

# Universidad de Huelva

**Departamento de Ingeniería Minera, Mecánica y  
Energética**



**Técnicas avanzadas para la caracterización de petróleos  
pesados, productos derivados y sus fracciones :  
aplicaciones en ingeniería de yacimientos y medio  
ambiente**

**Memoria para optar al grado de doctora  
presentada por:**

**Noemi Esquinas Gómez**

Fecha de lectura: 9 de julio de 2018

Bajo la dirección de los doctores:

Gonzalo Márquez Martínez

José Luis Rodríguez Gallego

**Huelva, 2018**





Universidad  
de Huelva

Escuela Técnica Superior de Ingeniería  
Departamento: Ingeniería Minera, Mecánica y Energética

Programa de doctorado: Ciencia y Tecnología Industrial y Ambiental

**TESIS DOCTORAL**

TÉCNICAS AVANZADAS PARA LA CARACTERIZACIÓN DE PETRÓLEOS  
PESADOS, PRODUCTOS DERIVADOS Y SUS FRACCIONES: APLICACIONES  
EN INGENIERÍA DE YACIMIENTOS Y MEDIO AMBIENTE

Noemi Esquinas Gómez

Huelva, 2018



# Memoria de Tesis Doctoral

## TÉCNICAS AVANZADAS PARA LA CARACTERIZACIÓN DE PETRÓLEOS PESADOS, PRODUCTOS DERIVADOS Y SUS FRACCIONES: APLICACIONES EN INGENIERÍA DE YACIMIENTOS Y MEDIO AMBIENTE

presentada por

Noemi Esquinas Gómez

Directores:

**MARQUEZ  
MARTINEZ  
GONZALO -  
28892718A**

Firmado digitalmente por  
MARQUEZ MARTINEZ  
GONZALO - 28892718A  
Nombre de reconocimiento (DN):  
CN = MARQUEZ MARTINEZ  
GONZALO - 28892718A, SN =  
MARQUEZ MARTINEZ, G =  
GONZALO, C = ES  
Fecha: 2018.04.23 17:17:43  
+02'00'

Fdo. Dr. Gonzalo Márquez Martínez

Profesor Titular del Departamento  
Ingeniería Minera, Mecánica y  
Energética y de la Construcción  
Centro de Investigación en Química  
Sostenible-CIQSO  
Universidad de Huelva

**RODRIGUEZ  
GALLEGO  
JOSE LUIS -  
09798719Y**

Firmado digitalmente por  
RODRIGUEZ GALLEGO JOSE LUIS -  
09798719Y  
Nombre de reconocimiento (DN):  
c=ES,  
serialNumber=IDCES-09798719Y,  
givenName=JOSE LUIS,  
sn=RODRIGUEZ GALLEGO,  
cn=RODRIGUEZ GALLEGO JOSE  
LUIS - 09798719Y  
Fecha: 2018.04.23 16:18:44 +02'00'

Fdo. Dr. José Luis Rodríguez Gallego

Profesor Titular del Departamento de  
Explotación y Prospección de Minas  
Escuela Politecnica de Mieres  
Universidad de Oviedo

Trabajo presentado para aspirar al grado de  
Doctor por la Ingeniería:

Fdo. Noemi Esquinas Gómez

Ingeniero Geólogo



“The mediocre teacher tells. The good teacher explains. The superior teacher demonstrates. The great teacher inspires.”

William Arthur Ward



## **Agradecimientos**

Quiero aprovechar la oportunidad de estas líneas para agradecer a todas las personas que me inspiran.

Quiero mostrar mi más sincero agradecimiento a mis directores Gonzalo Márquez Martínez y a José Luis Rodríguez Gallego. José Luis, gracias por abrirme la puerta de tu grupo y ofrecerme la oportunidad de conocer la investigación, tener siempre una palabra amable y saber animar y motivar en el trabajo, son las claves de un buen líder. Gonzalo, agradecerte tu paciencia y confianza en mí pese a que el camino ha sido difícil.

Gracias al grupo de investigación de, Geología y geoquímica ambiental dirigido por Jesús De La Rosa y al CIQSO, por esta etapa de la Tesis. A Daniel Sánchez-Rodas por cumplir con las funciones de Tutor.

Al prof. Albert Permanyer, moltes gràcies per tot el que m'has ajudat aquests anys, recordo les primeres lliçons de biomarcadors amb molt afecte. Sempre és agradable fer-te una visita a Barcelona.

Al Prof. Juan María M. Aguado, gracias por todos y cada uno de tus consejos. Y a Gloria por los buenos ratos.

Hablando de gente que me inspira, no podría dejar de nombrar a Pedro Cerdán, quien me inculco el interés en las matemáticas en él instituto, Alfonso Yébenes, tus anécdotas del mundo petrolero me hicieron fijar mis ojos en esto.

