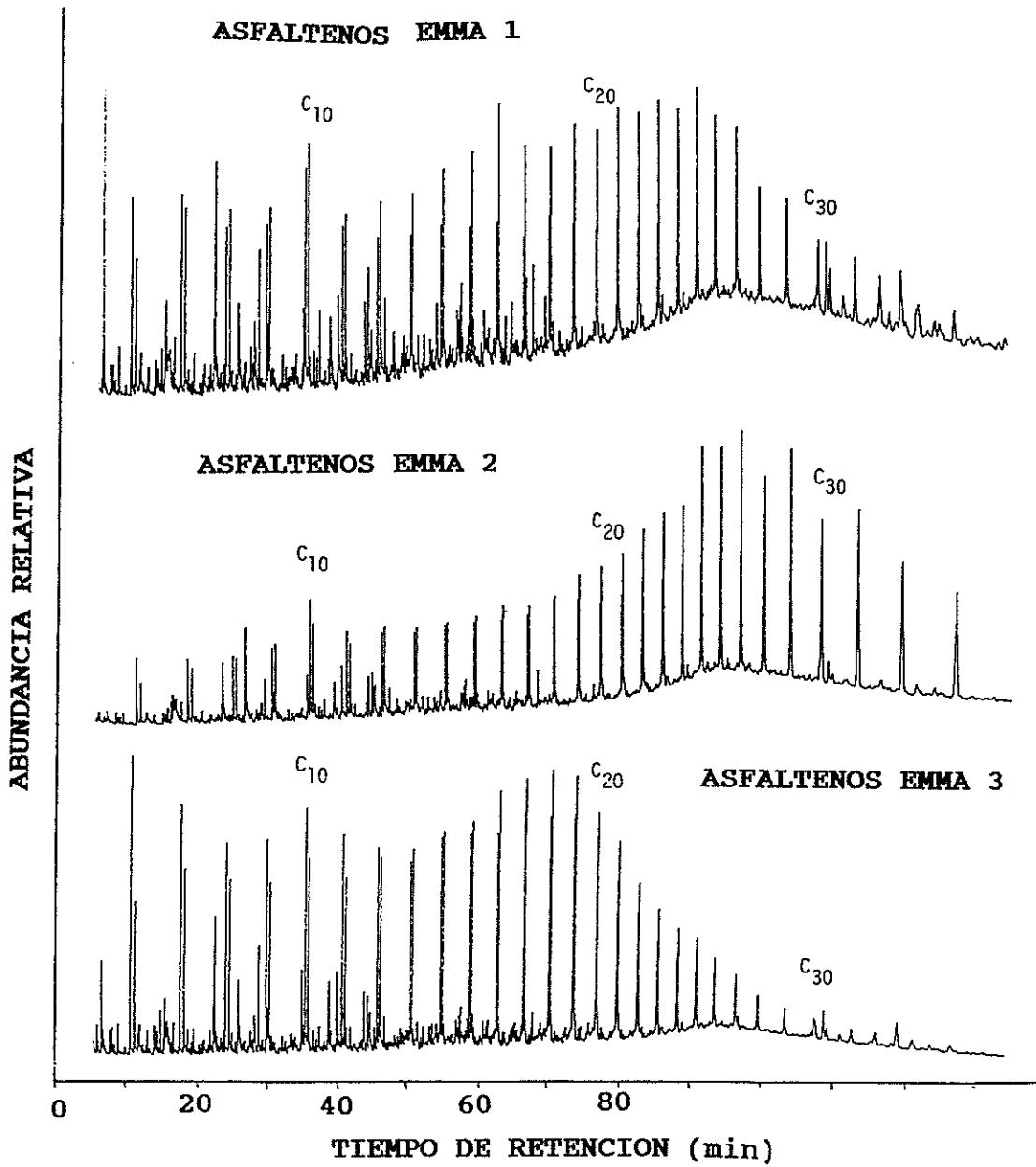


Figura IV.45.- Cromatogramas FID de los pirolizados de los asfaltenos de las muestras EMMA 1, EMMA 2 y EMMA 3.

pirogramas de los asfaltenos reveló la ausencia de compuestos azufrados y no se presenta en la Figura IV.45. La identificación de los diferentes compuestos azufrados detectados en la traza FPD se detallan en la Tabla IV.10.

Tabla IV.10.- Identificación de los compuestos azufrados detectados en la traza de pirogramas FPD de los kerógenos de las muestras EMMA 1, EMMA 2 y EMMA 3.

PICOS	COMPUESTO
1	Tiofeno
2	2-metiltiofeno
3	3-metiltiofeno
4	2-etiltiofeno
5	2,5-dimetiltiofeno
6	2,4-dimetiltiofeno
7	2,3-dimetiltiofeno
8	2-etil-5-metiltiofeno
9	2-etil-4-metiltiofeno
10	2,3,5-trimetiltiofeno
11	2-metil-5-viniltiofeno

Las trazas FID de los pirogramas de los kerógenos y asfaltenos están dominadas por una serie de dobletes de *n*-alcanos y *n*-alquenos hasta el C₃₁, lo que confirma la alta alifaticidad de estos

materiales observada por ^{13}C -NMR. Como hemos mencionado anteriormente, Borrego (1992) reveló la presencia en estas pizarras de restos de algas del tipo *Botryococcus* que producen también por pirólisis similares dobles de *n*-alcanos y *n*-alquenos, por lo que se confirmaría la contribución de materiales de este tipo al carácter alifático de estas pizarras.

Los principales compuestos aromáticos identificados en los pirolizados (benceno, tolueno y xilenos, señalados en la figura con las letras B, T y X, respectivamente) se encontraron únicamente en pequeñas cantidades, lo que está de acuerdo con la relativamente baja aromaticidad de estas muestras revelada por ^{13}C -NMR.

Las trazas FPD de los pirogramas de los diferentes kerógenos revela que el tiofeno y los C_1 - C_3 -alquiltiofenos son los principales compuestos azufrados presentes en los pirolizados. Los compuestos orgánicos azufrados son constituyentes bien conocidos de geopolímeros y se presentan en una gran variedad de estructuras, incluyendo tioles alifáticos, mono- y disulfuros, y estructuras aromáticas como alquiltiofenos, benzotiofenos y dibenzotiofenos (Orr y White, 1990; Sinninghe Damsté y de Leeuw, 1992). El azufre orgánico presente en la estructura macromolecular es consecuencia de la incorporación de azufre inorgánico sobre lípidos precursores funcionalizados durante las primeras etapas de la diagénesis. Estos compuestos azufrados intervienen en la formación del kerógeno y experimentan procesos de aromatización. De ahí que

el kerógeno pueda producir por pirólisis los tiofenos aromáticos. Sólo un número limitado de isómeros se produjeron por pirólisis para cada grupo de alquiltiofenos, lo que es una indicación de que los compuestos tiofénicos detectados se formarían por rotura de moléculas tiofénicas existentes en el kerógeno y no por la reacción de azufre (o SH_2) con los radicales orgánicos formados en la pirólisis. En los kerógenos de las pizarras estudiadas parece haber un predominio de estructuras con esqueletos lineales (2-alquil- y 2,5-dialquiltiofenos), aunque la contribución de estructuras ramificadas e isoprénicas (2,3-dialquil- y 2,3,5-trialquiltiofenos) es también considerable y corresponde a prácticamente el 15% de los alquiltiofenos. No pudo confirmarse la posible presencia enlaces sulfuro o polisulfuro en los kerógenos, que probablemente se pierden, preferencialmente, antes que las estructuras tiofénicas.

Por otro lado, la ausencia de compuestos azufrados en los pirolizados de los asfaltenos parece indicar una rotura preferencial de los enlaces tiofénicos presentes en la estructura macromolecular del kerógeno, produciendo fragmentos más pequeños que darían lugar a la formación de los asfaltenos (Tissot y Welte, 1984). De hecho, los enlaces azufre-azufre y azufre-carbono son más débiles que los enlaces carbono-carbono (Orr, 1986). Este resultado sugiere que las estructuras que presentan átomos de azufre, como los tiofenos, están principalmente unidas a la matriz macromolecular por enlaces carbono-azufre. La presencia de estos enlaces débiles

baja el máximo de la distribución de energías de activación para la degradación térmica. Así, es bien conocido que los kerógenos ricos en azufre presentan una T_{max} en el Rock-Eval más baja que los kerógenos pobres en azufre con una misma madurez (Eglinton *et al.*, 1990a,b). Estos resultados apoyarían por tanto la idea de que el azufre orgánico es, al menos parcialmente, responsable de la pronta generación de petróleo por kerógenos ricos en azufre.

IV.3.3.2.- Pirólisis-Flash-cromatografía de gases de alta temperatura.

El análisis de hidrocarburos de mayor peso molecular (por encima del C_{40}), que presumiblemente se pudieran producir en la pirólisis, se ha visto tradicionalmente dificultado por las limitaciones de las columnas cromatográficas. El reciente desarrollo de nuevas columnas capilares de aluminio capaces de alcanzar altas temperaturas (hasta $440^{\circ}C$) ha permitido extender el rango de compuestos analizados por cromatografía gaseosa (Lipsky y Duffy, 1986a,b). Así, la presencia de hidrocarburos y compuestos orgánicos azufrados de muy alto peso molecular (hasta C_{75}) ha sido recientemente descrita en diversas muestras geológicas (Kohnen *et al.*, 1990a; Gallegos *et al.*, 1991; del Rio y Philp, 1992; del Rio *et al.*, 1992). Puede por tanto anticiparse que estas estructuras de alto peso molecular pudieran estar también incorporadas a las estructuras geopoliméricas.

En la Figura IV.46 se muestran los pirogramas de alta temperatura de los asfaltenos aislados de las pizarras EMMAs, en los que se detectó la presencia de hidrocarburos de alto peso molecular (hasta C₆₀). Estos hidrocarburos de alto peso molecular no se detectaron en la pirólisis-HTGC de los kerógenos respectivos, por lo que cabría deducir que la fracción de asfalteno está compuesta por estructuras de cadenas más largas que los respectivos kerógenos. Estos resultados son difíciles de explicar dado que los asfaltenos se consideran como fragmentos más pequeños de kerógenos.

No puede descartarse, sin embargo, la posibilidad de que los hidrocarburos de alto peso molecular identificados en la pirólisis del asfalteno pudieran deberse a la presencia de componentes atrapados en la estructura del asfalteno durante el procedimiento de separación. De hecho, algunos autores han reconocido la tendencia que tiene el material no asfáltico a co-precipitar con los asfaltenos (Rubinstein *et al.*, 1979; Bandurski, 1982; Myhr *et al.*, 1990). Así, si analizamos los pirogramas de alta temperatura de los asfaltenos de las EMMAS 2 y 3, tras someterlos a una extensa reprecipitación y purificación se observa una notable disminución de los hidrocarburos de alto peso molecular (Figura IV.47). Según estos resultados cabe interpretar que la mayoría de los hidrocarburos de alto peso molecular liberados durante la pirólisis, no forman parte de la estructura de los asfaltenos, sino que corresponden a material coprecipitado y atrapado. En cualquier caso, como los asfaltenos

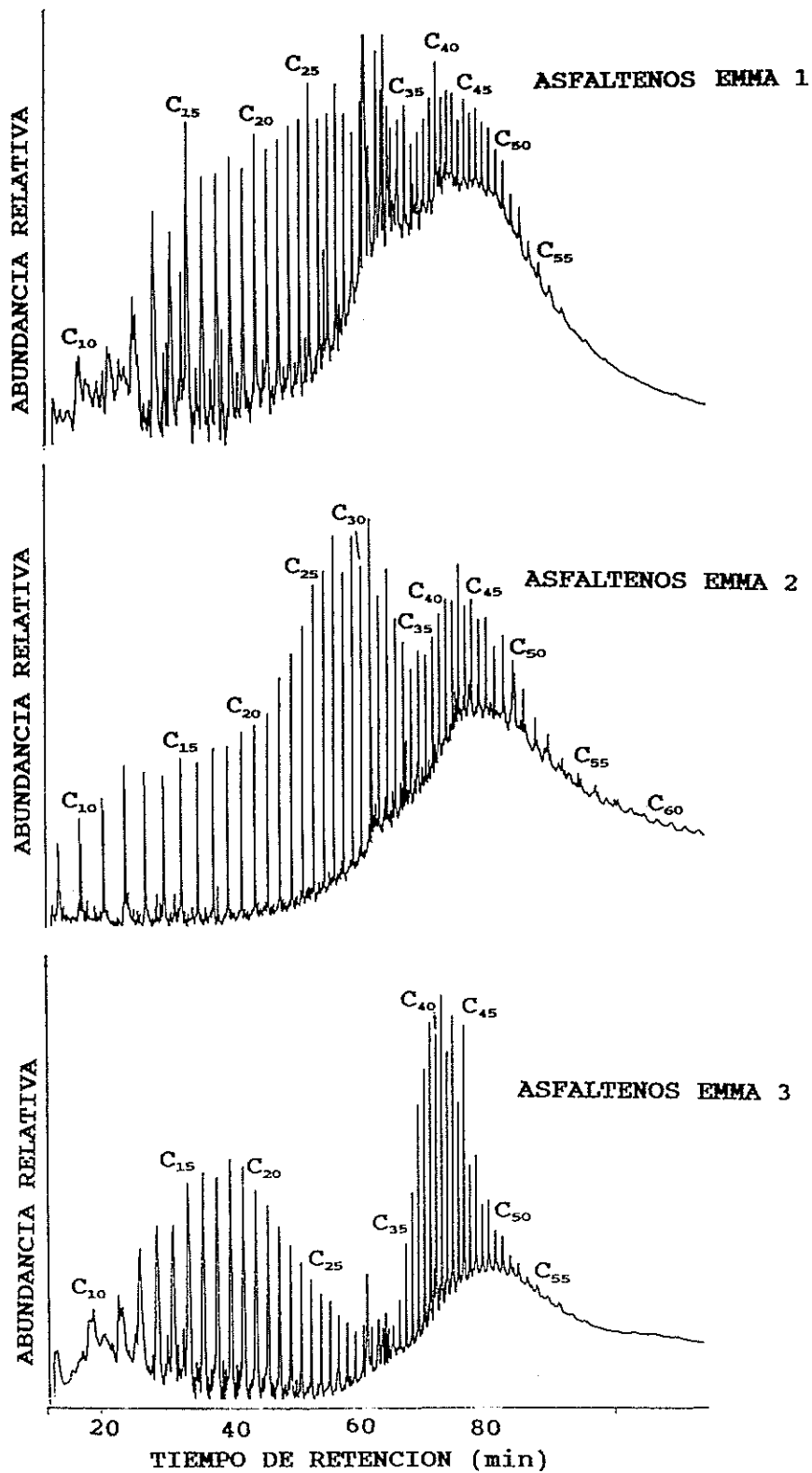


Figura IV.46.- Cromatogramas FID de alta temperatura de los pirolizados de los asfaltenos de las muestras EMMA 1, EMMA 2 y EMMA 3.

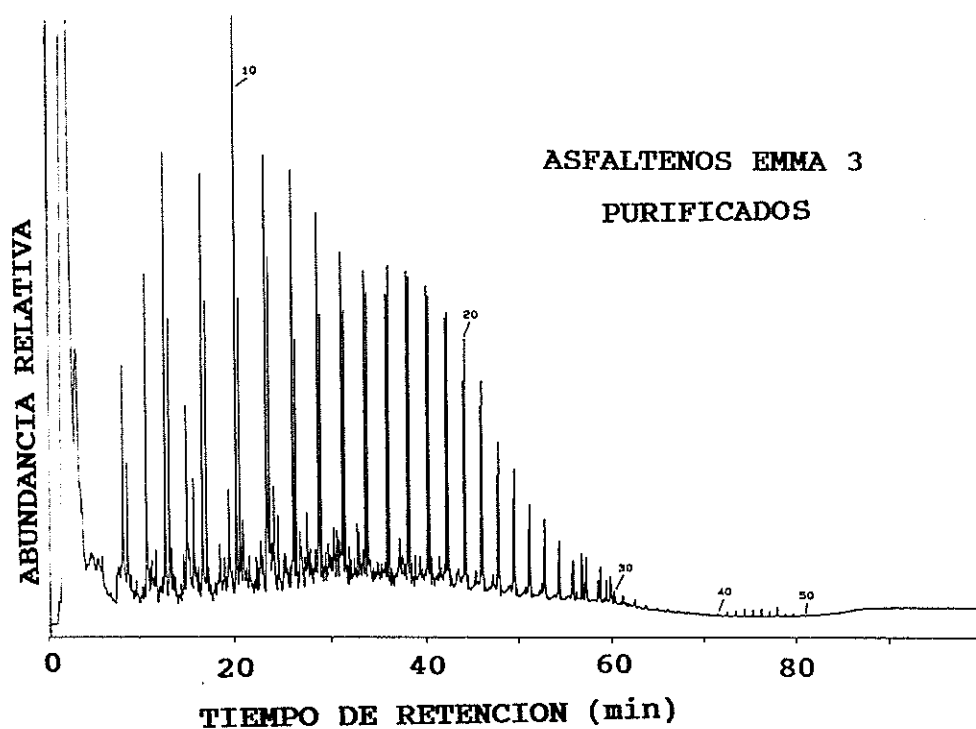
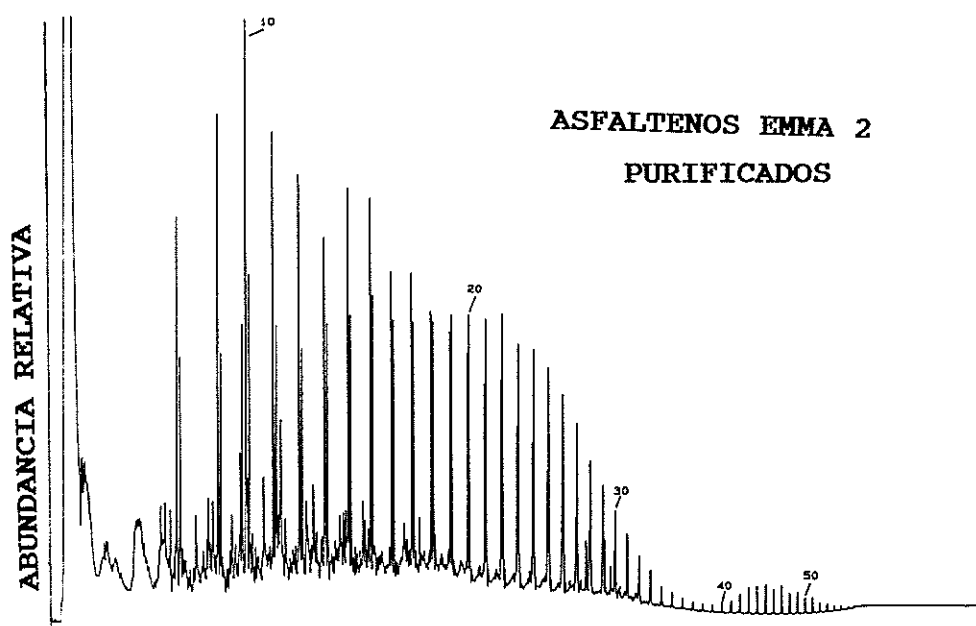


Figura IV.47.- Cromatogramas FID de alta temperatura de los pirolizados de los asfaltenos de las EMMAS 2 y EMMA 3, tras una extensa reprecipitación y purificación.

están definidos operacionalmente como la fracción de extracto bituminoso precipitada en *n*-pentano, estos hidrocarburos serían, por definición, parte de la estructura del asfalteno. De todas formas, pequeñas proporciones de estos hidrocarburos todavía se observan en los pirogramas de los asfaltenos, lo que también podría indicar que forman parte de su estructura. Como veremos más adelante, la presencia de cadenas de muy alto peso molecular en la estructura de los asfaltenos se ha confirmado por degradación oxidativa con tetróxido de Rutenio.