Podría decir: "Agradezco a la unidad de ensayos medioambientales de los servicios científico-técnicos de la Universidad de Oviedo", pero a quien realmente tengo que agradecer es a sus técnicos: Azucena Lara y Beatriz Gutiérrez. Gracias por explicarme todo lo que he necesitado y enseñarme a trabajar correctamente en un laboratorio.

A la empresa Cepsa, porque gracias a el proyecto conjunto que realizamos con ellos arrancó esta tesis y a la Estrategia de Política Científica de la Universidad de Huelva 2016-2017, por permitirme continuarla.

A todos los coautores de los 4 trabajos que componen esta Tesis Doctoral, por enriquecer cada uno de los artículos.

Muy especialmente a mis padres y hermana, por su apoyo y confianza. Su orgullo siempre ha sido mi motivación.

También agradezco a mi "cuchipanda", decirles que:

"La amistad duplica las alegrías y divide las penas" Sir Francis Bacon

y quiero agradecer especialmente a María Macone, por su aportación artística. Gracias por darme ideas.

A todos mis compañeros con los que he compartido esta experiencia tanto en la Universidad de Oviedo como en la de Huelva. Especialmente a Vicky, por compartir conmigo tanto... A María y Anabel por el apoyo y ser mis amigas en Huelva. A Gloria por su alegría. ¡Y a Nora, aunque nunca me tomara en serio!

A José, por estar ahí, ser fuerte cuando yo he flaqueado y motivarme. Gracias por animarme con todo lo que hago.

## Abstract

Nowadays, fossil fuels still play a crucial role. As a result, oil companies are exploring the economic viability of non-conventional oil fields to ensure population energy needs. Heavy oils and extra heavy oils signify an important part of the oil reserves worldwide. Their exploitation implies technical problems and environmental risks, and therefore the problematic linked to the oil heavy fractions generates difficulties in hydrocarbons production.

Despite the positive trends in the reduction of oil spills, they continue to put marine ecosystems at risk, as well as terrestrial ecosystems, when there are accidents during exploration, extraction or transportation. Heavy oil fractions, in this case, generate serious difficulties in the recovery of land affected by discharges, both marine and terrestrial environments. This is due to the resistance of these fractions to weathering and biodegradation.

Heavy oils, and its heavy fractions are not easy to characterize. Difficulties are mostly related to asphaltenes, which are relatively abundant molecules in oil with a very complex analytic. In this context, it is necessary the development of analytical protocols that facilitate heavy oil characterization, and this is the main scope of this thesis.

The proposed protocol has revealed the intra reservoir "tarmats" formation mechanisms. In coastal oil spills, the protocol gave the possibility to follow the natural attenuation in the environment. It was also revealed that TD/GC-MS is a rapid forensic tool in combination with pyrolytic analysis.

Some of the specific results obtained in the applied cases developed in this work elucidated genetically different oil groups in fields affected with heavy oils in Los Llanos (Colombia) and Ceuta (Venezuela). Moreover, we have been able to identify oil mixing, as well as explaining the "tarmats" formation mechanisms. Finally, it has been possible to identify the oil-oil and oil-source rock correlations thanks to simultaneous analysis of rock, oil and "tarmats".

On the other hand, in the context of environmental studies, seasonal climate cycles were shown as the main factor controlling natural attenuation advances after an oil spill, In addition, some diagnostic ratios using saturate compounds were selected to distinguish between distinct types of weathering and aromatic ratios were also useful to obtain a qualitative approach although without distinguishing between biodegradation, volatilization and photodegradation. The sequential pyrolysis of spilled products may be use as a rapid forensic tool, since the compounds identified by GC-MS of thermally desorbed products are identified as well those in saturated and aromatic fractions. In addition, the thermal desorption residue is predominantly asphaltenic, as revealed by the thermal desorption product pyrochromatogram (very similar to the asphaltene pyrochromatogram)..



## Resumen

En un mundo donde las energías fósiles continúan hoy día jugando un papel crucial, las compañías petroleras siguen evaluando la viabilidad económica de yacimientos de petróleo crudo no convencional a fin de asegurar las necesidades energéticas de la población. En este contexto, los petróleos pesados y extrapesados constituyen una parte importante de las reservas mundiales de hidrocarburos, cuya explotación conlleva considerables problemas técnicos y riesgos medioambientales. La problemática ligada a las fracciones pesadas del petróleo crudo explica muchas de las dificultades presentadas durante la explotación de hidrocarburos.

Por otro lado, a pesar de la disminución de vertidos petroleros durante las últimas décadas, los vertidos derivados de las tareas de extracción y transporte de petróleo siguen poniendo en peligro los ecosistemas marinos y terrestres. Las fracciones pesadas del petróleo y sus derivados generan serias dificultades en la recuperación de terrenos afectados por vertidos como resultado de la dificultad que presentan estas fracciones a ser meteorizadas o biodegradadas.

La caracterización de estas fracciones polares o de crudos pesados no es una tarea sencilla, dado que el procedimiento analítico de las macromoléculas que constituyen la fracción asfáltica es muy complejo. Así, el desarrollo de protocolos analíticos para realizar la caracterización de productos enriquecidos en las fracciones polares resulta completamente necesario.

El protocolo propuesto en esta tesis ha permitido elucidar los mecanismos de formación de los "tarmats" en los yacimientos considerados. En el caso de las muestras de vertidos costeros, el protocolo ha posibilitado realizar un seguimiento de la evolución de la atenuación natural de los mismos, así como establecer que la técnica TD/GC-MS es un método de caracterización rápida de los vertidos en combinación con otras técnicas pirolíticas.

Los resultados han permitido también establecer grupos de petróleos pesados genéticamente diferentes en campos como los estudiados en Los Llanos (Colombia) y Ceuta (Venezuela). Además, se ha podido identificar los mecanismos que han dado lugar a la formación de "tarmats", así como establecer correlaciones crudo-crudo y crudo-roca madre.

Por último, se concluyó que el principal factor que controla la atenuación natural son los ciclos climáticos estacionales, viéndose la misma ralentizada al final de los periodos estivales. Además, se establecieron varios ratios diagnósticos basadas en compuestos saturados con el fin de discernir los diferentes tipos de meteorización. Los ratios basados en compuestos aromáticos, sin embargo, solo permitieron una aproximación cualitativa a la meteorización, sin distinguir entre biodegradación, volatilización y fotodegradación. La pirolisis secuencial de muestras sin fraccionar de vertidos petroleros se puede usar como herramienta de identificación rápida, puesto que se ha observado que el análisis CG-MS del producto de la desorción térmica permite identificar de manera bastante clara los mismos compuestos que se identifican empleando el análisis CG-MS de las fracciones saturada y aromática. Como consecuencia, el residuo de la desorción térmica solo contiene principalmente asfaltenos,

como demuestra que en sus pirocromatogramas se observan los mismos picos que en el caso de la pirólisis de la fracción asfáltica.