Las posibles diferencias estructurales entre los asfaltenos y los kerógenos, podrían explicarse a la luz de los resultados obtenidos de diversas formas. Por una parte, es posible que la rotura de enlaces débiles C-S, S-S y de algunos enlaces C-C, que potencialmente unirían las cadenas de mayor peso molecular presentes en el kerógeno, daría lugar a la eliminación de grandes fragmentos de kerógeno para producir asfaltenos conteniendo hidrocarburos de muy alto peso molecular. Una vez eliminadas estas estructuras, el kerógeno no poseería cadenas de muy alto peso molecular. Otra razón por la que no se observarían hidrocarburos de alto peso molecular en la pirólisis podría ser la naturaleza de su estructura. El alto grado de entrecruzamiento produciría una liberación de hidrocarburos de menor peso molecular en la pirólisis del kerógeno comparado con el asfalteno, donde habría menor entrecruzamiento y por tanto menores puntos de rotura.

IV.3.3.3.- Pirólisis-metilación.

La drasticidad de la pirólisis-flash podría provocar que algunas estructuras de los geopolímeros quedaran muy modificadas y, consecuentemente, se llegara a interpretaciones erróneas de los resultados. Así, la pirólisis-flash parece desestimar la presencia potencial de unidades carboxílicas en bio y geopolímeros. De hecho, la pirólisis-flash de geopolímeros que contienen como unidades estructurales ácidos bencenocarboxílicos (como los ácidos húmicos y fúlvicos), da lugar a una interpretación estructural fragmentaria de dichos geopolímeros, ya que estas unidades sufren descarboxilaciones bajo las condiciones de pirólisis (Martin *et al.*, 1994a).

Recientemente se ha desarrollado la pirólisis-metilación en presencia de hidróxido de tetrametilamonio (TMAH), que evita la descarboxilación de los ácidos bencenocarboxílicos generados en la pirólisis, facilitando por tanto el análisis de la estructura molecular de los geopolímeros orgánicos (Anderson y Winans, 1991; Challinor, 1989, 1991a,b; de Leeuw and Baas, 1993; del Rio *et al.*, 1994; Martín *et al.*, 1994a,b; Hatcher and Clifford, 1994). La pirólisis en presencia de TMAH produce ésteres metílicos de los ácidos carboxílicos y éteres metílicos de los grupos fenólicos. Por el contrario, los alcoholes alifáticos se metilan solo parcialmente. Se ha demostrado que esta pirólisis consiste en una quemolisis asistida térmicamente (de Leeuw and Baas, 1993; Martín *et al.*,

1994a), en lugar de una pirólisis '*sensu stricto*' seguida de una metilación. Algunos datos preliminares sobre la aplicación de esta técnica al estudio de los kerógenos han sido recientemente descrito por otros autores (Kralert *et al.*, 1991).

En la Figura IV.48 (a-d) se muestran los cromatogramas de los productos formados en la pirólisis-metilación de los diversos kerógenos y asfaltenos de las cuatro muestras de pizarras estudiadas. Los principales compuestos formados fueron series de alcano/alqueno, ácidos grasos y ácidos bencenocarboxílicos. Algunos triterpenoides con esqueleto tipo hopano también se identificaron, así como compuestos provenientes de la lignina.

Las series alifáticas identificadas en los pirogramas fueron dobletes de *n*-alcanos y *n*-alquenos hasta el C₃₀. La distribución de estas series es similar a la obtenida en la pirólisis convencional, e indica la presencia de cantidades significativas de componentes polialquílicos, como se ha discutido anteriormente.

Las series de ácidos grasos formados se identificaron por monitorización del ion característico *m/z* 74, y se detectaron desde C₈ hasta C₃₄, como se observa en la Figura IV.49 (a-d). En la distribución de ácidos grasos se observa un predominio de las cadenas de número par de átomos de carbono respecto de las cadenas de número impar, y con máximos para los C₁₆, C₁₈ y C₂₆. Series de 2-metil-, 2-metoxi- y ω-metoxi-ácidos grasos también se identificaron, presentando un predominio de las cadenas de número

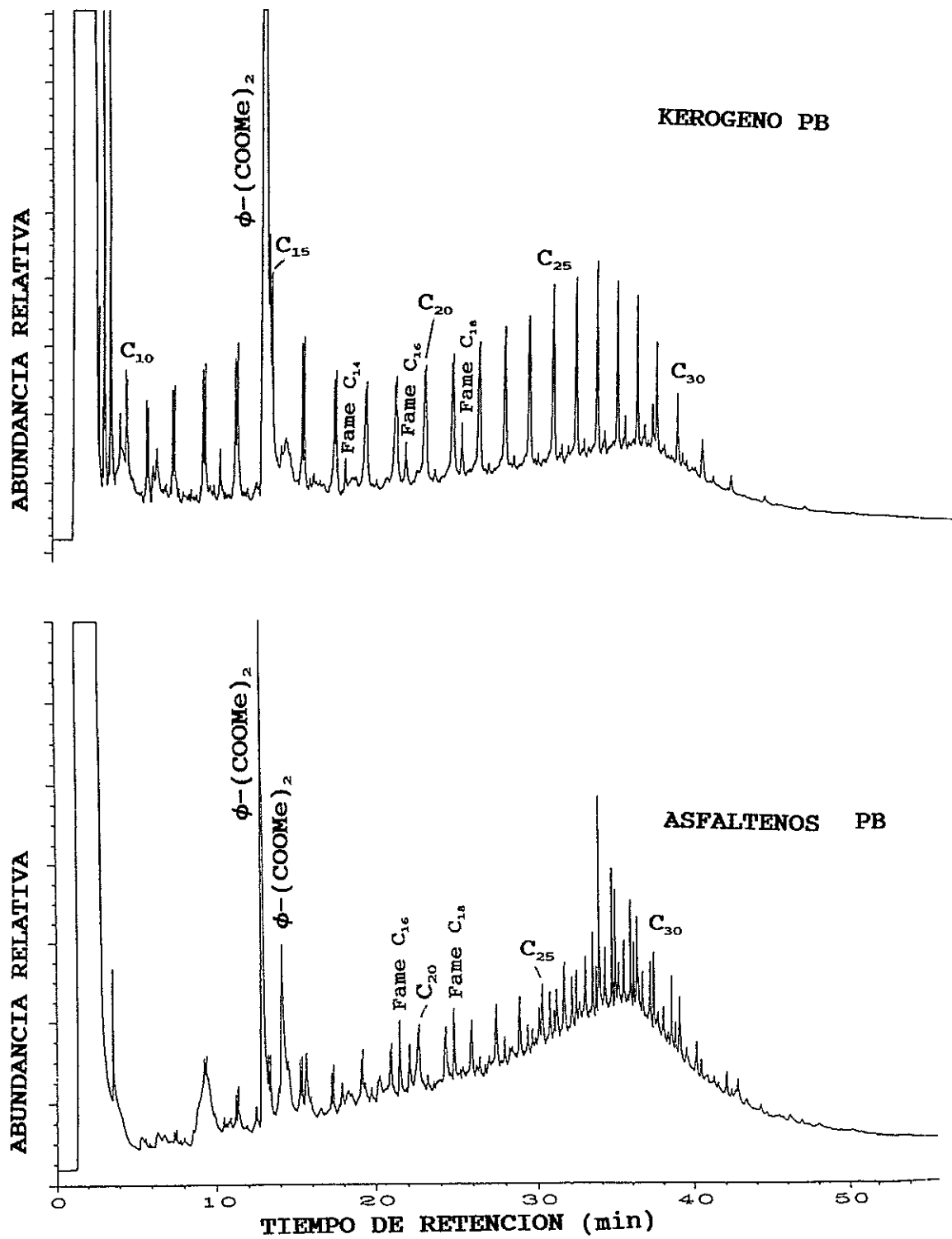


Figura IV.48a.- Cromatogramas FID de la pirólisis-metilación de los kerógenos y asfaltenos de la pizarra PB.

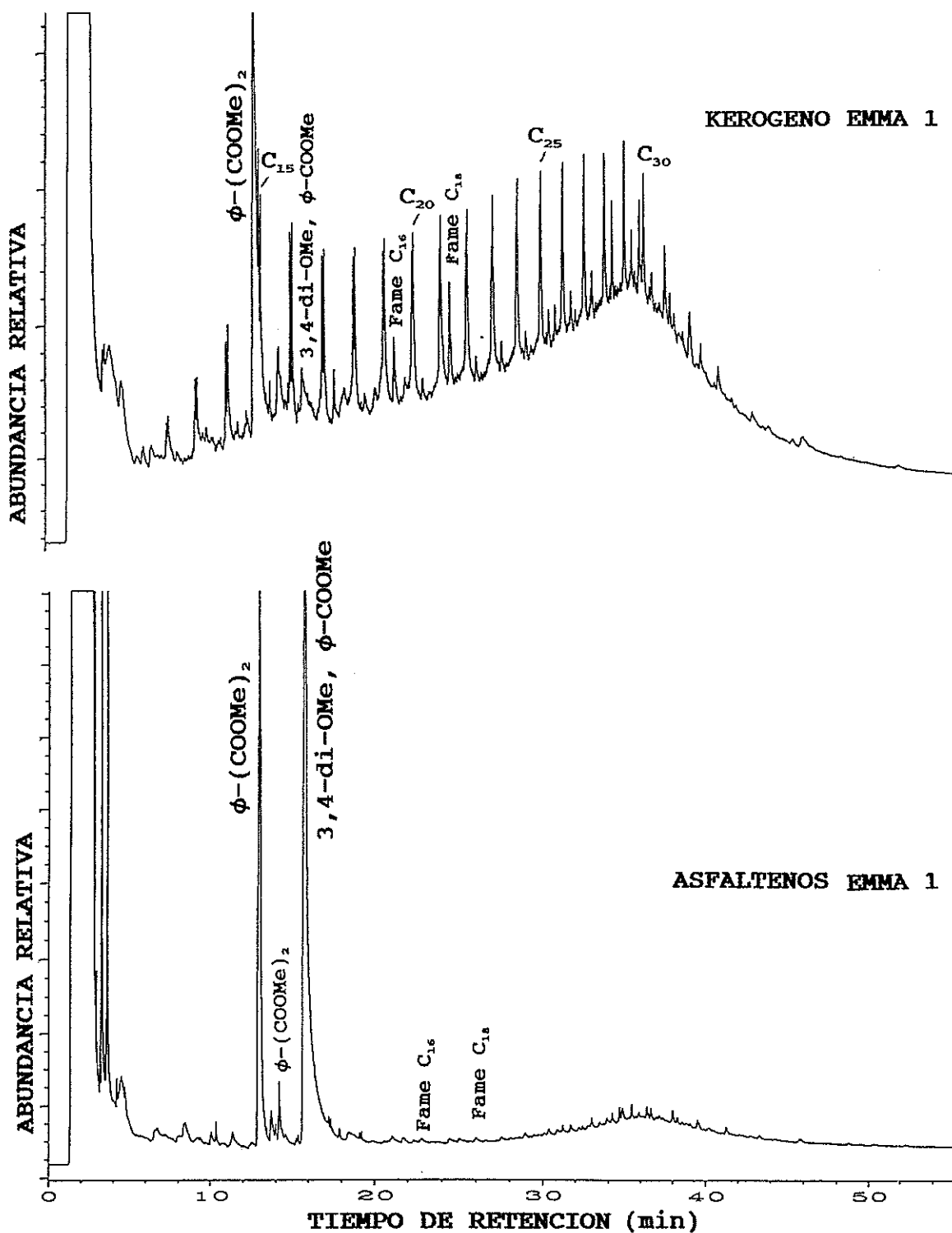


Figura IV.48b.- Cromatogramas FID de la pirólisis-metilación de los kerógenos y asfaltenos de la pizarra EMMA 1.

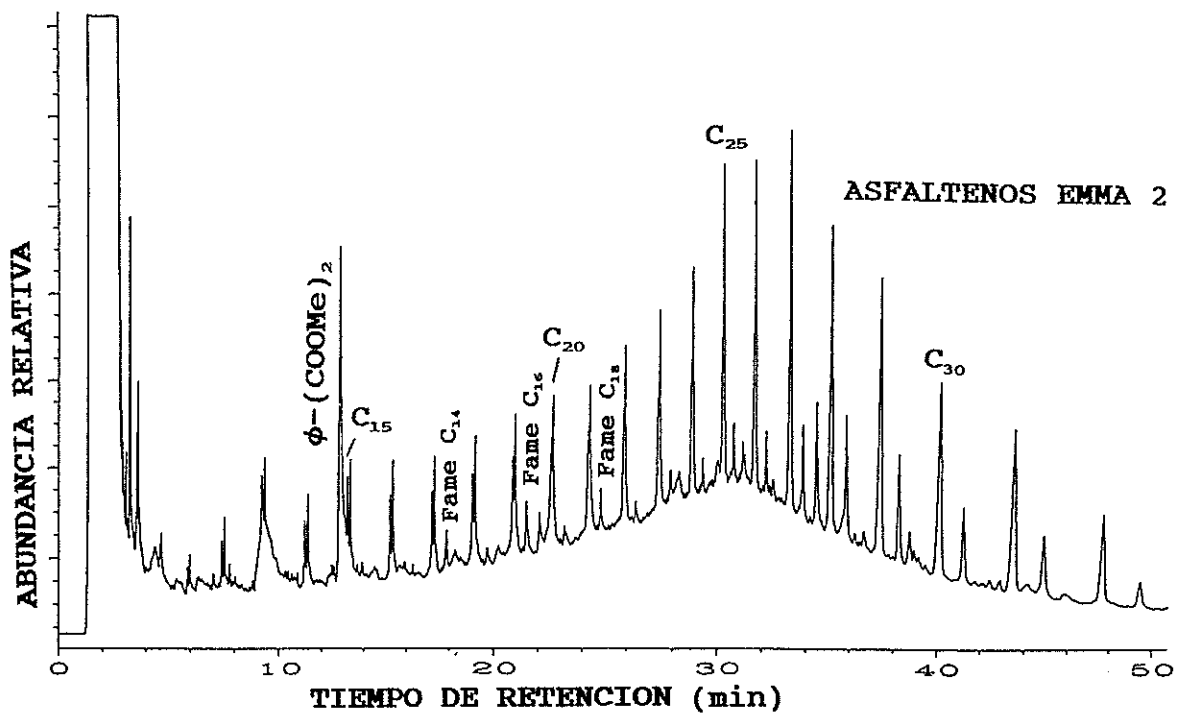
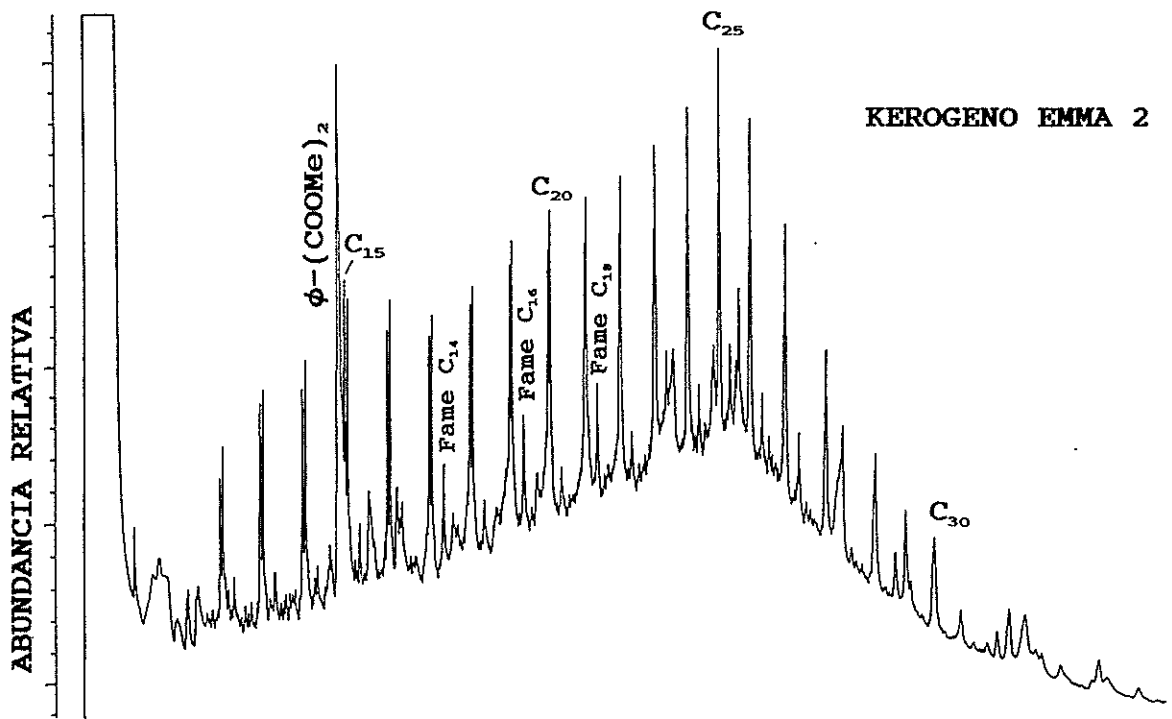


Figura IV.48c.- Cromatogramas FID de la pirólisis-metilación de los kerógenos y asfaltenos de la pizarra EMMA 2.

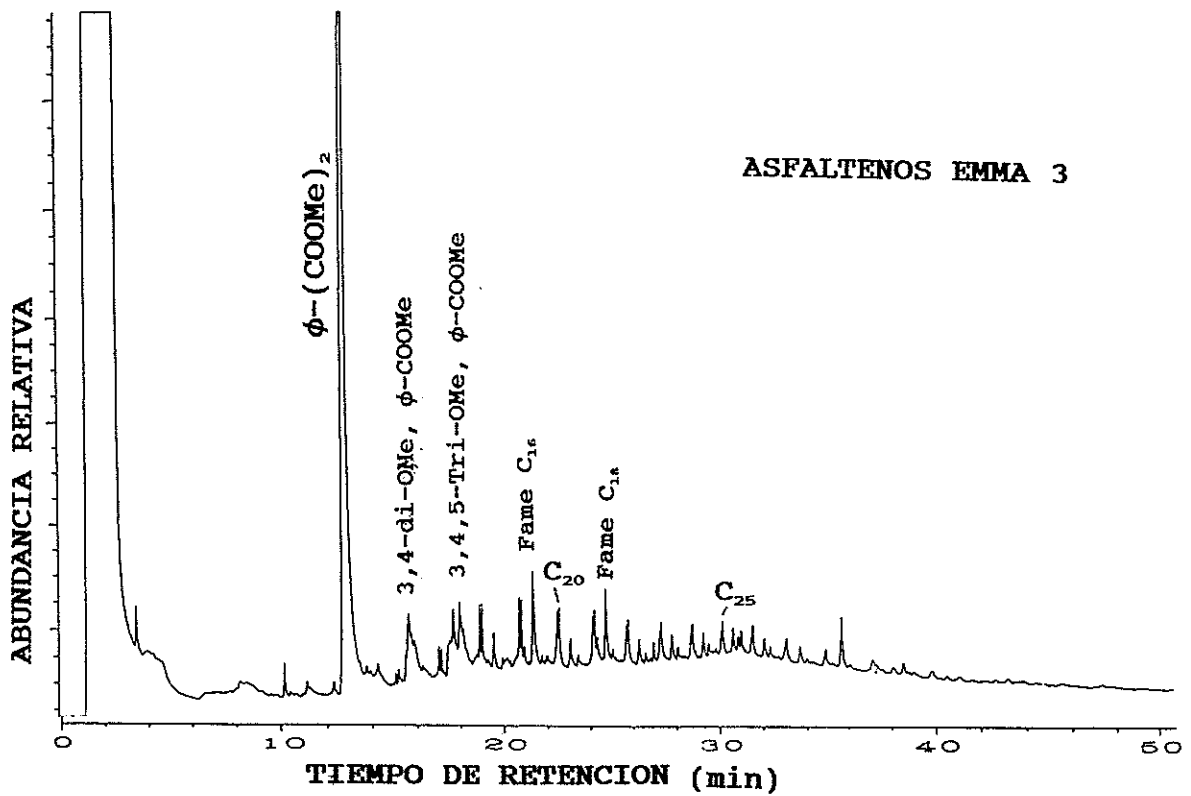
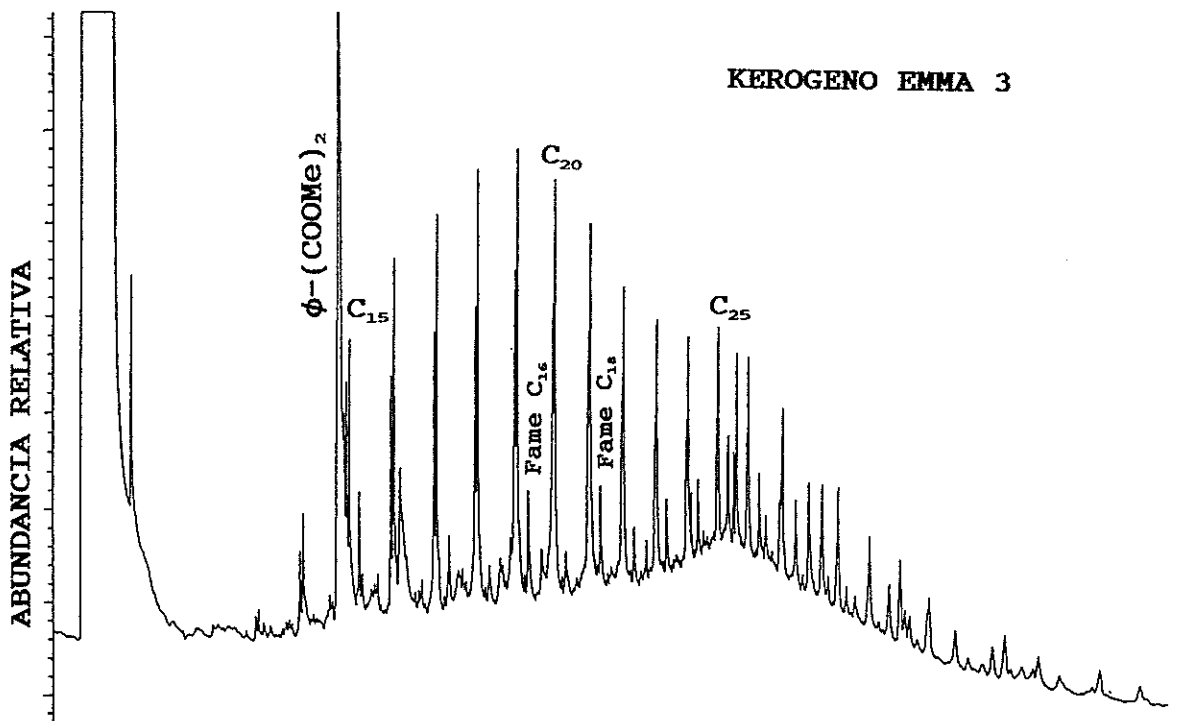


Figura IV.48d.- Cromatogramas FID de la pirólisis-metilación de los kerógenos y asfaltenos de la pizarra EMMA 3.