## **Abreviaturas**

**API:** American Petroleum Institute

**ARO:** Hidrocarburos aromáticos

**ASP:** Asfaltenos

**BTEX:** Benceno, Tolueno, Etilbenceno y o-, m-, p-Xilenos

**CDT:** Mineral troilita del Cañón del Diablo en Arizona

**EPA:** Agencia de Protección Medioambiental (EE.UU.)

**FTIR:** Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier

**GCxGC:** Cromatografía de Gases bidimensional

**GC:** Cromatografía de Gases

**GC-FID:** Cromatografía de gases con detector de ionización de llama

**GC-MS:** Cromatografía de Gases- Espectrometría de Masas

**CSIA:** Análisis Isotópico de Compuestos Específicos

**ICP-AES:** Espectroscopia de Emisión Atómica con Plasma de Acoplamiento Inductivo

**ICP-MS:** Espectrometría de Masas con Plasma de Acoplamiento Inductivo

**IRMS:** Espectrometría de Masas por Relación de Isotopos Estables

**ITOPF:** International Tanker Owners Pollution Federation

**HMW:** Compuestos de Alto Peso Molecular

**LC:** Cromatografía líquida

**LMW:** Compuestos de Bajo Peso Molecular

**MNA:** Monitored Natural Attenuation

**NRC:** National Research Council

**NSO:** Oxígeno, azufre, nitrógeno (referido a resinas).

**OWC:** Contacto agua petróleo

**PAC:** Compuestos Aromáticos Policíclicos

**PAHs:** Hidrocarburos aromáticos policíclicos

**PDB:** Fósil belemnita de la Formación Peedee en Carolina del Sur

**PFTBA:** Perfluorotributilamina

**PTFE:** Politetrafluoroetileno

**Py-GC-MS:** Pyrolysis Gas Chromatography- Mass Spectrometry

**RC:** Carbono residual

**RE6:** Rock-Eval 6

**RES:** Resinas

**RPI:** Research Planning, Inc

**SARA:** Saturados, Aromáticos, Resinas y Asfaltenos.

**SAT:** Hidrocarburos Saturados

**SEM:** Microscopio Electrónico de Barrido

**SIM:** Selected Ion Monitorization

**TPH:** Total Petroleum Hydrocarbons

**TD-GC-MS:** Desorción térmica acoplada a Cromatografía de Gases- Espectrometría de Masas

**TIC:** Total Ion Chromatogram

**TOC:** Carbono Orgánico Total

**UCM:** Mezcla de Compuestos sin Resolver

**US-EPA:** United States Environmental Protection Agency



# Índice general

<b>Capítulo I: Introducción</b> .....	<b>1</b>
<b>1.Importancia del estudio de petróleos pesados</b> .....	<b>3</b>
<b>2. Fundamentos de geoquímica del petróleo</b> .....	<b>4</b>
2.1. Composición del petróleo. ....	4
2.2. Catagénesis: formación del petróleo .....	6
2.3. Metagénesis .....	7
2.4. Constituyentes del bitumen .....	7
2.4.1. Hidrocarburos del petróleo .....	8
2.4.2. Componentes no hidrocarbonados .....	12
<b>3. Alteración térmica o maduración térmica</b> .....	<b>16</b>
<b>4. Procesos de alteración del crudo en reservorio</b> .....	<b>18</b>
4.1. Desasfaltación .....	18
4.2. Segregación por gravedad .....	18
4.3. Fraccionamiento evaporativo .....	19
4.4. Lavado por agua .....	19
4.5. Biodegradación .....	19
<b>5. Procesos de alteración del crudo tras un vertido</b> .....	<b>24</b>
5.1. Introducción .....	24
5.2. Extensión y advección .....	26
5.3. Volatilización .....	27
5.4. Disolución .....	28
5.5. Dispersión natural .....	29
5.6. Formación de emulsiones .....	29
5.7. Fotooxidación .....	30
5.8. Sedimentación y afección costera .....	31
5.9. Degradación biológica .....	32
<b>6. Biomarcadores</b> .....	<b>35</b>
6.1. Isoprenoides .....	36
6.2. Alcanos lineales .....	37
6.3. Triterpanos .....	38
6.4. Esteranos .....	40
6.5. Biomarcadores aromáticos .....	42
6.6. Uso de biomarcadores en seguimiento de vertidos .....	44
<b>7. Correlaciones geoquímicas</b> .....	<b>47</b>
7.1. Correlaciones crudo-crudo .....	47

7.2. Correlaciones crudo-roca madre .....	47
7.3." GC-MS fingerprinting" .....	48
<b>8. Isotopos estable del carbono .....</b>	<b>49</b>
<b>9. Objetivos .....</b>	<b>51</b>
<b>10. Bibliografía .....</b>	<b>53</b>
<b>Capítulo II: Muestras y metodología .....</b>	<b>69</b>
<b>1. Tipos de muestras a caracterizar y justificación .....</b>	<b>71</b>
1.1. Justificación .....	71
1.2. Muestras procedentes de yacimientos de petróleo crudo no convencional .....	71
1.2.1. Muestras procedentes de la Cuenca Los Llanos (Colombia). .....	71
1.2.2. Muestras procedentes de las unidades Misoa C2 y C3 del área 2-Sur del campo Ceuta de la Cuenca del Lago Maracaibo (Venezuela). .....	72
1.3. Muestras procedentes de vertidos al medioambiente .....	74
1.3.1. Muestras procedentes de un vertido originado en una instalación industrial costera. ....	74
1.3.2. Muestras procedentes de un vertido originado en una instalación industrial costera .....	74
<b>2. Protocolo para la caracterización de petróleos pesados y sus fracciones .....</b>	<b>75</b>
2.1. Técnicas principales (utilizadas en todos los casos).....	75
2.2. Técnicas complementarias.....	79
2.3. Otras técnicas adicionales.....	81
2.4. Tratamiento estadístico y control de calidad.....	82
<b>3. Bibliografía .....</b>	<b>84</b>
<b>Capítulo III: Discusión .....</b>	<b>87</b>
Artículo 1 .....	89
Artículo 2 .....	115
Artículo 3 .....	137
Capítulo libro .....	153
<b>Capítulo IV: Conclusiones .....</b>	<b>183</b>
<b>1. Eficacia del protocolo analítico .....</b>	<b>185</b>
<b>2. Conclusiones acerca de la caracterización de yacimientos .....</b>	<b>186</b>

2.1. Petr6leos procedentes de las 6reas Tiple y Caracara, Cuenca Los Llanos, Colombia .....	186
2.2. Petr6leos procedentes de los yacimientos Misoa C2 y C3 del 6rea 2 Sur (Venezuela) .....	187
<b>3. Conclusiones acerca del an6lisis de caracterizaci6n de vertidos marinos y terrestres</b> .....	187
3.1. Caracterizaci6n y evaluaci6n r6pida de un vertido costero: ratios diagn6sticas. .....	187
3.2. Estudio de vertidos marinos y terrestres: combinaci6n de varias t6cnicas anal6ticas. ....	188

## Índice de figuras

Figura I.1: Ciclo del Carbono.....	4
Figura I. 2: Proceso de diagénesis, biopolímeros transformados en geomonómeros y después en geopolímeros (se representa un ‘trozo’ de kerógeno).....	5
Figuras I.3: Composición de la materia orgánica diseminada en las rocas sedimentarias (modificada de Killops y Killops, 1993) .....	6
Figura I.4: Esquema de las etapas de producción de petróleo crudo y gas natural (Hunt, 1996) .....	7
Figura I.5: Composición de un petróleo. ....	8
Figura I.6. Componentes del petróleo según la división utilizada en el texto. La fracción destilable incluye a la mayoría de maltenos; la fracción no destilable incluye asfaltenos, resinas y la mayoría de los compuestos organometálicos. ....	9
Figuras I. 7. Representación de los alcanos lineales y diversos tipos de ramificados, junto con las estructuras de los principales isoprenoides: pristano y fitano. ....	10
Figura I.8: Algunos cicloalcanos habituales en el petróleo.....	10
Figura I.9: Moléculas de benceno, tolueno, o-xileno, m-xileno, p-xileno y etilbenceno.....	11
Figura I.10: Algunos PAHs y sus derivados alquílicos. ....	12
Figura I.11: Principales compuestos con azufre del petróleo (junto a estos, abundan sus derivados alquílicos). ....	13
Figura I.12: Principales compuestos con nitrógeno en el petróleo. En la fila de arriba aparecen los componentes no-básicos y en la de abajo los básicos. ....	13
Figura I.13: Tipos de compuestos con oxígeno en el petróleo. ....	14
Figura I.14: Estructura tipo de asfalteno propuesta en Pineda-Flores y Mesta-Howard (2001) ...	15
Figura I.15.: grado de avance del proceso de biodegradación. Modificada de Peters et al. (2005). ....	21
Figura I.16: Procesos involucrados en un vertido de hidrocarburo (ITOPF, 1987). ....	26
Figura I.17: Gráfico pristano/heptadecano vs. fitano/octadecano (modificada de Hunt, 1996) .....	38
Figura I.18: Diagrama ternario de esteranos regulares C27, C28 y C29 .....	42
Figura I.19: Gráfico dibenzotiofeno/fenantreno vs. pristano/fitano .....	44
Figura II.1: Diagrama resumen de las técnicas analíticas que configuran el protocolo analítico .....	76

## Índice de tablas

Tabla I.1: Escala de biodegradación para crudos (Peters et al., 2005) .....	21
Tabla I.2: Media estimada anual de descargas (Stout and Wang, 2006). ....	24
Tabla I.3: Ratios diagnósticos normalizados (CEN, 2012) .....	45
Tabla II.1: Tabla en detalle de las muestras de Los Llanos (Colombia).....	71
Tabla II.2: Tabla en detalle de las muestras de Ceuta (Cuenca del Lago Maracaibo).....	73
Tabla II.3: Tabla en detalle de las muestras caracterizadas en el capítulo III. B2.....	74

# **1. Introducción**



## CAPITULO I: INTRODUCCIÓN

### 1. IMPORTANCIA DEL ESTUDIO DE PETRÓLEOS PESADOS

Los petróleos pesados y extra pesados son una parte importante de las reservas mundiales de hidrocarburos cuya explotación presenta considerables problemas de carácter técnico y riesgos medioambientales (Speight, 2013). La problemática ligada a las fracciones pesadas del petróleo y de sus derivados es universal, y genera dificultades muy comunes en el tratamiento de residuos o en la recuperación de terrenos afectados por vertidos terrestres o marinos (Lewan et al., 2014), así como en la prospección y explotación de acumulaciones de hidrocarburos tanto convencionales como no convencionales (Carpentier et al., 2007).

La caracterización de estas fracciones pesadas o, directamente, de crudos pesados no es una tarea sencilla, puesto que las macromoléculas denominadas “asfaltenos”, cuya analítica es muy compleja, son constituyentes fundamentales de estos productos.