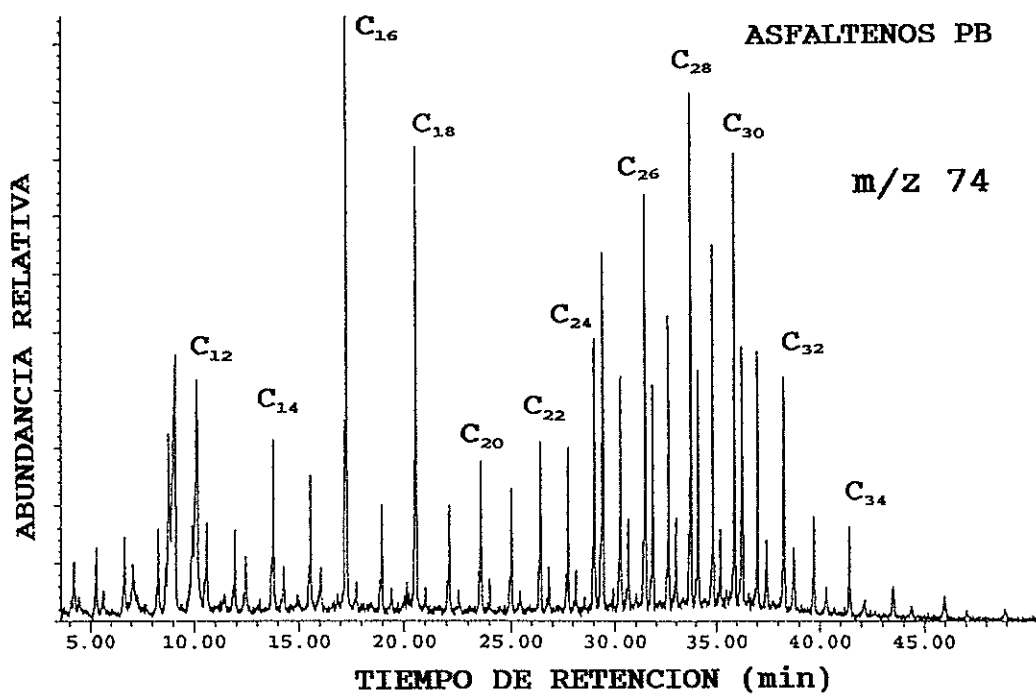
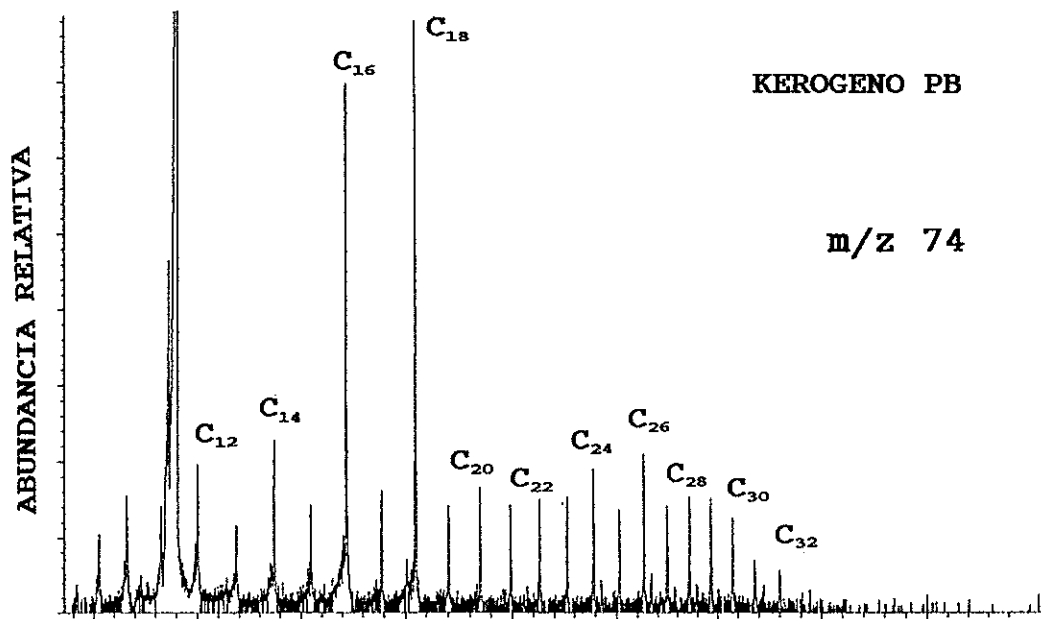


Figura IV.49a.- Fragmentograma (m/z 74) correspondiente a los ácidos grasos (C_8 - C_{34}) presentes en los pirogramas de los kerógenos y asfaltos de la pizarra PB.

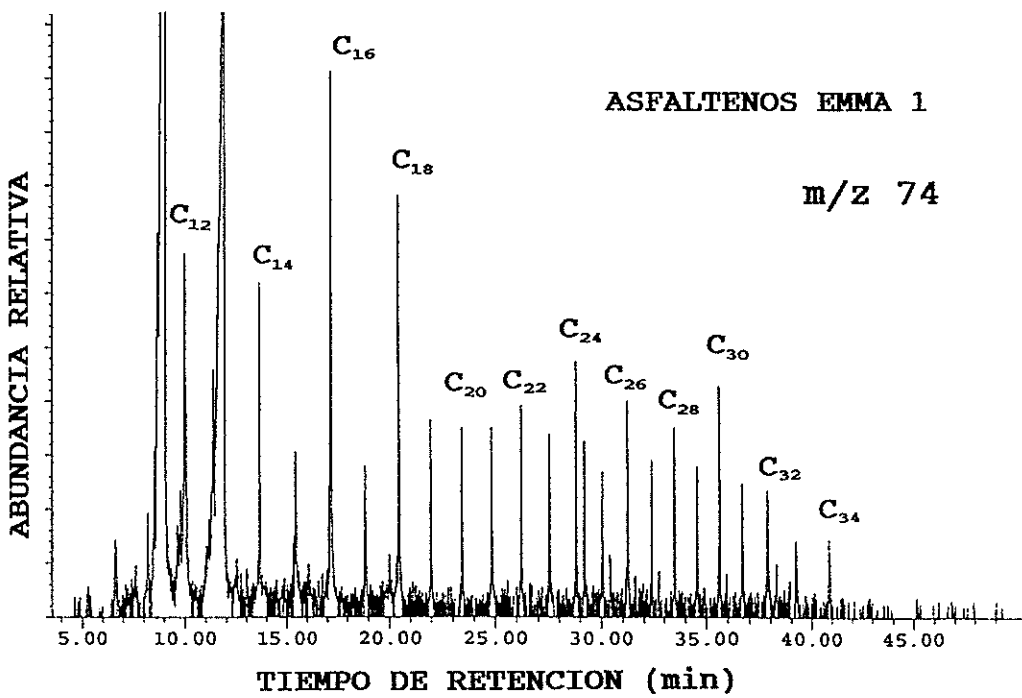
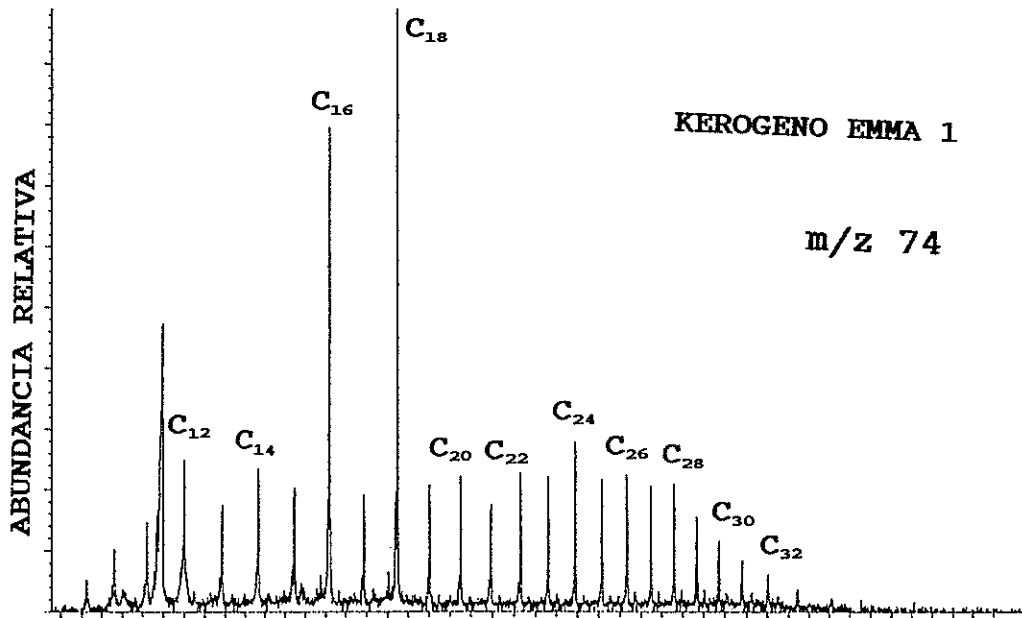


Figura IV.49b.- Fragmentograma (m/z 74) correspondiente a los ácidos grasos (C_8 - C_{34}) presentes en los pirogramas de los kerógenos y asfaltenos de la pizarra EMMA 1.

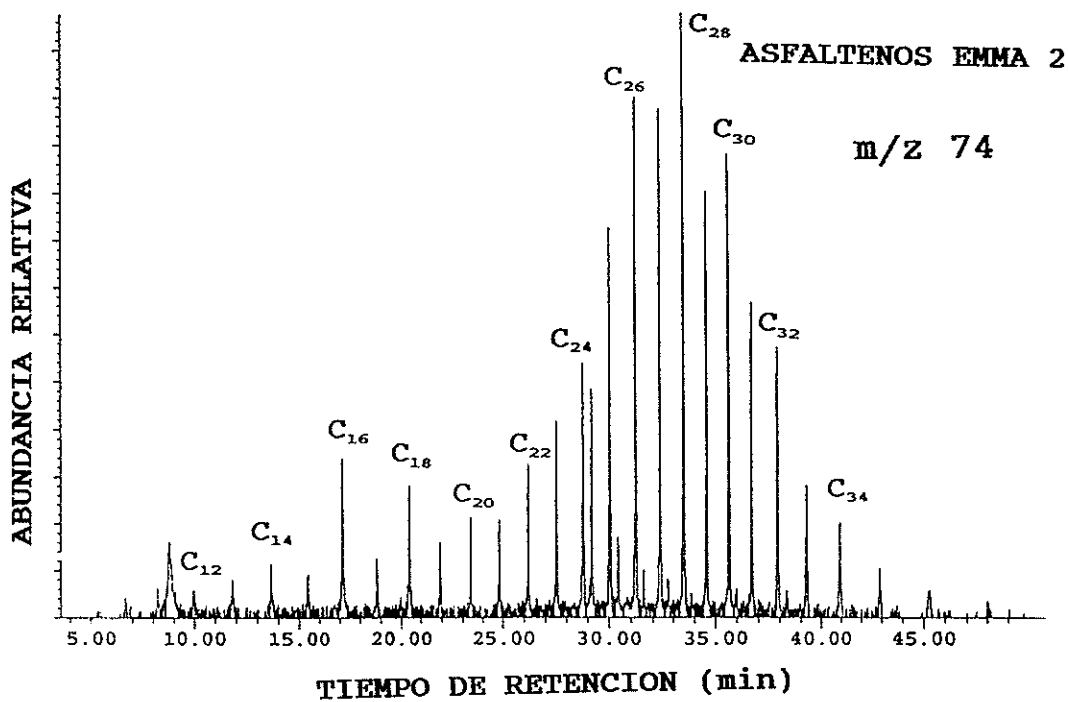
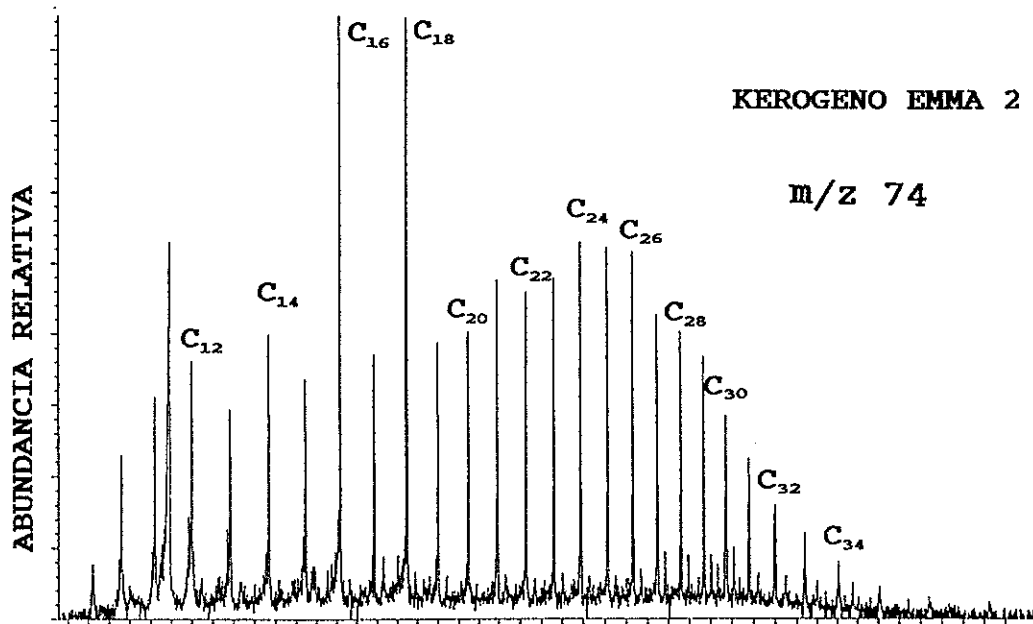


Figura IV.49c.- Fragmentograma (*m/z* 74) correspondiente a los ácidos grasos (C₈-C₃₄) presentes en los pirogramas de los kerógenos y asfaltenos de la pizarra EMMA 2.

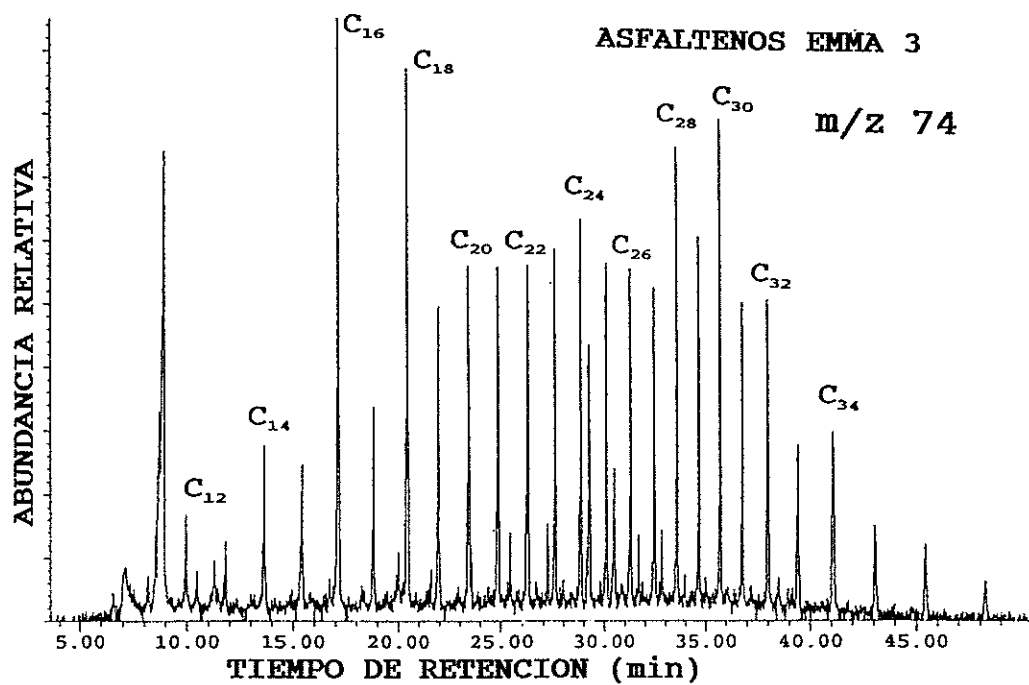
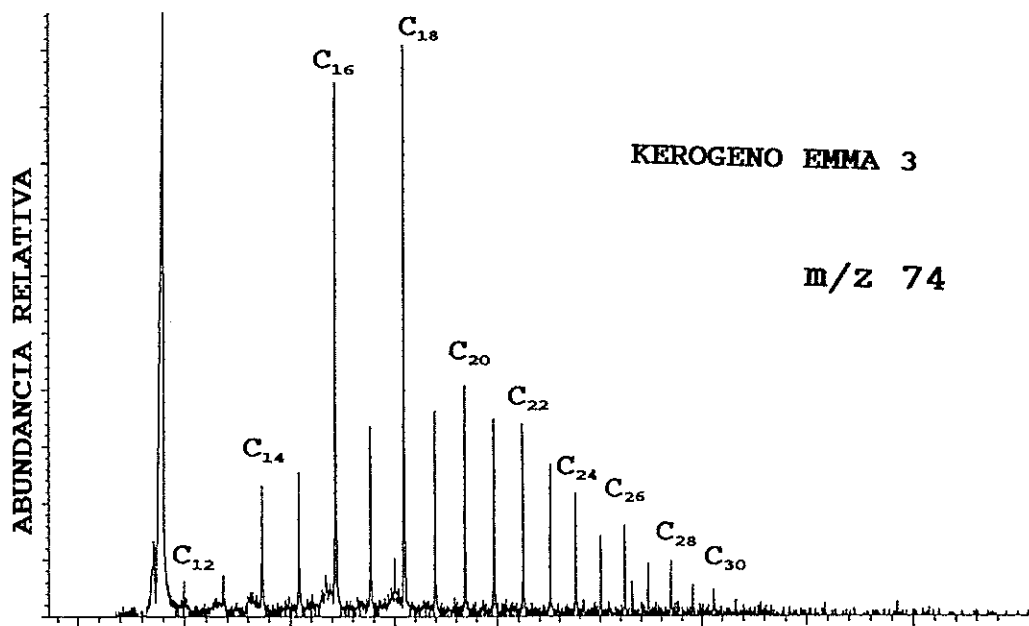


Figura IV.49d.- Fragmentograma (m/z 74) correspondiente a los ácidos grasos (C_8 - C_{34}) presentes en los pirogramas de los kerógenos y asfaltenos de la pizarra EMMA 3.

par de átomos de carbono respecto de las de número impar. Los distintos tipos de ácidos grasos detectados en los productos de pirólisis pueden provenir de ácidos grasos unidos por enlaces ésteres y protegidos en la parte más refractaria de la matriz macromolecular (Jaffé y Gardinali, 1990). Kawamura e Ishiwatari (1985) definieron los ácidos carboxílicos fuertemente unidos al kerógeno (*tightly bound fatty acids*) como aquellos que se liberan de la matriz macromolecular únicamente por pirólisis. Estos ácidos grasos fuertemente unidos al kerógeno podrían provenir directamente de los organismos vivos y quedar incorporados al kerógeno vía enlaces ésteres y, por tanto, estarían protegidos de las degradaciones diagenéticas.