En los últimos años han surgido nuevas posibilidades que permiten un estudio más detallado de estos compuestos con el fin último de facilitar mejoras en los aspectos ambientales antes reseñados y, también, en la ingeniería de explotación de yacimientos. Así, para las fracciones pesadas destacan las técnicas pirolíticas asociadas a la espectrometría de masas, que permiten caracterizar crudos y residuos muy pesados o incluso rocas madre a partir de la identificación y cuantificación de biomarcadores o fósiles moleculares (Wilhelms y Larter, 1994). Las técnicas isotópicas facilitan de forma complementaria la correlación de fracciones diferentes y la identificación de orígenes geológicos (Gallimov, 2006), cuestión trascendental en la explotación de campos petrolíferos de gran tamaño (Maslen et al., 2011), y también son útiles para determinar la procedencia en caso de vertidos. Asimismo, las técnicas de resonancia magnética (Thieres et al., 2014) han surgido muy recientemente como las primeras capaces de realizar análisis cuantitativos de los asfaltenos y otras fracciones pesadas, objetivo inalcanzable hasta tiempos recientes. Finalmente, la cuantificación de metales traza en las fracciones pesadas a estudio es también una herramienta de gran importancia (ref). Todos estos procedimientos se pueden aplicar para monitorizar las tecnologías de recuperación ambiental (biológicas o fisicoquímicas) habituales tras los vertidos accidentales, bien en medio marino o terrestre, así como para evaluar el uso de técnicas para la extracción mejorada de petróleo (EOR) en la explotación de crudos pesados.

Como ya se ha expuesto, la investigación propuesta trata de la caracterización de fracciones pesadas de crudos. Se pretende generar un protocolo de actuación que permita caracterizar geoquímicamente los petróleos pesados y sus derivados, de manera que se eluciden los procesos que han tenido lugar en el reservorio durante la formación de estos petróleos o su evolución en el caso de los vertidos. Estos análisis, además, nos darán información sobre el origen y la historia de formación de crudos pesados y extra pesados, lo que resulta muy valioso para la explicación del problema.

## 2. FUNDAMENTOS DE GEOQUÍMICA DEL PETRÓLEO

### 2.1. Composición del petróleo.

La materia orgánica proveniente de los seres vivos se recicla en el denominado “Ciclo del Carbono”. El petróleo es un combustible fósil que puede integrarse en el citado ciclo. Antes de estudiar su composición y variantes, es conveniente situar su origen y explicar el papel que juega en un marco más global puesto que esto explicará fenómenos estudiados en la parte experimental de esta Tesis.

El ciclo global del Carbono (Figura I.1) comprende dos subciclos (Killops y Killops, 1993): El mayor (subciclo geoquímico) incluye a las rocas sedimentarias y supone millones de años de acumulación y transformación de la materia orgánica fósil. El más pequeño (subciclo biogeoquímico) implica el reciclaje biológico y tiempos de transformación de cientos de años. Entre los dos subciclos existe un flujo constante con una doble dirección. Del ciclo biogeoquímico al geoquímico se pasa con la incorporación de los materiales orgánicos a las rocas sedimentarias y, si existe equilibrio, hay un flujo igual en la dirección opuesta en función de la erosión y formación de suelos (Smil, 2000). Los desequilibrios actuales, que están potencialmente relacionados con el cambio climático, se deben al excesivo consumo de combustibles fósiles.

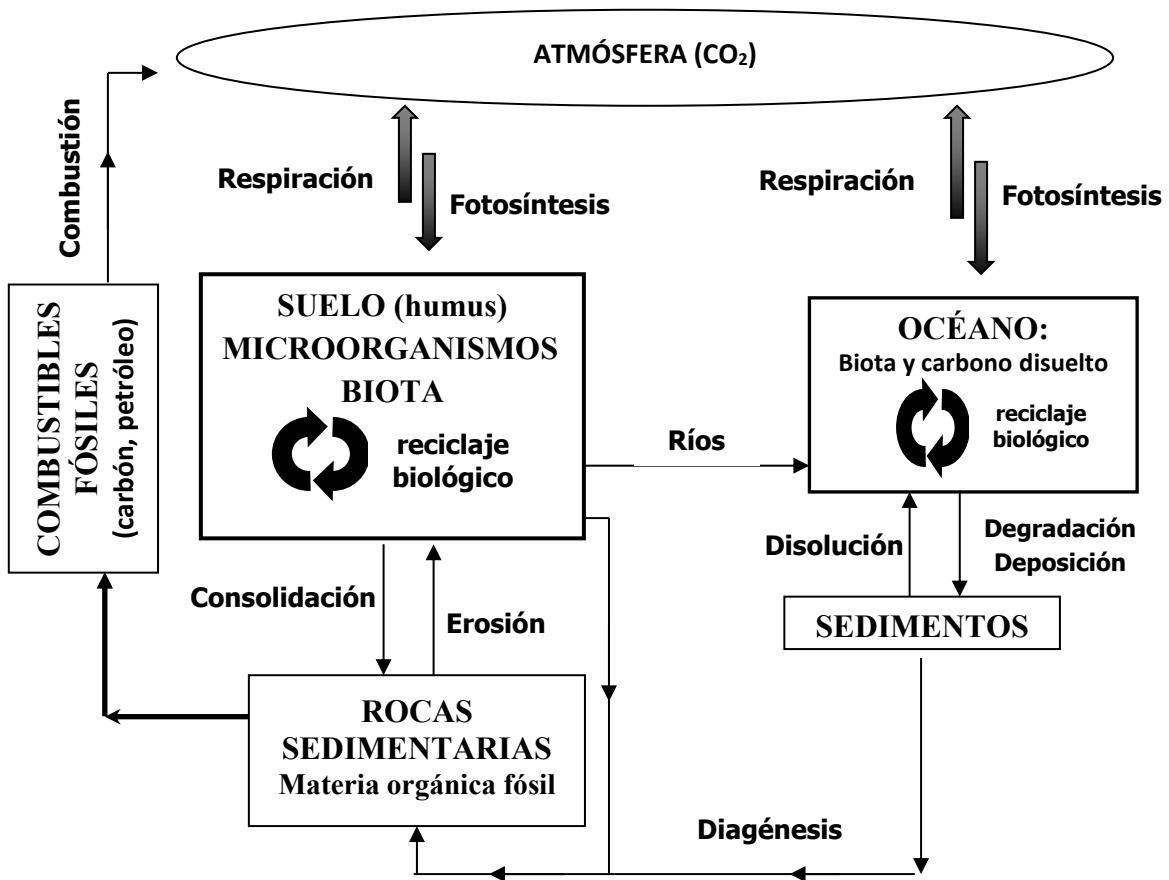


Figura I.1: Ciclo del Carbono.

Por otra parte, dado que el objetivo de la tesis es la caracterización geoquímica de productos petrolíferos, es necesario detenerse un momento para explicar su composición, consecuencia evidente de su origen. Así, la materia orgánica fósil puede clasificarse, según su procedencia, en tres tipos: tipo I (lacustre), tipo II (marino) y tipo III (terrestre). Desde el momento en que la materia orgánica de tipo I ó II se deposita en un medio subacuático comienza a sufrir una serie de transformaciones que pueden agruparse en tres fases: diagénesis, catagénesis y metagénesis (Killops y Killops, 1993; Cheirici, 1994).

El proceso comienza cuando en cuencas sedimentarias marinas o bien en cuencas lacustres profundas la materia orgánica es enterrada y empieza a sufrir una transformación (Engel y Macko, 1993).

La diagénesis comprende una serie de procesos físicos, químicos y biológicos que sufre la materia orgánica desde su enterramiento hasta que se transforma en querógeno y, a posteriori, comienza la generación de petróleo. El punto de inicio de estas reacciones son los cuatro tipos de biopolímeros principales: carbohidratos, proteínas, ligninas y lípidos.

En los primeros estados de la diagénesis estos biopolímeros son fragmentados en estructuras más simples llamadas “geomonómeros”, los cuales, posteriormente, se transforman en geopolímeros. Durante estos procesos la materia orgánica pierde casi todo el Nitrógeno, mucho oxígeno y azufre, y algo de hidrógeno y carbono (Figura I.2).