Los principales compuestos aromáticos producidos en la pirólisis-metilación fueron ácidos bencenocarboxílicos y sus respectivos homólogos metoxilados. En todas las muestras el componente mayoritario fue el ácido bencenodicarboxílico, excepto en el asfalteno de la EMMA 1 en el que predominan los ácidos 3,4-dimetoxibencenocarboxílico y 3,4,5-trimetoxibencenocarboxílico. Los ácidos bencenocarboxílicos y sus respectivos homólogos metoxilados provienen, probablemente, de ligninas y taninos de plantas superiores, y se pueden considerar como indicadores de un origen de material terrestre. Compuestos dímeros de la lignina, del tipo del pinosinol, también se identificaron en algunas muestras. En la Figura IV.50 se muestra el espectro de masas de este

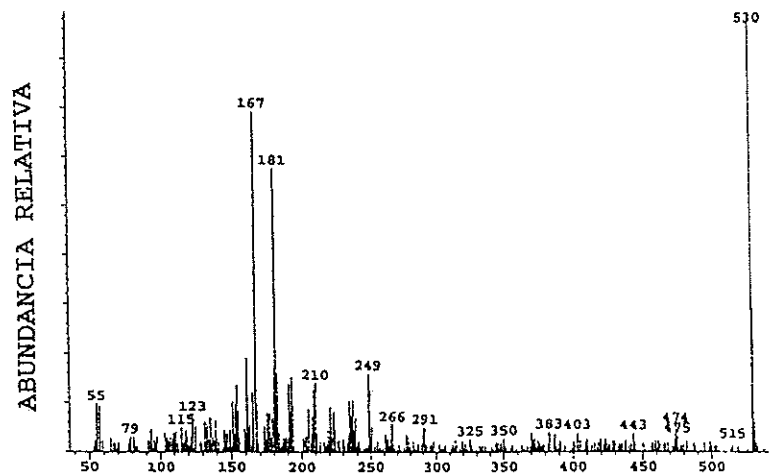
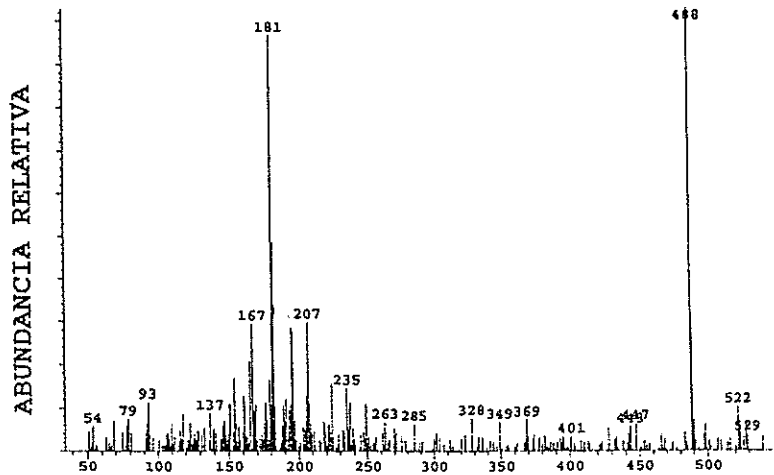
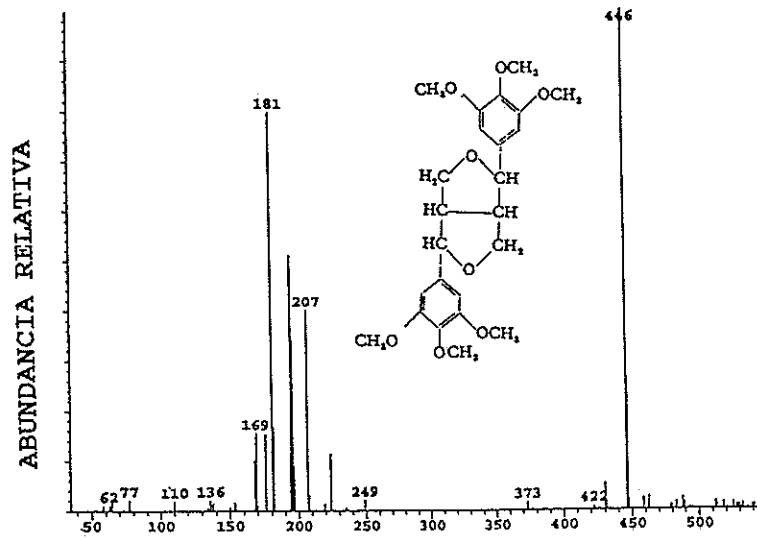


Figura IV.50.- Espectro de masas de un compuesto dímero de la lignina, del tipo del pinoresinol y de otros dos compuestos de estructura parecida.

compuesto y su estructura. Su identificación fue confirmada por comparación con los compuestos liberados en la pirólisis-metilación de diferentes ligninas. Los espectros de masas de otros dos compuestos de estructura probablemente similar, no identificados, se muestran también en la misma Figura. La presencia de estructuras provenientes de la lignina ha sido también sugerida en otros kerógenos por hidrogenación selectiva (Mycke y Michaelis, 1986). Estos resultados sugieren que la lignina también puede resistir la diagénesis e incorporarse a la estructura del kerógeno.

Series de alquilbencenos desde el C₅ al C₂₈ también se identificaron, aunque en cantidades relativamente bajas, en los pirolizados de los kerógenos, pero no en los pirolizados de los asfaltenos. El cromatograma parcial del ion m/z 91+92 de la Figura IV.51 muestra la distribución de los alquilbencenos en dos muestras representativas. Dicha serie de alquilbencenos se ha identificado también en otros pirolizados de kerógenos y carbones (Solli *et al.*, 1980; Hartgers *et al.*, 1992;1994).

Compuestos triterpénicos de esqueleto hopano también se identificaron en la pirólisis-metilación de los asfaltenos y kerógenos, principalmente ácidos hopanoicos y hopanos insaturados (hopenos). Los espectros de masas del ácido 17 α (H),21 β (H)-homohopanoico (metil ester) y del 22,29,30-trisnorhop-17(21)-eno se presentan en la Figura IV.52. El hecho de que se forme la serie de ácidos hopanoicos revela que las estructuras hopanoides están

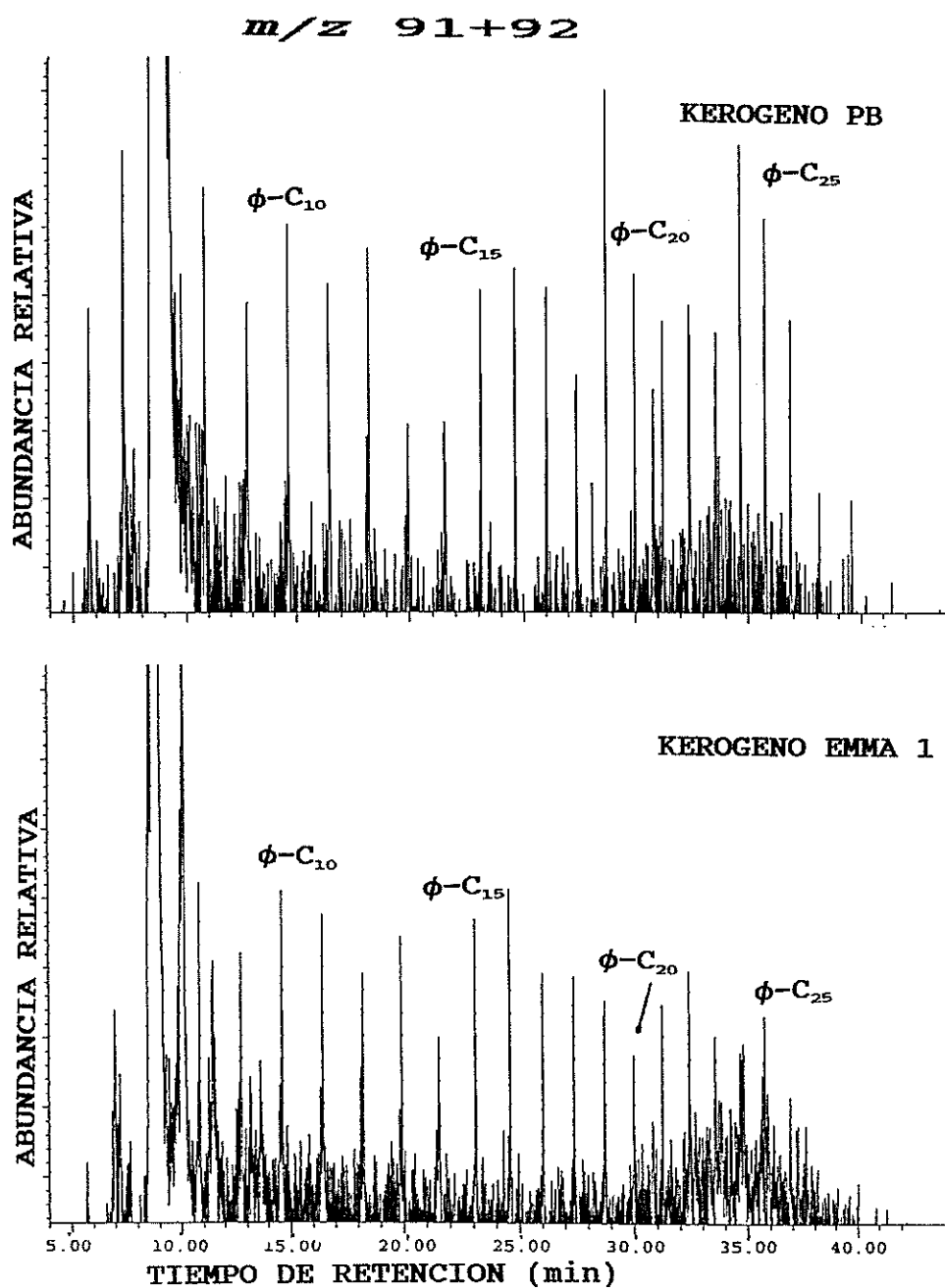


Figura IV.51.- Fragmentograma suma (m/z 91+92) mostrando la distribución de los alquilbencenos (C_5 - C_{28}) en dos kerógenos representativos.

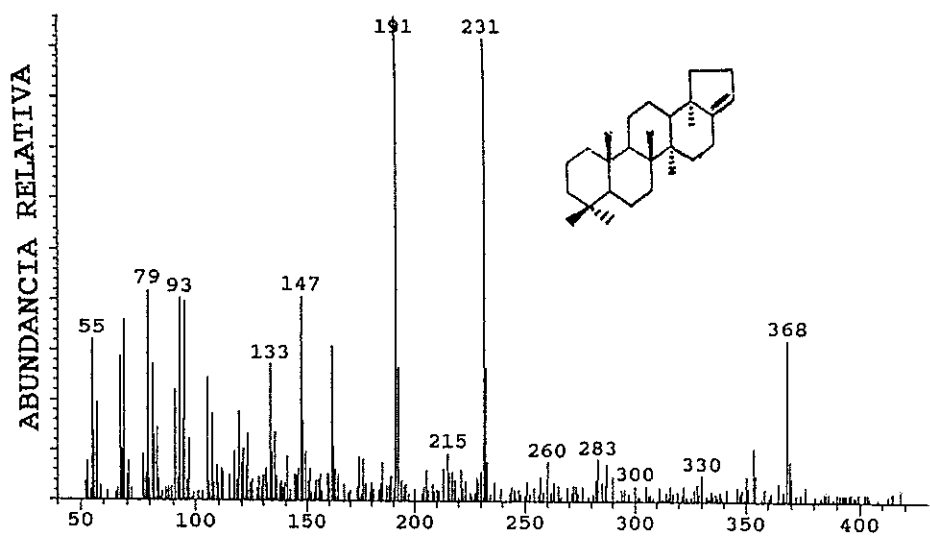
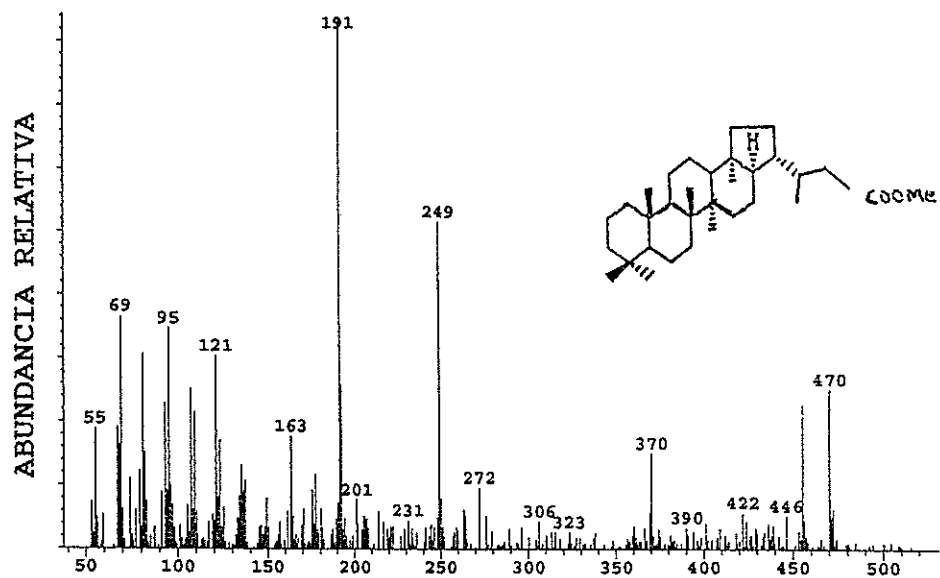


Figura IV.52.- Espectros de masas del ácido 17 α (H), 21 β (H)-homohopanoico (metil éster) y del 22,29,30-trisnorhop-17(21)-eno.

unidas por la cadena lateral y mediante enlaces tipo éster a las macromoléculas de kerógeno y asfalteno. La liberación de hopenos, por otro lado, indicaría también la presencia de estructuras hopanoides unidas a través de enlaces éteres. Diversos triterpenos se han identificado también por degradaciones químicas de kerógenos (Barackat y Yen, 1990).

IV.3.4.- TECNICAS DEGRADATIVAS QUIMICAS.

Las degradaciones oxidativas han sido ampliamente utilizadas para obtener información acerca de la estructura polimérica de kerógenos y asfaltenos. El principal agente oxidante utilizado ha sido el permanganato en medio alcalino (Djuricic *et al.*, 1972; Vitorovic *et al.*, 1984,1988; Amblés *et al.*, 1988). Hoy día se utilizan reacciones de oxidación más suaves e incluso selectivas, como son las oxidaciones con tetróxido de Rutenio (Trifilief, 1987,1992; Standen *et al.*, 1991; Boucher *et al.*, 1991), la hidrogenolisis catalítica o la escisión por BBr₃ (Chappe *et al.*, 1980,1982; Mycke y Michaelis, 1986; Mycke *et al.*, 1987) y la degradación oxidativa con dicromato sodico en ácido acético glacial (Barackat y Yen, 1990), cuyos productos de degradación son más representativos de la estructura polimérica del kerógeno y del asfalteno.

En nuestro caso, se ha llevado a cabo un estudio comparativo

sobre los productos de degradación del kerógeno mediante oxidación con permanganato en medio alcalino, a temperatura ambiente y 80 °C. Igualmente se han realizado oxidaciones con tetróxido de Rutenio, que es un agente oxidante suave y selectivo que destruye preferencialmente los anillos aromáticos dejando la estructura alifática y alicíclica intacta (Trifilief, 1987; Standen *et al.*, 1991; Boucher *et al.*, 1991).

IV.3.4.1.- Oxidación con permanganato en medio alcalino.

En la Figura IV.53 se muestran los cromatogramas de ion total de los productos de degradación obtenidos por oxidación con permanganato en medio alcalino a temperatura ambiente y a 80 °C. La identificación de cada compuesto se detalla en cada pico cromatográfico. Los principales productos de oxidación en ambos casos fueron los ácidos α,ω -dicarboxílicos.

En el caso de la degradación a temperatura ambiente, los productos mayoritarios fueron los alifáticos. La suma de los ácidos grasos mono- y dicarboxílicos suponen casi el 85% de los productos de degradación, mientras que el resto correspondió a ácidos bencenodicarboxílicos (15%). A 80 °C, sin embargo, los ácidos bencenocarboxílicos fueron componentes más abundantes (30%). Este resultado sugiere que los componentes alifáticos estarían unidos más debilmente a la estructura macromolecular, mientras que los componentes aromáticos necesitarían comparativamente más energía

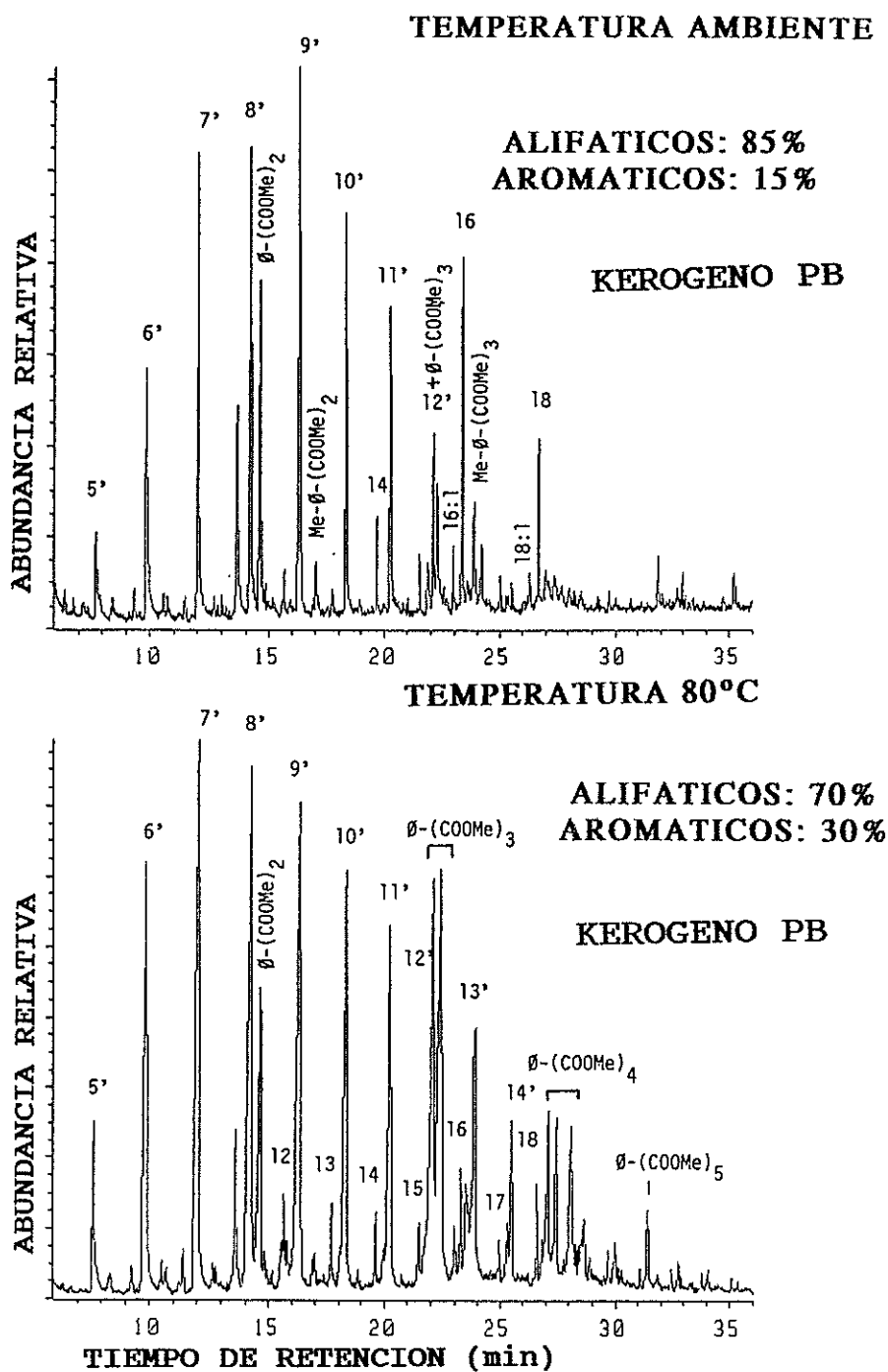


Figura IV.53.- Cromatogramas de ion total (T.I.C.) de los productos de oxidación con permanganato en medio alcalino a temperatura ambiente y a 80°C del kerógeno de la muestra PB. 14, 16, 18, etc = ácidos grasos (metil éster), 5', 6', 7', etc = ácidos dicarboxílicos (dimetil éster) y ϕ -(COOMe)_n = ácidos bencenocarboxílicos.

para liberarse de la matriz macromolecular. Asimismo los componentes alifáticos parecen derivar de estructuras moleculares más sensibles a la oxidación mientras que las estructuras aromáticas serían más resistentes a la oxidación con permanganato, y su relativa abundancia tendería a aumentar al tiempo que se degradan las primeras. Por tanto, puede afirmarse que a temperatura ambiente hay una eliminación preferencial de las estructuras alifáticas, menos firmemente asociadas a la matriz polimérica. Resultados similares se han obtenido en la oxidación de ácidos húmicos con permanganato en medio alcalino a temperatura ambiente (Almendros *et al.*, 1989).

Una característica sobresaliente que se observó en la oxidación a temperatura ambiente fue la identificación de ácidos grasos insaturados $C_{16:1}$ y $C_{18:1}$, como productos de degradación. Estas estructuras insaturadas pudieron haberse incorporado y preservado en el kerógeno en alguna forma sensible a la oxidación y puede que no se hayan detectado previamente en los kerógenos debido a la drasticidad de los métodos empleados.

A temperatura ambiente, los ácidos grasos liberados presentaron un predominio de los de cadena par de átomos de carbono, con máximos para el C_{16} y C_{18} , que probablemente refleja la distribución original de las cadenas alifáticas en la estructura del kerógeno. La distribución de los ácidos grasos observada a $80^{\circ}C$ fue muy diferente. La proporción de los ácidos grasos dicarboxílicos de

cadena corta aumentó como consecuencia de la oxidación y rotura de los de mayor longitud.

Otra diferencia importante entre las oxidaciones a diferentes temperaturas fue la identificación de ácidos bencenocarboxílicos con grupos metilos como sustituyentes en la oxidación a temperatura ambiente, los cuales están ausentes entre los productos de oxidación a 80°C debido a que se oxidan en estas condiciones tan drásticas. También hay una diferencia importante en la distribución de los ácidos bencenocarboxílicos en ambos casos. En la Figura IV.54 se muestra la suma de los fragmentogramas de los iones m/z 163, 221, 279 y 337, correspondientes a la distribución de los bencenodi-, bencenotri-, bencenotetra- y bencenopentacarboxílicos a las dos temperaturas. A temperatura ambiente se produjo un predominio de los ácidos bencenodicarboxílicos sobre los tri- y tetracarboxílicos, mientras que a 80° hay un predominio de los ácidos bencenotricarboxílicos y un alto contenido en ácidos bencenotetra- y bencenopentacarboxílicos. Es obvio que estos últimos necesitarían comparativamente más energía para liberarse de la estructura macromolecular que los primeros.

IV.3.4.2.- Oxidación con tetróxido de Rutenio.

El tetróxido de Rutenio libera las estructuras alicíclicas en forma de ácidos carboxílicos. Por tanto, las posiciones de los grupos carboxílicos marcarían las posiciones de unión de la cadena alifática

m/z 163+221+279+337

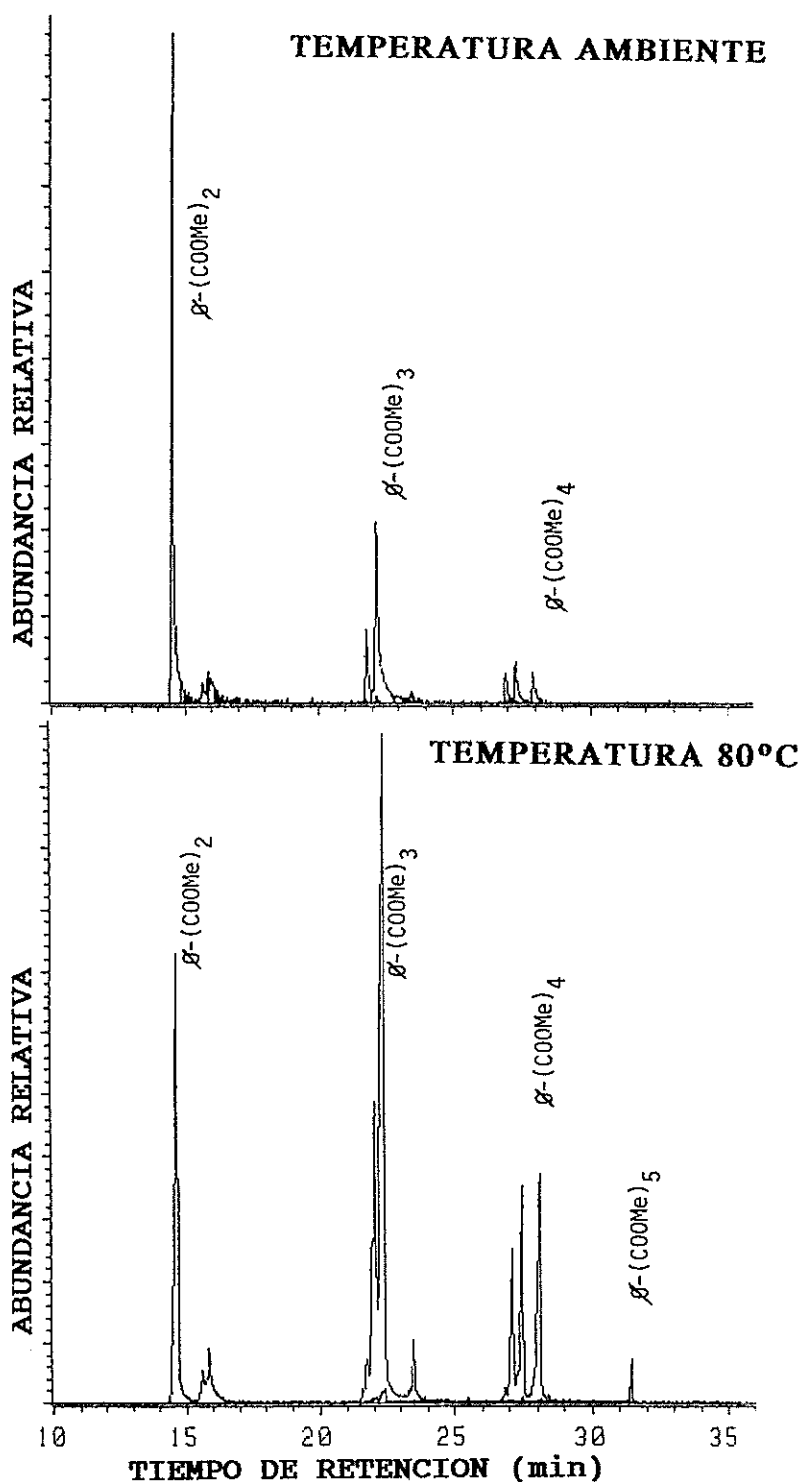


Figura IV.54.- Fragmentograma suma (m/z 163, 221, 279 y 337), correspondiente a los benzenodi-, tri-, tetra- y pentacarboxílicos presentes en los productos de oxidación con permanganato en medio alcalino a temperatura ambiente y a 80°C del kerógeno de la muestra PB.

a la estructura polimérica y las posiciones de los grupos funcionales lábiles tales como dobles enlaces o enlaces éteres y ésteres (Standen *et al.*, 1991). Este tipo de oxidación ha sido anteriormente usada para estudiar la naturaleza alquímica de asfaltenos y kerógenos (Trifilieff, 1987,1992; Standen *et al.*, 1991; Boucher *et al.*, 1991).

En la Figura IV.55 se muestra el cromatograma de los productos formados en la oxidación del asfaleno PB con tetróxido de Rutenio. La mayor parte de los compuestos identificados fueron ácidos grasos mono- y dicarboxílicos. Los ácidos mono-carboxílicos se identificaron desde C₁₀ hasta C₃₅, con una distribución más o menos uniforme. La serie de ácidos dicarboxílicos se identificó desde C₅ hasta C₃₀, con un mayor predominio de los homólogos de menor peso molecular y un máximo en C₇. También se identificaron ácidos aromáticos tales como los bencenodi-, tri-, tetra- y pentacarboxílicos, así como diversos homólogos con grupos metilos en el anillo.

En la Figura IV.56 se muestra la suma de los fragmentogramas de los iones *m/z* 163, 221, 279 y 337, correspondientes a los bencenodi-, bencenotri-, bencenotetra- y bencenopentacarboxílicos, en la que se observa el predominio de los ácidos bencenodicarboxílicos sobre los demás. Esta distribución es análoga a la observada en la oxidación del kerógeno de la pizarra PB con permanganato en medio alcalino a temperatura ambiente. El análisis de los productos de degradación por HTGC se muestra en

ASFALTENOS PB

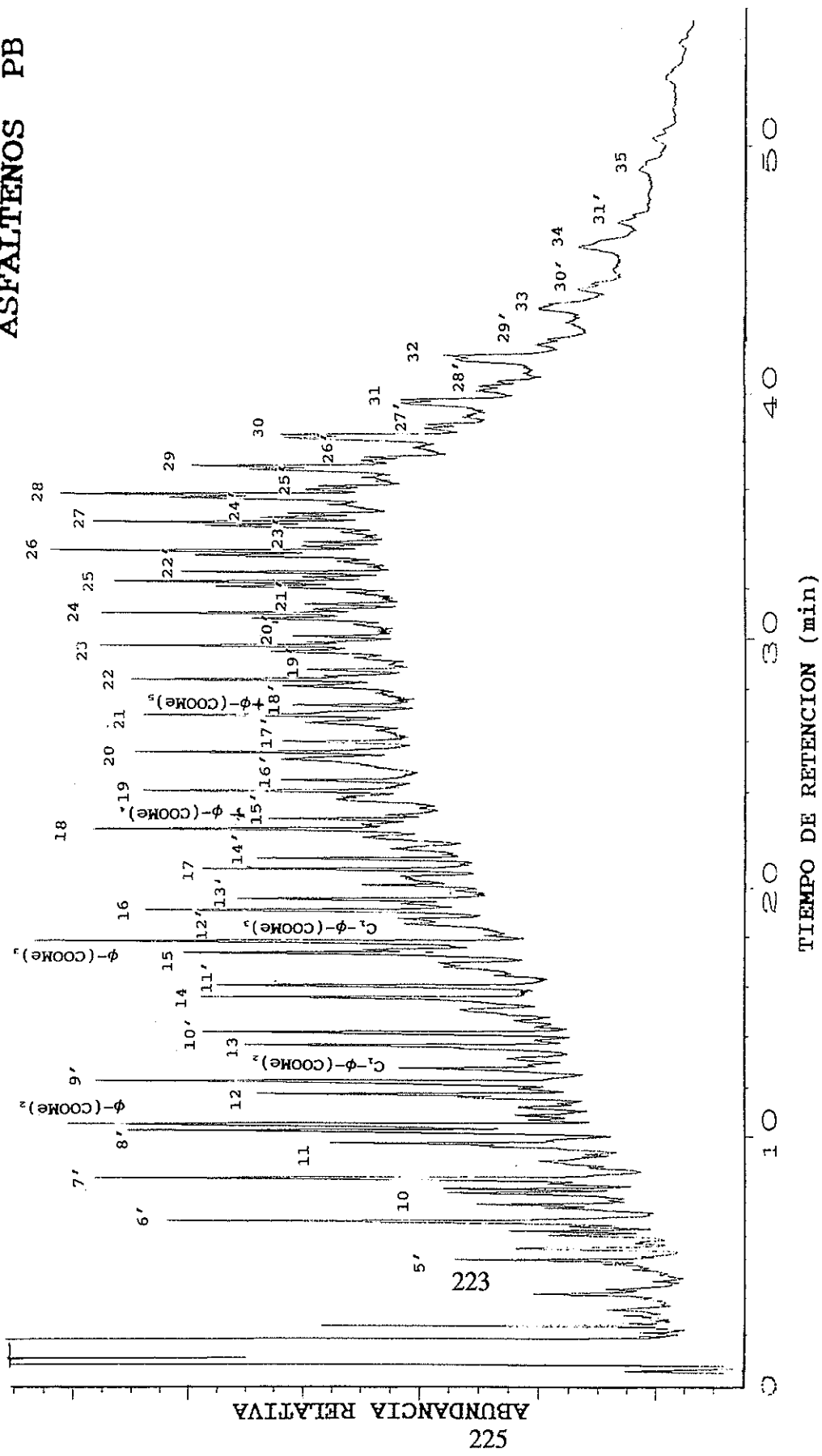


Figura IV.55.- Cromatogramas FID de los productos de degradación con tetróxido de rutenio del asfalteno de la muestra PB. 14, 16, 18, etc = ácidos grasos (metil éster), 5', 6', 7', etc = ácidos dicarboxílicos (dimetil éster) y ϕ -(COOMe)_n = ácidos benzenocarboxílicos.

m/z 163+221+279+337

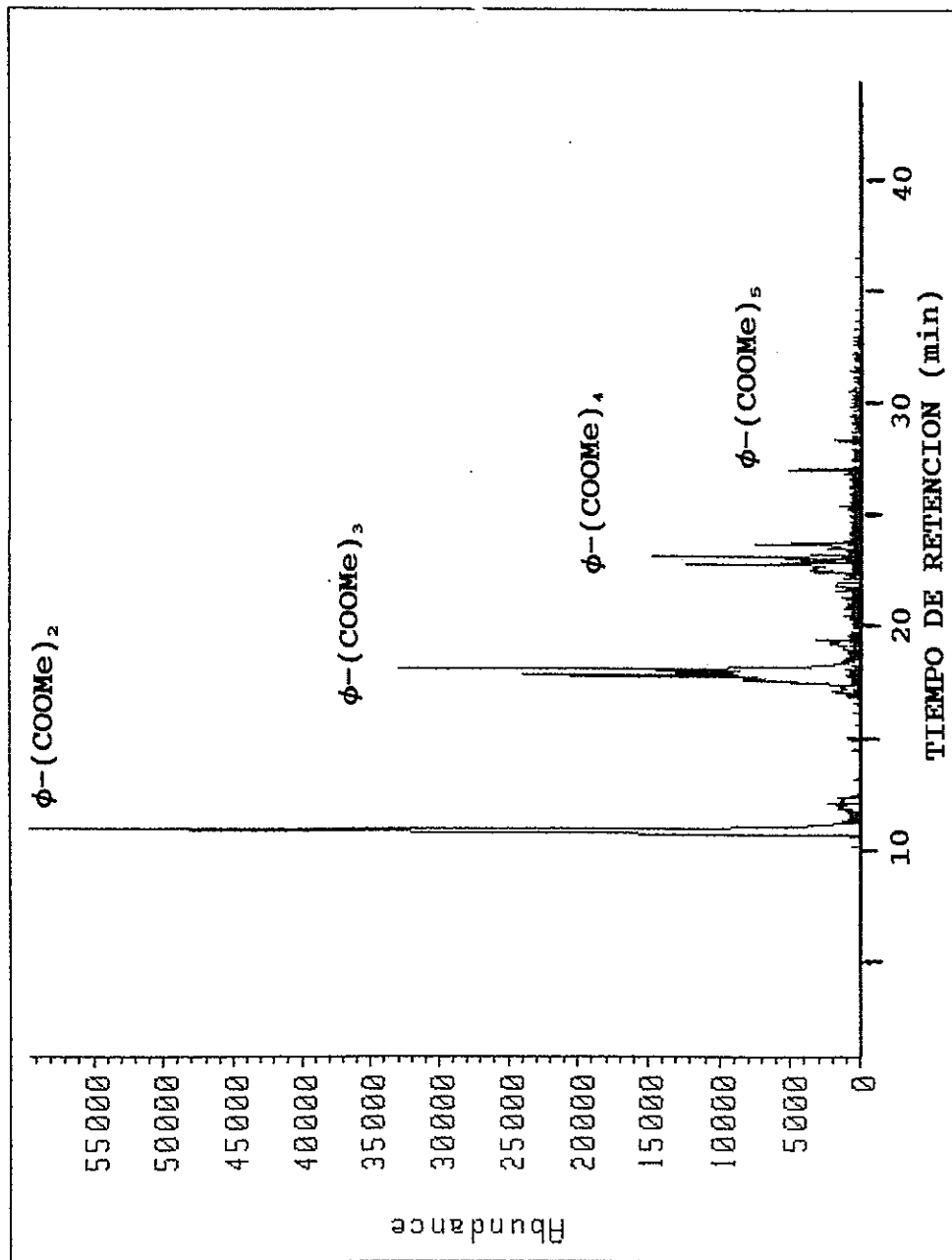


Figura IV.56.- Fragmentograma suma (m/z 163, 221, 279 y 337), correspondiente a los bencenodi-, tri-, tetra- y pentacarboxílicos presentes en los productos de degradación con tetróxido de ruténio del asfalto de la muestra PB.

la Figura IV.57. Se observa que los ácidos grasos mono- y dicarboxílicos se extienden hasta el C₇₅, con una abundancia similar a la de los hidrocarburos producidos en la pirólisis-HTGC. Este resultado parece confirmar la presencia de cadenas alifáticas de muy alto peso molecular en la estructura del asfalto, ya adelantada anteriormente.

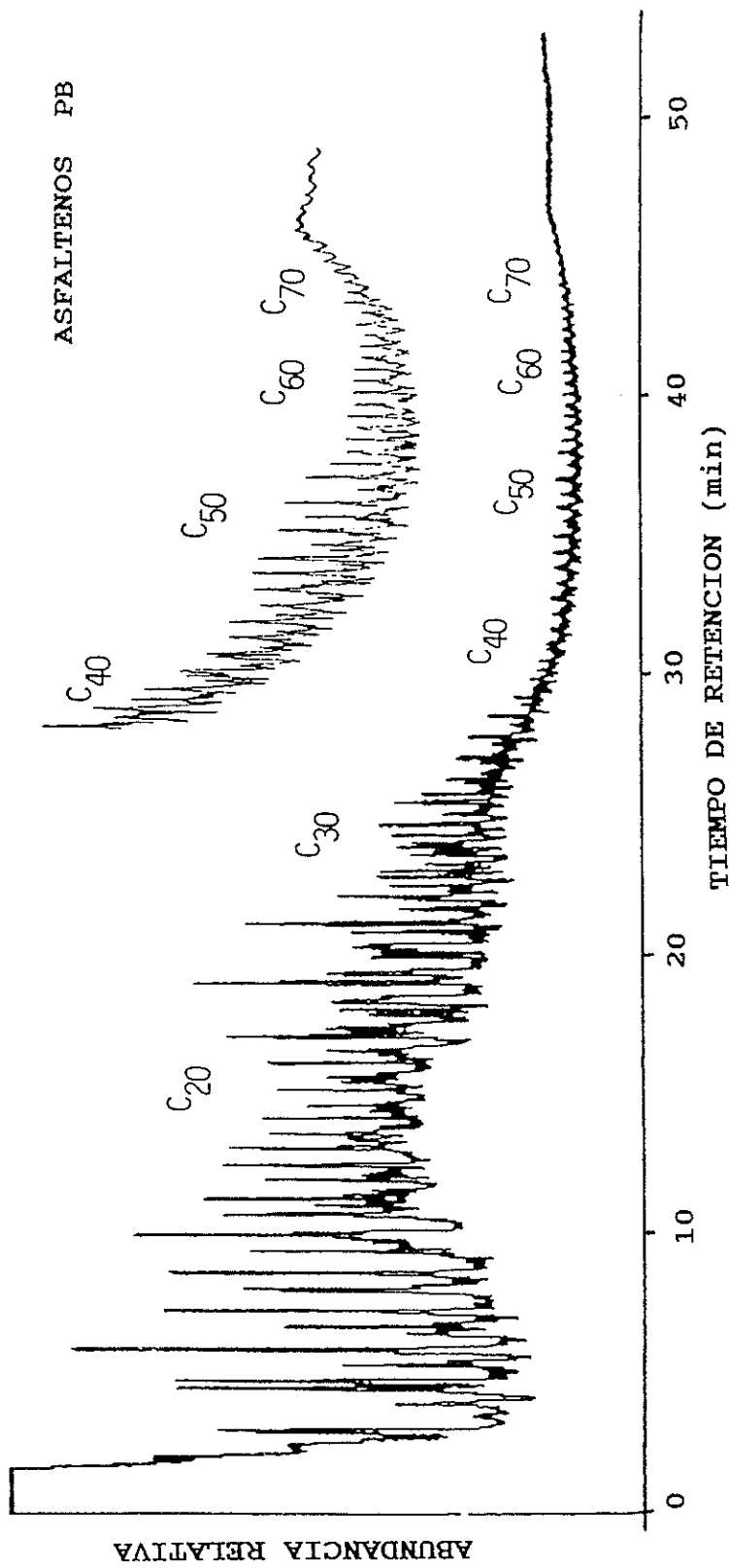


Figura IV.57.- Cromatograma de ión total (T.I.C.) de los pirolizados de alta temperatura de los productos de degradación con tetróxido de ruténio del asfalteno de la muestra PB.

V.- CONCLUSIONES

V.- CONCLUSIONES

En el presente trabajo se ha abordado la caracterización geoquímico-orgánica de cuatro muestras de pizarras bituminosas de la cuenca de Puertollano, una de ellas tomada en la Mina Calvo Sotelo y las otras tres en la Mina Emma. Del análisis de los resultados obtenidos cabe extraer las siguientes conclusiones:

1) El estudio de las muestras totales por análisis elemental y pirólisis Rock-Eval determina que contienen kerógeno tipo I, excepto la EMMA 3 que se clasifica como kerógeno tipo II, y próximas a la ventana de generación de petróleo. En todos los casos se trata de muestras muy ricas y relativamente inmaduras.

2) El estudio detallado por GC/MS de las fracciones bituminosas permitió identificar las series de compuestos que se relacionan en la Tabla V.1, con indicación de su posible origen. Aunque la fracción bituminosa representa sólo una pequeña parte de la materia orgánica total en las muestras, su estudio en profundidad ha permitido determinar la contribución de los diversos tipos de materiales que dieron lugar a la formación de las pizarras y correlacionar cambios pequeños en las distribuciones moleculares de las diversas series de compuestos identificados en cada muestra con cambios en sus respectivos grados de madurez.

3) Las distribuciones de la diversas series de biomarcadores sugieren una importante contribución de plantas terrestres superiores a la formación de estas pizarras, principalmente en PB, EMMA 1 y EMMA 2. Además se observan contribuciones específicas de coníferas y angiospermas. Una significativa contribución algal es también evidente en todas ellas, siendo más significativas en EMMA 3. La presencia de hidrocarburos triterpénicos tricíclicos, característicos de sedimentos marinos, sugiere que estas pizarras se han formado en un ambiente costero, posiblemente de estuario o delta.

4) En toda las muestras se observa la influencia de la actividad microbiana, manifestada por la identificación de diversos

tipos de compuestos entre los que destacan los triterpenos de tipo hopano. La mayor presencia en las cuatro pizarras de compuestos con estructura hopanoide respecto de compuestos con estructura esteroide indica que las aportaciones bacterianas son más significativas que las algales.

Tabla V.1.- Principales series de compuestos identificados en las pizarras de Puertollano

Series de compuestos	Origen
<i>n</i> -alcanos	Algas o bacterias (< C ₂₃), plantas superiores (> C ₂₃)
Isoprenoides	Fitol (organismos fotosintetizadores)
Compuestos sesquiterpénicos del tipo eudesmano y cadinano	Plantas superiores
Compuestos diterpénicos del tipo abietano y pimarano	Plantas superiores (coníferas)
Compuestos triterpénicos tricíclicos	Origen marino desconocido
Triterpenos del tipo oleanano y ursano	Plantas superiores (angiospermas)
Triterpenos del tipo fernano	Plantas inferiores (helechos)
Triterpenos del tipo hopano	Bacterias
Esteranos	Plancton (C ₂₇), plantas superiores (C ₂₉)

5) Diversos parámetros basados en la distribución de biomarcadores sugieren que estos sedimentos son inmaduros y que las EMMAs están más evolucionadas que la PB, confirmándose la información suministrada por la pirólisis Rock-Eval.

6) El estudio de los biomarcadores ha permitido también conocer algunos procesos biogeoquímicos de degradación que han tenido lugar durante la diagénesis.

a) En el caso de los compuestos triterpénicos provenientes de plantas superiores, se observó que la degradación del anillo A y la posterior aromatización progresiva desde el anillo B al E ha sido la ruta degradativa diagenética más importante que estos triterpenos han experimentado en las diversas pizarras estudiadas.

b) En el caso de los triterpenos provenientes de bacterias, se observó que la formación de hopanos saturados, 8,14-*seco*hopanos con el anillo D aromatzado y sesquiterpenos bicíclicos tanto saturados como aromáticos, han sido los productos diagenéticos más importantes.

7) Los resultados obtenidos en el análisis estructural por técnicas destructivas y no destructivas de los kerógenos y asfaltenos aislados de las pizarras, indican una gran similitud en las estructuras de ambos geopolímeros. Los datos de pirólisis parecen indicar una rotura preferencial de los enlaces tiofénicos presentes en la

estructura macromolecular del kerógeno, produciéndose fragmentos más pequeños que darían lugar a la formación de los asfaltenos. Estos datos están de acuerdo con la hipótesis de que los asfaltenos son fragmentos más pequeños de kerógenos (y por tanto más solubles) liberados por la rotura de enlaces heteroatómicos durante la maduración del sedimento.

8) Ambos geopolímeros presentan un alto grado de alifaticidad, que podría deberse a la contribución de unos biopolímeros insolubles, no hidrolizables y altamente alifáticos que están presentes en diversas algas y plantas superiores.

9) Diversos productos aromáticos provenientes de ligninas y taninos de plantas superiores se pudieron identificar en la pirólisis-metilación de los asfaltenos y kerógenos, lo que indica que la lignina también puede resistir la diagénesis e incorporarse a la estructura del kerógeno. Igualmente, la liberación de ácidos hopanoicos y hopanos insaturados indica que estos biomarcadores también pueden estar ligados a la estructura macromolecular mediante enlaces éster y éter.

10) El estudio comparativo de la oxidación con permanganato en medio alcalino a dos temperaturas diferentes demuestra que las estructuras aromáticas se encuentran más fuertemente unidas a la

estructura macromolecular que las estructuras alifáticas.

VI.- BIBLIOGRAFIA

VI.- BIBLIOGRAFIA

Albaigés J., Algaba J. and Grimalt J. (1985) Extractable acid bound neutral lipids in some lacustrine sediments. In *Advances in Organic Geochemistry 1983*, (Edited by P.A. Schenck, J.W de Leeuw and G.W.M. Lijmbach), Pergamon Press, Oxford. *Org. Geochem.* **6**, 223-236.

Alcántara, R., Martínez, J.F., Llamas J.F. y Cámara A. (1985) Análisis crítico de la pirólisis Rock Eval. *Actas 1^{er}. Congreso Nacional de Geoquímica*, Soria, 89-91

Alexander R., Kagi R.I., Noble R. and Volkman J.K. (1984) Identification of some bicyclic alkanes in petroleum. In *Advances in Organic Geochemistry 1983*, (Edited by P.A. Schenck, J.W. de Leeuw and G.W.M. Lijmbach), Pergamon Press, Oxford. *Org. Geochem.* **6**, 63-70.

Alexander R., Cumbers K.M. and Kagi R.I. (1986) Alkylbiphenyls in ancient sediments and petroleums. In *Advances in Organic Geochemistry 1985*, (Edited by D. Leythaeuser and J. Rullkötter), Pergamon Press, Oxford. *Org. Geochem.* **10**, 841-845.

Alexander G., Hazai I. Grimalt J.O. and Albaigés J. (1987) Ocurrence and transformation of phyllocladane in brown coals from Nograd Basin, Hungary. *Geochim. Cosmochim Acta.* **51**, 2065-2073.

Allan J. and Douglas A.G. (1977) Variations in the content and distributions of *n*-alkanes in a series of carboniferous vitrinites and sporinites of bituminous rank. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **41**, 1223-1230.

Almendros G., González-Vila F.J. and Martín F. (1989) Room temperature alkaline permanganate oxidation of representative humic acids. *Soil Biol. Biochem.* **21**, 481-486.

Alvarado y Puget (1931) Pizarras bituminosas: datos obtenidos en el sondeo número 1 de Puertollano. *Bol. Inst. Geol. Min. España.* **52**, 253-291.

Amblés A., Dupas G., Jacquesy J.C. and Vitorovic D. (1988) Chemical characterization of the kerogen from Moroccan Timahdit oil shale by analysis of oxidation products. In *Advances in Organic Geochemistry 1987*, (Edited by L. Mattavelli and L. Novelli), Pergamon Press, Oxford. *Org. Geochem.* **13**, 1031-1038.

Amblés A., Bandet N. and Jacquesy J.C. (1993) Structural study of the kerogen from Brazilian Irati Oil Shale by selective degradation. *Tetrahedron* **34**, 1783-1786.

Anderson K. and Winans R. (1991) Nature and fate of natural resins in the geosphere. 1. Evaluation of pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry for the analysis of natural resins and resinites. *Anal. Chem.* **63**, 2901-2908.

Aquino Neto F.R., Trendel J.M., Connan J. and Albrecht P. (1983) Occurrence and formation of tricyclic and tetracyclic terpanes in sediments and oils. In *Advances in Organic Geochemistry 1981*, (Edited by M. Bjoroy *et al.*), pp. 659-667. Wiley-Heydon, Chichester.

Bandurski E. (1982) Structural similarities between oil-generating kerogens and petroleum asphaltenes. *Energy Sources* **6**, 47-66.

Barackat A.D. and Yen T.F. (1990) Distribution of pentacyclic triterpenoids in Green River oil shale kerogen. *Org. Geochem.* **15**, 299-311.

Barnes M.A. and Barnes W.C. (1983) Oxidic and anoxic diagenesis of diterpenes in lacustrine sediments. In *Advances in Organic Geochemistry 1981*, (Edited by M. Bjoroy *et al.*), pp. 289-298. Wiley-Heyden, Chichester.

Behar F. and Pelet R. (1985) Pyrolysis-gas chromatography applied to organic geochemistry. Structural similarity between kerogens and asphaltenes from related extracts and oils. *J. Anal. Appl. Pyrol.* **8**, 173-187.

Behar F. and Vandenbroucke M. (1987) Chemical modelling of kerogens. *Org. Geochem.* **11**, 15-24.

Bendoraitis J.G. (1974) Hydrocarbons of biogenic origin in petroleum. Aromatic triterpenes and bicyclic sesquiterpenes. In *Advances in Organic Geochemistry 1973*, (Edited by B. Tissot and F. Biener), pp. 209-224. Technip, Paris.

Blanco C.G., Prado J.G., Guillén M.D. and Borrego A.G. (1992) Preliminary results of extraction experiments in an oil shale. *Org. Geochem.* **18**, 313-316.

Borrego A.G., Blanco C.G., Prado J.G. and Guillén M.D. (1992) Identification and determination of the different types of hydrogen and carbon atoms in the soluble organic matter of the Puertollano oil shale. *Org. Geochem.* **18**, 155-160.

Boucher R.J., Standen G. and Eglinton G. (1991) Molecular characteristic of kerogens by mild selective oxidation using Ruthenium tetroxide. *Fuel* **70**, 695-702.

Brassell S.C., Wardroper A.M.K., Thomson I., Maxwell J.R. and Eglinton G. (1981) Specific acyclic isoprenoids as biological markers of methanogenic bacteria in marine sediments. *Nature* **290**, 693-696.

Brassell S.C. (1985) Molecular changes in sediment lipids as indicators of systematic early diagenesis, *Phil. Trans. R. Soc. Lond. A.* **315**, 57-75.

Brassell S.C., Eglinton G., Marlowe I.T., Pflaumann U. and Sarnthein M. (1986) Molecular stratigraphy: a new tool for climatic assessment. *Nature* **320**, 129-133.

Cane, R.F. (1967) The constitution and synthesis of oil shale. *Proc. 7th World Petr. Congr.* **3**, 681-689.

Cardoso J., Watts C., Maxwell J.R., Goodfellow R., Eglinton G. and Gloubic S. (1978) A biogeochemical study of the Abu Dhabi algal mats: a simplified ecosystem. *Chem. Geol.* **23**, 273.

- Carlson R.M.K., Croasmun W.R., Chamberlain D.E. and Moldowan M. (1992) NMR structural studies of C₂₁ and C₂₇ monoaromatic steroid hydrocarbon biological markers. In *Biological Markers in Sediments and Petroleum*, pp. 75-105. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.
- Chaffee A.L. and Johns R.B. (1983) Polycyclic aromatic hydrocarbons in Australian coals. Angularly fused pentacyclic tri- and tetra-aromatic components of Victorian brown coal. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **47**, 2141-2155.
- Chaffee A.L., Strachan M., Johns R.B. (1984) Polycyclic aromatic hydrocarbons in Australian coals II. Novel tetracyclic components from Victorian brown coal. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **48**, 2037-2043.
- Challinor, J.M. (1989) A pyrolysis-derivatisation-gas chromatography-mass spectrometry technique for the structural elucidation of some synthetic polymers. *J. Anal. Appl. Pyrol.* **16**, 323-333.
- Challinor, J.M. (1991a) Structure determination of alkyd resins by simultaneous pyrolysis methylation. *J. Anal. Appl. Pyrol.* **18**, 233-244.
- Challinor, J.M. (1991b) The scope of pyrolysis methylation reactions. *J. Anal. Appl. Pyrol.* **20**, 15-24.
- Chappe B., Michaelis W. and Albrecht P. (1980) Molecular fossils of Archaeobacteria as selective degradation products of kerogen. In *Advances in Organic Geochemistry 1979*, (Edited by A.G. Douglas and J.R. Maxwell), pp. 265-274. Pergamon Press.
- Chappe B., Albrecht P. and Michaelis W. (1982) Polar lipids of Archaeobacteria in sediments and petroleum. *Science* **217**, 65-66.
- Connan J., Bouroulllec J., Dessort D. and Albrecht P. (1986) The microbial input in the carbonate-anhydrite facies of a sabkha paleoenvironment from Guatemala: a molecular approach. *Org. Geochem.* **10**, 29-50.

Connan J. and Dessort D. (1987) Novel family of hexacyclic hopanoid alkanes (C₃₂-C₃₅) occurring in sediments and oils from anoxic paleoenvironments. *Org. Geochem.* 11, 103-113.

Conte M.H., Eglinton G. and Madureira L.A.S. (1992) Long-chain alkenones and alkyl alkenoates as palaeotemperature indicators: their production, flux and early sedimentary diagenesis in the Eastern North Atlantic. *Org. Geochem.* 19, 287-298

Cook A.C. and Sherwood N.R. (1991) Classification of oil shale, coals and other organic-rich rocks. *Org. Geochem.* 12, 211-222

Corbet B., Albrecht P. and Ourisson G. (1980) Photochemical or photometric fossil triterpenoids in sediments and petroleum. *J. Am. Chem. Soc.* 102, 1171-1173.

Costa Neto C. (1983) Geochemistry of Brazilian oil shale. In *Geochemistry and Chemistry of Oil Shale*, (Edited by P. Miknis and J.F. McKay), pp. 13-35. American Chemical Society, Washington D.C.

Cyr T.D. and Strausz O.P. (1983) The structures of tricyclic terpenoid carboxylic acids and their parent alkanes in the Alberta oil sands. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1028-1030.

Czochanska Z., Gilbert T.D., Philp R.P., Sheppard C.M., Weston R.J., Wood T.A. and Woolhouse A.D. (1988) Geochemical application of sterane and triterpane biomarkers to a description of oils from the Taranaki Basin in New Zealand. *Org. Geochem.* 12, 123-135.

Dastillung M. and Albrecht P. (1977) Δ^2 -sterenes as diagenetic intermediates in sediments. *Nature* 269, 678-679.

Didyk B.M., Simoneit B.R.T., Brassell S.C. and Eglinton G. (1978) Organic geochemical indicators of paleoenvironmental conditions of sedimentation. *Nature* 272, 216-222.

Djuricic M.V., Vitorovic D., Andresen B.D., Hertz H.S., Murphy R.C., Preti G. and Biemann K. (1972) Acids obtained by oxidation of kerogens of ancient sediments of different geographic origin. *Advances in Organic Geochemistry 1971*, (Edited by H.R. von Gaertner and H. Wehner), pp. 305-321. Pergamon Press, Oxford.

van Dorsselaer A., Albrecht P. and Connan J. (1977) Changes in compositions of polycyclic alkane by thermal maturation (Yallourn lignite, Australia). In *Advances in Organic Geochemistry 1975*, (Edited by R. Campos and J. Goñi), pp. 53-59. ENADINSA, Madrid.

Douglas A.G. Hall P.B. and Solli H. (1983) Comparative organic geochemistry of some European oil shales. In *Geochemistry and Chemistry of Oil Shale*, (Edited by P. Miknis and J.F. McKay), pp. 59-84. American Chemical Society, Washington D.C.

Duncan, DC. (1967) Geological setting of oil shale deposits and world prospects. *Proc. 7th World Petr. Cong. 3*, 659-667.

Durand B. (1980) Elemental analysis of kerogens. In *Kerogen-Insoluble Organic Matter from Sedimentary Rocks*, (Edited by B. Durand), pp. 35-53. Editions Technip. Paris.

Durand B. and Monin J.C. (1980) Elemental analysis of kerogens. In *Kerogen. Insoluble Organic Matter from Sedimentary Rocks*, (Edited by B. Durand), pp. 113-142. Edition Technip. Paris.

Durand B. and Nicaise G. (1980) Procedures for kerogen isolation. In *Kerogen. Insoluble Organic Matter from Sedimentary Rocks*, (Edited by B. Durand), pp. 35-53. Editions Technip. Paris.

Eglinton G. and Calvin M. (1967) Chemical fossils. *Sci. Am.* **216**, 32-42

Eglinton, G. (1968) Hydrocarbons and fatty acids in living organisms in recent and ancient sediments. In *Advances in Organic Geochemistry 1968.*, (Edited by P. Schenck and I. Havenaar), pp. 1-24. Pergamon Press, London.

Eglinton T.I., Sinninghe Damsté J.S., Kohnen M.E.L., de Leeuw J.W., Larter S.R. and Patience R.L. (1990a) Analysis of maturity-related changes in the organic sulphur composition of kerogens by flash pyrolysis-gas chromatography In: *Geochemistry of Sulfur in Fossil Fuels* (ACS Symposium Series 429), (Edited by W.L. Orr and C.M. White), pp. 529-565. American Chemical Society, Washington D.C.

Eglinton T.I., Sinninghe Damsté J.S., Kohnen M.E.L. and de Leeuw J.W. (1990b) Rapid estimation of the organic sulphur content of kerogens, coals and asphaltenes by pyrolysis-gas chromatography. *Fuel* **69**, 1394-1404.

Ekweozor C.M. and Strausz O.P. (1983) Tricyclic terpanes in the Athabasca oil sands: their geochemistry. In *Advances in Organic Geochemistry 1981*, (Edited by M. Bjoroy *et al.*), pp. 746-768. Wiley-Heyden, Chichester.

Ensminger A., Albrecht P., Ourisson G. and Tissot B. (1977) Evolution of polycyclic alkanes under the effect of burial (early Toarcian shale, Paris Basin). In *Advances in Organic Geochemistry, 1975*, (Edited by R. Campos and J. Goñi), pp. 45-52. ENADINSA, Madrid.

Ensminger A., Joly G. and Albrecht P. (1978) Rearranged steranes in sediments and crude oils. *Tetrahedron*, 1575-1578.

Espitalié J., Laporte J.L., Madec M., Marquís F., Leplat P., Paulet J. and Boutefeu A. (1977) Methode rapide de caracterisation des roches mères, de leur potentiel pétrolier et de leur degré d'évolution. *Rev. Ins. Franc. du Pétrole*. **32**, 23-42

Fazeelat T., Alexander R. and Kagi R.J. (1994) Extended 8,14-secohopanes in some seep oils from Pakistan. *Org. Geochem.* **21**, 257-264.

Forey P.L. and Young V.T. (1985) Upper Stephanian fishes from the Puertollano Basin, Ciudad Real, Spain. In *Papers on the Carboniferous of the Iberian Peninsula (Sedimentology, Stratigraphy, Paleontology, Tectonics and Geochronology)*, (Edited by M.J. Lemos de Sousa and R.H. Wagner). *An. Fac. Ciênc., Porto, Suppl.* **64**, 137-169.

Fowler M.G. and Douglas A.G. (1987) Saturated hydrocarbon biomarkers in oils of Late Precambrian age from Eastern Siberia. *Org. Geochem.* **11**, 201-213.

Gallegos E.J., Fetzer J.C., Carlson R.M. and Peña M.M. (1991) High temperature GC/MS characterization of porphyrins and high molecular weight saturated hydrocarbons. *Energy and Fuels* **5**(3), 376-381.

Garg A.K. and Philp R.P. (1994) Pyrolysis chromatography of aphanthenes/kerogens from source rocks of the Goudhar Field, Cambay Basin, India. *Org. Geochem.* **21**, 383-392.

Gelins F., de Leeuw J.W., Sinnighe Damsté J.S., Derenne S., Largeau C. and Metzger P. (1994) The similarity of chemical structures of soluble aliphatic polyaldehyde and insoluble *algaenan* in the green microalga *Botryococcus braunii* race A as revealed by analytical pyrolysis. *Org. Geochem.* **21**, 423-435.

Gelpí E., Schneider H., Mann J. and Oró T. (1970) Hydrocarbons of geochemical significance in microscopic algae. *Phytochemistry.* **9**, 603-612.

Global (1981) Triterpenoid biomarkers. In *Global Geochemistry Corp.*, (Edited by I. Kaplan).

Goodwin T.W. (1976) Distribution of carotenoids. In *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments* (Edited by T.W. Goodwin), Vol 1, pp 225-261. Academic Press, London

Goossens H., de Leeuw J.W., Schenck P.A. and Brassell S.C. (1984) Tocopherols as likely precursors of pristane in ancient sediments and crude oils. *Nature (London)* **312**, 440-442.

- Goossens H., de Lange F., de Leeuw J.W. and Schenck P.A. (1988a) The pristane formation index, a molecular maturity parameter. Confirmation in samples from the Paris Basin. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **52**, 2439-2444.
- Goossens H., Due A., de Leeuw J.W., van de Graaf B. and Schenk P.A. (1988b) The pristane formation index a molecular maturity parameter. A simple method to assess maturity by pyrolysis/evaporation-gas chromatography of unextracted samples. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **52**, 1189-1193.
- Goth K., de Leeuw J.W., Püttman W. and Tegelaar E.W. (1988) Origin of Messel oil shale kerogen. *Nature* **336**, 759-761.
- Greibrokk T., Radke M., Skurdal M. and Willosch H. (1992) Multistage supercritical fluid extraction of petroleum source rocks: application to samples from Kimmeridge clay and Posidonia shale formation. *Org. Geochem.* **18**, 447-455.
- Greiner A. Ch., Spyckerelle C. and Albrecht P. (1976) Aromatic hydrocarbons from geological sources. I. Naturally occurring phenantrene and chrysene derivatives. *Tetrahedron* **32**, 257-260.
- Hartgers W.A., Sinninghe Damsté J.S. and de Leeuw J.W. (1992) Identification of C₂-C₄ alkylated benzenes in flash pyrolysates of kerogens, coals and asphaltenes. *J. Chromatogr.* **606**, 211-220.
- Hartgers W.A., Sinninghe Damsté J.S. and de Leeuw J.W. (1994) Geochemical significance of alkylbenzene distribution in flash-pyrolysis of kerogen, coal and asphaltenes. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **58**, 1759-1775.
- Hatcher P.G. and Clifford D.J. (1994) Flash pyrolysis and *in situ* methylation of humic acids from soil, *Org. Geochem.* **21**, 1081-1092.
- ten Haven H.L., de Leeuw J.W. and Schenck P.A. (1985) Organic geochemical studies of a Messinian evaporitic basin, Northern Apennines (Italy) I: Hydrocarbon biological markers for a hypersaline environment. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **49**, 2181.

ten Haven H.L., de Leeuw J.W., Rullkötter J. and Sinninghe Damsté J.J. (1987) Restricted utility of the pristane/phytane ratio as a palaeoenvironmental indicator. *Nature*. **330**, 641-643.

ten Haven H.L., de Leeuw J.W., Sinninghe Damsté J.S., Schenck P.A., Palmer S.E. and Zumberge J.E. (1988) Application of biological markers in the recognition of palaeohypersaline environments. In: *Lacustrine Petroleum Source Rocks*, (Edited by A.J. Fleet, K. Kelts and M.R. Talbot), pp. 123-130. Geological Society Special Publication, No 4.

Hayatsu R., Botto R.E., Scott R.G., McBeth R.L. and Winans R.E. (1987) Thermal catalytic transformation of pentacyclic triterpenoids: alteration of geochemical fossils during coalification. *Org. Geochem.* **11**, 245-250.

Hayes M.H. and Swift R.S. (1978) *The Chemistry of Soil Organic Constituents*, (Edited by D.J. Greenland and M.H. Hayes), John Wiley and sons, London.

Hayes J.M., Takigiku R., Ocampo R., Callot H.J. and Albrecht P. (1987) Isotopic composition and probable origins of organic molecules in the Eocene Messel shale. *Nature* **329**, 48-53.

Hoffmann C.F., Foster C.B., Powell T.G. and Summons R.E. (1987) Hydrocarbon biomarkers from Ordovician sediments and the fossil alga *Gloeocapsomorpha prisca* Zalesky 1917. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **51**, 2681-2697.

Horsfield B., Yordy K.L. and Crelling J.C. (1988) Determining the oil-generation potential of coal using organic geochemistry and organic petrology. In *Advances in Organic Geochemistry 1987*, (Edited by L. Mattavelli and L. Novelli), Pergamon, Oxford. *Org. Geochem.* **13**, 121-129.

Huang W.Y. and Meinschein W.G (1979) Sterols as ecological indicators. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **43**, 739-745.

- Hussler G., Chappe B., Wehrung P. and Albrecht P. (1981) C₂₇-C₂₉ ring A monoaromatic anthrasteroids in Cretaceous Black Shales. *Nature* **294**, 1179-1182.
- Hussler G., Connan J. and Albrecht P. (1984a) Novel families of tetra and hexacyclic aromatic hopanoids predominant in carbonate rocks and crude oils. In *Advances in Organic Geochemistry 1983*, (Edited by P.A. Schenck, J.W. de Leeuw and G.W.K. Lijmbach), Pergamon Press, Oxford. *Org. Geochem.* **6**, 39-49.
- Hussler G., Albrecht P., Ourisson G., Cesario M., Guilhem J. and Pascard C. (1984b) Benzohopanes, a novel family of hexacyclic geomarkers in sediments and petroleums. *Tetrahedron Lett.* **25**, 1179-1182.
- Jaffé R. and Gardinali P.R. (1990) Generation and maturation of carboxylic acids in ancient sediment from the Maracaibo Basin, Venezuela. *Org. Geochem.* **16**, 211-218
- Johns R.B (1986) *Biological Markers in the Sedimentary Record. Methods in Geochemistry and Geophysics*, pp. 361. Elsevier, Amsterdam.
- Kawamura K. and Ishiwatari R. (1985) Conversion of sedimentary fatty acids to extractable (unbound + bound) to tightly bound form during mild heating. *Org. Geochem.* **8**, 197-201.
- Kennedy J.A. and Brassell S.C. (1992a) Molecular records of Twentieth century El Niño events in laminated sediments from the Santa Barbara basin. *Nature* **357**, 62-64.
- Kennedy J.A. and Brassell S.C. (1992b) Molecular stratigraphy of the Santa Barbara basin: comparison with historical records of annual climatic change. *Org. Geochem.* **19**, 235-244
- Kevasan S.K., Ghosh A., Polaky M.E., Paramoswaran V. and Lee S. (1988) Supercritical extraction of Stuart oil shale. *Fuel Sci. Technol. Int.* **6**, 505-523.

- Killops S.D. and Killops V.J. (1993) *An Introduction to Organic Geochemistry*, pp. 265. Longman Scientific & Technical, Harlow.
- Klomp U.C. (1986) The chemical structure of a pronounced series of *iso*-alkanes in South Oman crudes. *Org. Geochem.* **10**, 807-814.
- Kohnen M.E.L., Peakmen T.L., Sinninghe Damsté J.S. and de Leeuw J.W. (1990a) Identification and occurrence of novel C₃₆-C₅₄ 3,4-dialkylthiophenes with an unusual carbon skeleton. *Org. Geochem.* **16**, 1103-1113.
- Kohnen M.E., Sinninghe Damsté J.S., Rijpstra W.I.C. and de Leeuw J.W. (1990b) Alkylthiophenes as sensitive indicators of Palaeoenvironmental changes: A study of a Cretaceous oil shale from Jordan. In *Geochemistry of Sulphur Fossil Fuels*, (Edited by W. Orr and C. White), ACS Symposium Series 429, pp. 444-485. American Chemical Society, Washington D.C.
- Kohnen M.E., Sinninghe Damsté J.S., Kock-van Dalen A.C. and de Leeuw J.W. (1991) Di- or polysulphide-bound biomarkers in sulphur-rich geomacromolecules as revealed by selective chemolysis. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **55**, 1375-1394.
- Kralert P.G., Alexander R. and Kagi R.I. (1991) Determination of kerogen-bound alkyl esters using pyrolytic methylation-gas chromatography. In *Organic Geochemistry. Advances and Applications in the Energy and the Natural Environment*, (Edited by D. Manning), pp. 634-636. Manchester University Press, Manchester.
- van Krevelen D.W. (1961) *Coal*, pp. 514. Elsevier, Amsterdam.
- Kruege M.A., Hbert J.F., Akes R.J. and Merinery P.E. (1990) Biological markers in Lower Jurassic syurift lacustrine black shale, Harford basin, Connecticut, USA. *Org. Geochem.* **15**, 281-289.
- Kruege M.A. and Suarez-Ruiz I. (1991) Organic geochemistry and petrography of Spanish oil shales. *Fuel* **70**, 1298-1302.

Largeau C., Casadevall E., Kadouri A. and Metzger P. (1984) Comparative study of immature torbanite and of the extant alga *Botryococcus braunii*. In *Advances in Organic Geochemistry 1983*, (Edited by P.A. Schenck, J.W. de Leeuw and G.W.M. Lumbach), Pergamon Press, Oxford. *Org. Geochem.* **6**, 327-332.

Largeau C., Derenne S., Casadevall E. and Sellier N. (1986) Pyrolysis of immature torbanite and of the resistant biopolymer (PRB A) isolated from the extant alga *Botryococcus braunii*. Mechanism for the formation and structure of torbanite. In *Advances in Organic Geochemistry 1985*, (Edited by D. Leythausser and J. Rullkötter), Pergamon Press, Oxford. *Org. Geochem.* **10**, 1023-1032.

Largeau C. and Derenne S. (1993) Relative efficiency of the selective preservation and degradation/recondensation pathways in kerogen formation. Source and environment influence on their contribution to type I and II kerogens. *Org. Geochem.* **20**, 611-615.

Larter S.R. (1984) Application of analytical pyrolysis technique to kerogens characterization and fossil fuel exploration/exploitation. In *Analytical Pyrolysis Methods and Applications*, (Edited by K.J. Voorhees), pp. 212-275. Butterworths, London.

Larter S.R. and Senftle J.T. (1985) Improved kerogen typing for petroleum source rock analysis. *Nature* **318**, 277-280.

de Leeuw J.W. and Baas M., (1986) Early-stage diagenesis of steroids. In *Biological Markers in the Sedimentary Records*, (Edited by R.B. Johns), pp. 101-123. Elsevier, Amsterdam.

de Leeuw J.W., van Bergen P.F., van Aarssen B.G.K., Gatellier J.P.L.A., Sinnighe Damsté J.S. and Collison M.T. (1991) Resistant biomacromolecules as major contributors to kerogen. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* **333**, 329-337.

de Leeuw, J.W. and Baas M. (1993) The behaviour of esters in the presence of tetramethylammonium salts at elevated temperatures; flash-pyrolysis or flash-chemolysis?. *J. Anal. Appl. Pyrol.* **26**, 175-184.

Levsen K. (1988) Mass spectrometry in environmental organic analysis. *Org. Mass Spectrometry*. **23**, 406-415.

Lipsky S.R. and Duffy M.L. (1986a) High temperature gas chromatography: the development of new aluminium clad flexible fused silica glass capillary columns coated with thermostable non polar phases. Part 1. *J. High Resol. Chrom., Chrom. Commun.* **9**, 376-382.

Lipsky S.R. and Duffy M.L. (1986b) High temperature gas chromatography: the development of new aluminium clad flexible fused silica glass capillary columns coated with thermostable non polar phases. Part 2. *J. High Resol. Chrom., Chrom. Commun.* **9**, 725-730.

Loureiro M.G.B. and Cardoso J.N. (1990) Aromatic hydrocarbons in the Paraiba Valley oil shale. *Org. Geochem.* **15**, 351-359.

Mackenzie A.S., Patience R.L., Maxwell J.R., Vandenbroucke M. and Durand B. (1980) Molecular parameters of maturation in the Toarcian shales, Paris Basin, France I. Changes in the configuration of the acyclic isoprenoid alkanes, steranes and triterpanes. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **44**, 1709-1721.

Mackenzie A.S., Hoffman C.F. and Maxwell J.R. (1981) Molecular parameters of maturation in the Toarcian shales, Paris Basin, France III. Changes in aromatic steroid hydrocarbons. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **45**, 1345-1355.

Mackenzie A.S., Brassell S.C., Eglinton G. and Maxwell J.R. (1982) Chemical fossils: The geological fate of steroids. *Science.* **217**, 491-504

Mackenzie A.S. (1984) Applications of biological markers in petroleum geochemistry. In *Advances in Petroleum Geochemistry, Vol. 1*, (Edited by J. Brooks and D. Welte), pp. 115-214. Academic Press, New York.

- Macko S.A., Crey D.J., Kicenink J.W. and Simpler K.T. (1988) Variations in geochemical character of asphaltenes from a source rocks in contac with an oil reservoir. *Org. Geochem.* **13**, 273-281
- McLafferty F.W. (1983) *Tandem Mass Spectrometry*, Wiley, New York.
- Marlowe I.T., Green J.C., Neal A.C., Brassell S.C., Eglinton G. and Course P.A. (1984) Long chain (*n*-C₃₇-C₃₉) alkenones in the *Prymnesiophyceae*. Distribution of alkenones and other lipids and their taxonomic significance. *Br. Phycol. J.* **19**, 203-216.
- Marlowe I.T., Brassell S.C., Eglinton G. and Green J.C. (1990) Long chain alkenones and alkylalkenoates and the fossil coccolith record of marine sediment. *Chem. Geol.* **88**, 349-375
- Martín F., González-Vila F.J., del Ríó J.C. and Verdejo T. (1994a) Pyrolysis derivatization of humic substances.1. Pyrolysis of fulvic acids in the presence of tetramethylammonium hydroxide. *J. Anal. Appl. Pyrol.* **28**, 71-80.
- Martín F., del Ríó J.C., González-Vila F.J. and Verdejo T. (1994b) Pyrolysis derivatization of humic substances.2. Pyrolysis of soil humic acids in the presence of tetramethylammonium hydroxide (TMAH). *J. Anal. Appl. Pyrol.*, (in press).
- Maters W.L., Meent D.V.D., Schuyl P.J.W., de Leeuw J.W., Schenck P.A. and Meuzelaar H.L.C. (1979) Curie-point pyrolysis in organic geochemistry. *Anal. Pyrol.*, 203-216.
- Maximov O.B., Shvets T.V. and Elkin Yu.N. (1977) On permanganate oxidation of humic acids. *Geoderma.* **19**, 63-78.
- van de Meent D., Brown S.C., Philp R.P. and Simoneit B.R. (1980a) Pyrolysis-high resolution gas chromatography-mass spectrometry of kerogens and kerogen precursors. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **44**, 999-1013.

Van de Meent D., de Leeuw J.W., and Schenck P.A. (1980b) Origin of unsaturated isoprenoid hydrocarbons in pyrolysates of suspended matter and surface sediments. In *Advances in Organic Geochemistry 1979*, (Edited by A.G. Douglas and J.R. Maxwell), pp. 469-474. Pergamon, Oxford.

Miknis F.P., Netzel D.A., Smith J.W., Mast M.L. and Maciel G.E. (1982) ^{13}C -NMR measurements of genetic potential of oil shale. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **46**, 977-984.

Miknis F.P. and McKay J.F. (1983) *Geochemistry and Chemistry of Oil Shale* ACS Symposium Series 230, pp. 565. American Chemical Society, Washington D.C.

Miknis F.P., Jiao Z.S., MacGowan D.B. and Surdam R.C. (1993) Solid-state NMR characterization of Owry shale from the Owidar River Basin. *Org. Geochem.* **20**, 339-347.

Moldowan J.M. and Seifert W.K. (1980) First discovery of botryococcane in petroleum. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 912-914

Moldowan J.M., Seifert W.K. and Gallegos E.J. (1983) Identification of an extended series of tricyclic terpanes in petroleum. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **47**, 1531-1534.

Moldowan J.M., Seifert W.K. and Gallegos E.J. (1985) Relationship between petroleum composition and depositional environment of petroleum source rocks. *Am. Assoc. Pet. Geol. Bull.* **65**, 1255-1268.

Moldowan J.M., Albrecht P. and Philp R.P. (1992) *Biological Markers in Sediments and Petroleum*, pp. 411. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.

Myhr M.B., Schou L., Skjetne T. and Krane J. (1990) Characterization of asphaltenes and co-precipitated material for a California crude oil. *Org. Geochem.* **16**, 931-941.

Mycke B. and Michaelis W. (1986) Molecular fossils from chemical degradation of macromolecular organic matter. In *Advances in Organic Geochemistry 1985*, (Edited by D. Leythauser and J. Rullkötter), Pergamon Press, Oxford. *Org. Geochem.* **10**, 847-858.

Mycke B., Narjes F. and Michaelis W. (1987) Bacteriohopanetetrol from chemical degradation of an oil shale kerogen. *Nature* **326**, 179-181.

Nip M., Tegelaar E.W., de Leeuw J.W., Schenk P.A. and Holloway P.J. (1986a) 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., Tegelaar E.W., Briukhuis H., de Leeuw J.W., Schenk P.A. and Holloway P.J. (1986b) 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. In *Advances in Organic Geochemistry 1985*, (Edited by D. Leythauser and J. Rullkötter), Pergamon Press, Oxford. *Org. Geochem.* **10**, 769-778.

Nip M., de Leeuw J.W., Schenck P.A., Winding W., Meuzelaar H.L.C. and Crelling J.C. (1989) A flash pyrolysis and petrographic study of cutinite from the Indiana paper coal. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **53**, 671-683.

Noble R., Alexander R., Kagi R. and Knox J. (1985) Tetracyclic diterpenoids hydrocarbons in some Australian coals sediments and crude oils. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **49**, 2141.

Orr W.L. (1986) Kerogen/asphaltene/sulphur relationships in sulphur-rich Monterey oils. *Org. Geochem.* **10**, 499-516.

Orr W.L. and White C.M. (1990) *Geochemistry of Sulfur in Fossil Fuels*, ACS Symposium Series 429, pp. 708. American Chemical Society, Washington D.C.

Orr W.L. and Sinninghe Damsté J.S. (1990) Geochemistry of sulphur in petroleum systems. In *Geochemistry of Sulphur in Fossil Fuels*, ACS Symposium Series 429, (Edited by W.L. Orr and C.M. White), pp. 2-29. American Chemical Society, Washington D.C.

Ourisson G., Albrecht P. and Rohmer M. (1979) The hopanoids. Paleochemistry of a group of natural products. *Pure Appl. Chem.* **51**, 709-729.

Ourisson G., Albrecht P. and Rohmer M. (1984) The microbial origin of fossil fuels. *Sci. Am.* **251**, 44-51.

Ourisson G., Porallak and Rohmer M. (1987) Prokaryotic hopanoids and other polyterpenoid sterol surrogates. *Ann. Rev. Microbiol.* **41**, 301-333.

Palacas J.G., Anders D.E. and King J.D. (1984) South Florida Basin- a prime example of carbonate source rocks of petroleum. In *Petroleum Geochemistry and Source Rock Potential of Carbonate Rocks*, (Edited by J.G. Palacas). *AAPG Stud. Geol.* **18**, pp. 71-96.

Patience R.L., Manm A.I. and Poplett I.J.F. (1992) Quantitative determination of molecular structure of kerogen using ¹³C NMR spectroscopy- II. The effect of thermal maturation on kerogens from marine sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **56**, 2725-2742.

Payzant J.D., Montgomery D.S. and Strausz O.P. (1986) Sulphides in petroleum. *Org. Geochem.* **10**, 499-516.

Peakman T.M. and Maxwell J.R. (1988) Early diagenetic pathways of steroid alkenes. *Org. Geochem.* **13**, 583-592.

Philp R.P., (1983) Correlation of crude oils from the San Jorge Basin, Argentina. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **47**, 267-277

Philp R.P. (1985a) *Fossil Fuel Biomarkers-Applications and Spectra*, pp. 294. Elsevier, Amsterdam.

- Philp R.P. (1985b) Biological markers in fossil fuel products, *Mass Spectrometric reviews*. 4, 1-54.
- Philp R.P. and Gilbert T.D. (1986a) Biomarker distribution in Australian oils predominantly from terrigenous source material. *Org. Geochem.* 10, 73-84.
- Philp R.P. and Gilbert T.D. (1986b) The detection and identification of biological markers by computerized gas chromatography-mass spectrometry. In *Biological Markers in the Sedimentary Record*, (Edited by R.B. Johns), pp. 227-248. Elsevier, Netherlands.
- Philp R.P. and Lewis C.A. (1987) Organic geochemistry of biomarkers. *Ann. Rev. Earth Planet. Sci.* 15, 363-395.
- Philp R.P., Bakel A., Galvez-Sinibaldi A. and Lin L.H. (1988a) A comparison of organosulphur-compounds produced by pyrolysis of asphaltenes and those present in related crude oils and tar sands. *Org. Geochem.* 15, 915-926.
- Philp R.P., Oung J. and Lewis C.A. (1988b) Biomarker determinations in crude oils using a triple stage quadrupole mass spectrometer. *J. Chromatography* 446, 3-16
- Philp R.P. and Oung J.N. (1992) Biomarkers distribution in crude oils as determined by tandem Mass Spectrometry. In *Biological Markers in Sediment and Petroleum*, (Edited by J.M. Moldowan, P. Albrecht and R.P. Philp), pp. 106-123. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.
- Prahl F.G. and Wakeman S.G. (1987) Calibration of unsaturation patterns in long chain ketone composition for palaeotemperature assessment. *Nature* 341, 367-369
- Prahl F.G., de Lange G.J., Lyle M. and Spanow M.A. (1989) Post-depositional stability of long chain alkenones under contrasting redox conditions. *Nature* 343, 434-437

Püttmann W. and Villar H.J. (1987) Occurrence and geochemical significance of 1,2,5,6-tetramethylnaphthalene. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 51 3023-3029.

Reyes García J.L. y Feixas Rodriguez, J.C. (1984) Las pizarras bituminosas: definición, composición y clasificación. *I Congreso Español de Geología.* II, 817-827.

Rieley G., Collier R.J., Jones D.M., Eglinton G., Eakin P.A. and Fallick A.E. (1991) Sources of sedimentary lipids deduced from stable carbon-isotope analyses of individual compounds. *Nature* 352, 425-427.

Rinaldi G.G.L., Leopold V.M. and Koons C.B. (1988) Presence of benzohopanes, monoaromatic secohopanes and saturated hexacyclic hydrocarbons in petroleum from carbonate environments. In *Biochemical Biomarkers*, (Edited by T.F. Yen and M. Moldowan), pp. 331-353. Harwood Academic, Chur.

del Río J.C. and Philp R.P. (1991) Occurrence of high molecular weight hydrocarbons (above C₄₀) in geological materials. In *Organic Geochemistry. Advances and Applications in Energy and the Natural Environment*, (Edited by D. Manning), pp. 183-185. Manchester University Press, Manchester.

del Río J.C., Philp R.P. and Allen J. (1992) Nature and geochemistry of high molecular hydrocarbons (above C₄₀) in oils and solid bitumens. *Org. Geochem.* 18(4), 541-553.

del Río J.C. and Philp R.P. (1992) High molecular weight hydrocarbons: a new frontier in Organic Geochemistry. *Trends Anal. Chem.* 11(5), 187-193.

del Río J.C., González-Vila F.J., Martín F. and Verdejo T. (1994) Characterization of humic acids from low-rank coals by ¹³C-NMR and pyrolysis-methylation. Formation of benzenecarboxylic acid moieties during the coalification process. *Org. Geochem.*, (in press)

Riolo J., Hussler G., Albrecht P. and Connan J. (1986) Distribution of aromatic steroids in geological samples: their evaluation as geochemical parameters. In *Advances in Organic Geochemistry 1985*, (Edited by D. Leythaeuser and J. Rullkotter), Pergamon Press. *Org. Geochem.* **10**, 981-990.

Robinson W.E. and Dineen G.V. (1967) Constitutional aspects of oil shale kerogen. *Proc. VII World Petroleum Congress*, pp. 669-680.

Robinson N., Eglinton G., Brassell S.C. and Cranwell P.A. (1984) Dinoflagellate origin for sedimentary 4-methyl steroids and 5 α (H)-stanols. *Nature* **308**, 439-441

Robinson N. and Eglinton G. (1990) Lipid chemistry of Icelandic hot spring microbial mats. *Org. Geochem.* **15**, 291-298.

Rohmer M., Bouvier-Nave P. and Ourisson G. (1984) Distribution of hopanoid triterpenes in Prokaryotes. *J. Gen. Microbiol.* **130**, 1137-1150.

Rohmer M., Bisseret P. and Neunlist S. (1992) The hopanoids, prokaryotic triterpenoids and precursors of ubiquitous molecular fossils. In *Biological Markers in Sediments and Petroleum*, (Edited by J.M. Moldowan, P. Albrecht and R.P. Philp), pp. 1-17. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.

Rowland S.J., Yon D.A., Lewis C.A. and Maxwell J.R. (1985) Occurrence of 2,6,10-trimethyl-7-(3-methylbutyl)-dodecane and related hydrocarbons in green algae *Enteromorpha prolifera* and sediments. *Org. Geochem.* **8** (3), 207.

Rubinstein I. and Strausz O.P. (1979) Geochemistry of the thiourea adduct fraction from an Alberta petroleum. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **43**, 1387-1392.

Rubinstein I., Spyckerelle C. and Strausz O.P. (1979) Pyrolysis of asphaltenes: a source of geochemical information. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **43**, 1-6.

Schmitter J.M., Sucrow W. and Arpino P.J. (1982) Occurrence of novel tetracyclic geochemical markers: 8,14-seco-hopanes in a Nigerian crude oil. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **46**, 2345-2350.

Seifert W.K., Smith G.W. and Whitehead E.V. (1978) First proof of structure of a C₂₈ pentacyclic triterpane in petroleum. *Nature* **271**, 436.

Seifert W.K. and Moldowan J.M. (1978) Application of steranes, terpanes and monoaromatics to the maturation, migration and source of crude oils. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **42**, 77-95.

Seifert W.K. and Moldowan J.M. (1981) Paleoreconstruction by biological markers. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **45**, 783-794.

Seifert W.K. and Moldowan J.M. (1986) Use of biological markers in petroleum exploration. In *Biological Markers in the Sedimentary Record*, (Edited by R.B. Johns), pp. 261-290. Elsevier, Amsterdam.

Shiea J., Brassell S.C. and Ward D.M. (1990) Mid-chain branched mono- and dimethylalkanes in hot spring cyanobacterial mats: a direct biogenic source for branched alkanes in ancient sediments?. *Org. Geochem.* **15**, 223-231.

Shirav M. and Ginzburg (1983) Geochemistry of Israeli oil shale. In *Geochemistry and Chemistry of Oil Shale*, ACS Symposium Series 230, (Edited by P. Miknis and J.F. McKay), pp. 85-96. American Chemical Society, Washington D.C.

Simoneit B.R.T. (1978) The organic chemistry of marine sediments. In *Chemical Oceanography*, 2nd Edition, (Edited by Riley and R. Chester), Vol.7, Chap.39, pp. 233-311. Academic press, New York.

Simoneit B.R.T. (1986) Cyclic terpenoids in the geosphere. In *Biological Markers in the Sedimentary Record*, (Edited by R.B. Johns), pp. 43-99. Elsevier Science Publishers, Amsterdam.

Simoneit B.R.T., Grimalt J.O., Wang T.G., Cox R.E., Hatcher P.G. and Nissenbaum A. (1986) Cyclic terpenoids of contemporary resinous plant detritus and of fossil woods, ambers and coals. In *Advances in Organic Geochemistry 1985*, Pergamon Press. *Org. Geochem.* **10**, 877-809.

Singleton M.F., Burnham A.K., Richardson J.H. and Clarkson J.E. (1983) Occurrence of biomarkers in Green River oil shale. In: *Geochemistry and Chemistry of Oil Shale*, ACS Symposium Series 230, (Edited by F.P. Miknis and J.F. McKay), pp 433-456. American Chemical Society, Washington D.C.

Sinninghe Damsté J.S., de Leeuw J.W., Kock van Dalen A.C., de Zeeuw M.A., de Lange F., Rijpstra W.I.C. and Schenck P.A. (1987) The occurrence and identification of series of organic sulphur compounds in oils and sediment extracts. I. A study of Rozel Point (USA). *Geochim. Cosmochim. Acta.* **51**, 2369-2391.

Sinninghe Damsté J.S., Rijpstra W.I.C., de Leeuw J.W. and Schenck P.A. (1989a) The occurrence and identification of series of organic sulphur compounds in oils and sediment extracts. II. Their presence in samples from hypersaline and non-hypersaline depositional environments, their possible depositional environments and their possible application as source, palaeoenvironmental and maturity indicators. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **53**, 1423-1441.

Sinninghe Damsté J.J., Rijpstra W.I.C., Kock-van Dalen A.C., de Leeuw J.W. and Schenck P.A. (1989b) Quenching of labile functionalised lipids by inorganic sulphur species: evidence for the formation of sedimentary organic sulphur compounds at the early stages of diagenesis. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **53**, 1343-1355.

Sinninghe Damsté J.S., Kohnen M.E. L. and de Leeuw J.W. (1990) Thiophenic biomarkers for palaeoenvironmental assessment and molecular stratigraphy. *Nature* **345**, 609-611.

Sinninghe Damsté J.S. and de Leeuw J.W. (1992) Organically bound sulphur in coal: A molecular approach. *Fuel Processing Technology.* **30**, 109-178.

Solli H., Larter S.R. and Douglas A.G. (1980) Analysis of kerogens by pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry using selective ion monitoring.III. Long chain alkylbenzenes. In *Advances in Organic Geochemistry 1979*, (Edited by A.G. Douglas and J.R. Maxwell), pp. 591-597. Pergamon Press.

Speight J.G. (1990) Oil shale. In: *Fuel Science and Technology Handbook* part IV, pp. 795-1053. Marcel Dekker, New York.

Spyckerelle C., Greiner A.Ch., Albrecht P. and Ourisson G. (1977) Hydrocarbons aromatiques derive de triterpenes dans un schiste bitumineuse. *J. Am. Chem. Res. (M)*, 3801-3828.

Standen G., Boucher R.J., Rafalska-Bloch J. and Eglinton G. (1991) Ruthenium tetroxide oxidation of natural organic macromolecules: Messel kerogen. *Chem. Geol.* **91**, 297-313.

Strachan M.G., Alexander R. and Kagi R.I. (1988) Trimethylnaphthalenes in crude oils and sediments: effects of source and maturity. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **52**, 1255-1264.

Strausz O.P., Mojelsky T.W. and Lown E.M. (1992) Molecular structure of asphaltene: an unfolding story. *Fuel* **71**, 1355-1363.

Summons R.E. (1987) Branched alkanes from ancient and modern sediments: isomer discrimination by GC/MS with multiple reaction monitoring. *Org. Geochem.* **4**, 281-289.

Summons R.E., Powell T.G. and Boreham C.J. (1988) Petroleum geology and geochemistry of the Middle Proterozoic McArthur Basin, Northern Australia:III. Composition of extractable hydrocarbons. *Geochim. Cosmochim. Acta* **52**, 1747-1763.

Suzuki K.I., Saito T., Kawaguchi A., Okuda S. and Komagata K. (1981) Occurrence of ω -cyclohexyl fatty acids in *Curtubacterium pusillam* strains. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **27**, 261-266.

Tegelaar E.W., de Leeuw J.W., Derenne S. and Largeau C. (1989a) A reapraisal of kerogen formation. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **53**, 3103-3106.

Tegelaar E.W., Matthezing R., Jansen J.B.H., Horsfield B. and de Leeuw J.W. (1989b) Possible origin of *n*-alkanes in high-wax crude oils. *Nature* 342, 529-531.

Thomas B.R. (1969) Kauri resin-modern and fossil. In *Organic Geochemistry, Methods and Results*, (Edited by G. Eglinton and R.C. Murphy) pp. 599-618. Springer, Berlin.

Thomson S., Cooper B.S., Morley R.J. and Barnard P.C (1985) Oil-generating coals. In *Petroleum Geochemistry in Exploration of the Norwegian Shelf*, (Edited by B.M. Thomas *et al.*), pp. 59-74. Graham and Trotman, London.

Tissot D., Espitalié J., Deroo G., Tempere C. and Jonathan D. (1974) Origin and migration of hydrocarbons in the Eastern Sahara (Algeria) In: *Advances in Organic Geochemistry 1973*, (Edited by B. Tissot and F. Bienner), pp. 315-334. Edition Technip, Paris.

Tissot B.P. and Welte D.H. (1984) *Petroleum Formation and Occurrence, 2nd edn.*, pp. 699. Springer, Heidelberg.

Treibs, A. (1934) Chlorophyll und Häminderivate in bituminösen Gesteinen, Erdölen und Erdwachsen und Asphalten. *Ann. Chem.* 510, 42-62.

Trendel J.M., Restle A., Connan J. and Albrecht P. (1982) Identification of a novel series of tetracyclic terpane hydrocarbons (C₂₄-C₂₇) in sediments and petroleums. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 304-306.

Trifilieff S. (1987) Etude de la structure des fractions polaires des pétroles (résine et asphalthènes) par dégradations chimiques selectives. *Ph. D. Thesis*, Université Louis Pasteur, Strasbourg.

Trifilief S., Sieskind O. and Albrecht P. (1992) Biological markers in petroleum asphaltene: possible mode of incorporation. In *Biological Markers in Sediments and Petroleum*, (Edited by J.M. Moldowan, P. Albrecht and R.P. Philp), pp. 350-369. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.

- Villar H.J., Püttmann W. and Wolf M. (1988) Organic geochemistry and petrography of Tertiary coals and carbonaceous shales from Argentina *Org. Geochem.* **13**, 1011-1021.
- Villar H.J. and Püttmann W., (1990) Geochemical characteristics of crude oils from the Cuyo Basin, Argentina In: *Advances in Organic Geochemistry 1989* (Edited by B. Durand and F. Behar) *Org. Geochem.* **16**, p. 511-519.
- Vitorovic D., Amblés A. and Djordjevic M. (1984) Relationship between kerogens of various structural types and the products of their multistep oxidation degradation. *Org. Geochem.* **6**, 333-372.
- Vitorovic D., Amblés A., Bajc S. and Cvetkovic O. (1988) Characterization of kerogen from Messel shale based on multistage alkaline permanganate degradation. *Fuel.* **67**, 983-993.
- Volkman J.K., Eglinton G., Corner E.D.S. and Forsberg T.E.V. (1980) Long chain alkenes and alkenones in the marine Coccolithophorid *Emiliana huxleyi*. *Phytochem.* **19**, 2619-2622
- Volkman J.K., Alexander R., Kago R.I. and Rullkötter J. (1983) GC-MS characterization of C₂₇ and C₂₈ triterpanes in sediments and petroleum. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **47**, 1033-1040.
- Wallis (1983) A lacustrine/deltaic/fluvial/swamp succession from the Stephanian B of Puertollano, Spain. In *Contribution to the Carboniferous Geology and Paleontology of the Iberian Peninsula*, (Edited by M.J. Lemos de Sousa), pp. 51-67. Univ. Porto, Fac. Ciencias, Mineral. Geol.
- Wagner R.H. (1985) Upper Stephanian stratigraphy and paleontology of the Puertollano Basin, Ciudad Real, Spain. In *Papers on the Carboniferous of the Iberian Peninsula (Sedimentology, Stratigraphy, Palaeontology, Tectonics and Geochronology)*, (Edited by M.J. Lemos de Sousa and R.H. Wagner). *An. Fac. Ciênc., Porto, Suppl.*, **64**, 171-231.
- Wakeham S.G. (1989) Reduction of sterols to stanols in particulate matter at oxic-anoxic boundaries in sea water. *Nature* **342**, 787-790.

Weston R.J., Philp R.P., Sheppard C.M. and Woolhouse A.D. (1989) Sesquiterpanes, diterpanes and other higher terpanes in oils from the Taranaki Basin of New Zealand. *Org. Geochem.* 14, 405-421.

Wilson M.A. (1987) *NMR Techniques and Applications in Geochemistry and Soil Chemistry*, pp. 353. Pergamon Press, Oxford.

Wilson M.A. and Hatcher P.G. (1988) Detection of tannins in modern and fossil barks and in plant residues by high-resolution solid-state ^{13}C nuclear magnetic resonance. *Org. Geochem.* 12, 539-546.

Yen T.F. and Chilingarian G.V. (1976) *Oil Shale. Developments in Petroleum Science*, pp. 292 Elsevier Scientific, Amsterdam.