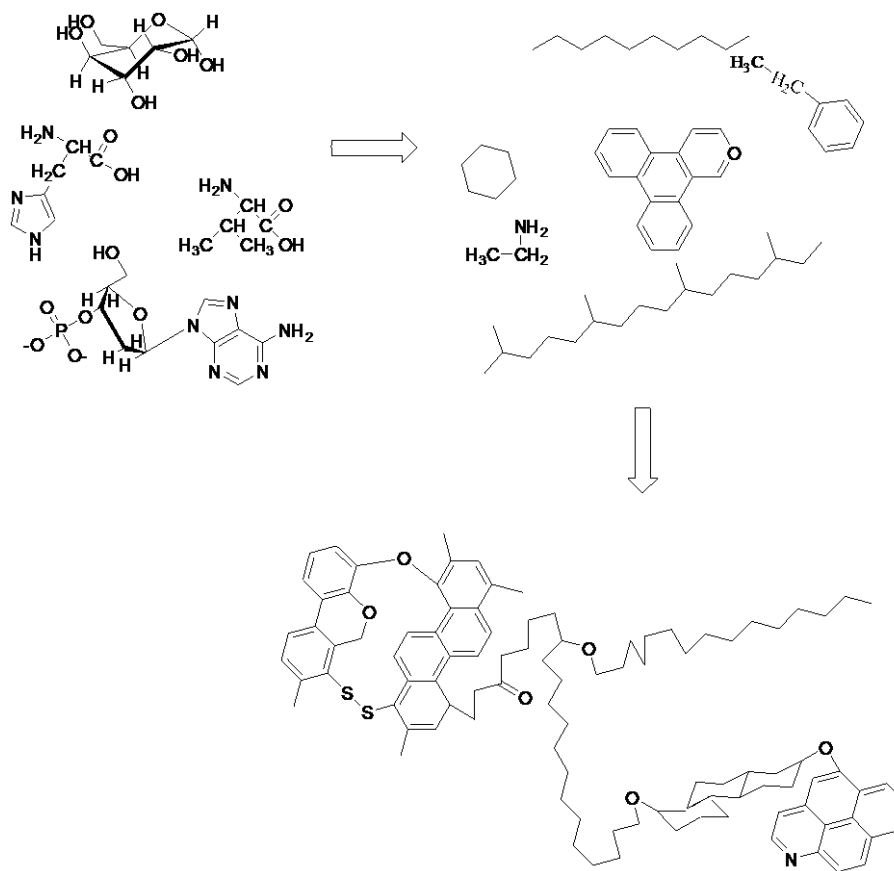
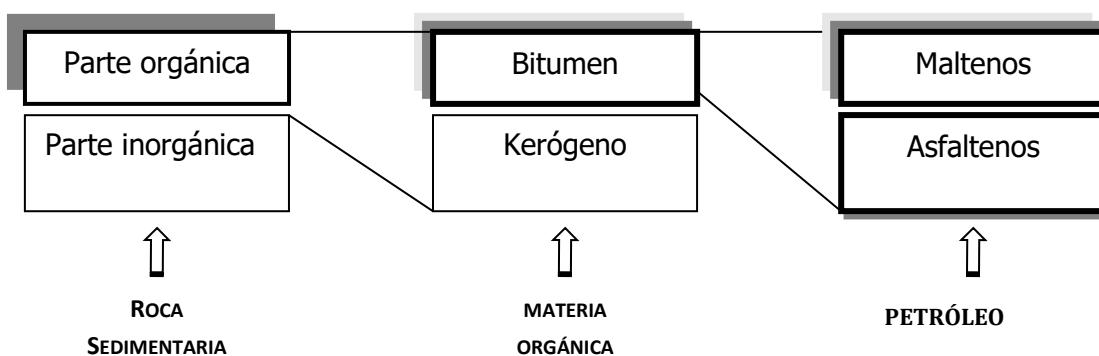


Figura I. 2: Proceso de diagénesis, biopolímeros transformados en geomonómeros y después en geopolímeros (se representa un ‘trozo’ de kerógeno).

Estos procesos tienen lugar, en un principio, por la acción de bacterias y procesos químicos abióticos, así como por craqueo térmico posteriormente. En general, la transición hacia los geopolímeros es muy rápida (cientos a miles de años) en comparación con la escala del tiempo geológico. El producto final de la diagénesis es el citado querógeno (constituyente orgánico insoluble en disolventes orgánicos, alcalinos acuosos y ácidos no oxiácidos debido a su elevado peso molecular). Sin embargo, también existe una pequeña parte soluble ("bitumen"), así como una cierta cantidad de hidrocarburos gaseosos.

Curiosamente, el bitumen va a tener una composición muy parecida a la del petróleo que en fases posteriores se formará a partir del querógeno. En general, el bitumen puede dividirse en dos grupos de compuestos: asfaltenos y maltenos (Figura I.3). Los maltenos, a su vez, pueden subdividirse en saturados, aromáticos y resinas, aunque hay cierto solapamiento en las definiciones clásicas de estos grupos.



Figuras I.3: *Composición de la materia orgánica diseminada en las rocas sedimentarias (modificada de Killops y Killops, 1993)*

## 2.2. Catagénesis: formación del petróleo.

A medida que el querógeno se calienta y comprime se pasa a la segunda fase de su evolución, la catagénesis, que es el estado en el que se genera crudo y gas. En este proceso la materia orgánica (querógeno) se altera por la temperatura y la presión crecientes durante un periodo de tiempo que puede durar millones de años (Figura I.4).

El petróleo crudo, al igual que el bitumen asociado a cualquier roca madre, contiene hidrocarburos (alifáticos y aromáticos), resinas y asfaltenos. En particular, el petróleo crudo es un tipo de bitumen que proviene de la catagénesis del querógeno y que se ha movilizado (migración) hasta la denominada roca almacén, donde se acumula.

Desde el punto de vista de su relación interatómica, por cada 1000 átomos de carbono el petróleo consta de aproximadamente 1600 a 2200 de hidrógeno, hasta 25 de azufre, 40 de oxígeno y 15 de nitrógeno; en todo caso, las relaciones son mucho más favorables al carbono que las existentes en los biopolímeros originales (Killops y Killops, 1993), lo que aportará al crudo su excelente potencial como combustible. En cuanto a su composición elemental (Speight, 2001), se presenta en los siguientes márgenes: 83,0 a 87,0 % de carbono; 10,00 a 14,0 % de hidrógeno; 0,1 a 2,0% de nitrógeno, 0,05 a 1,5% de oxígeno y 0,05 a 6,0% de azufre.

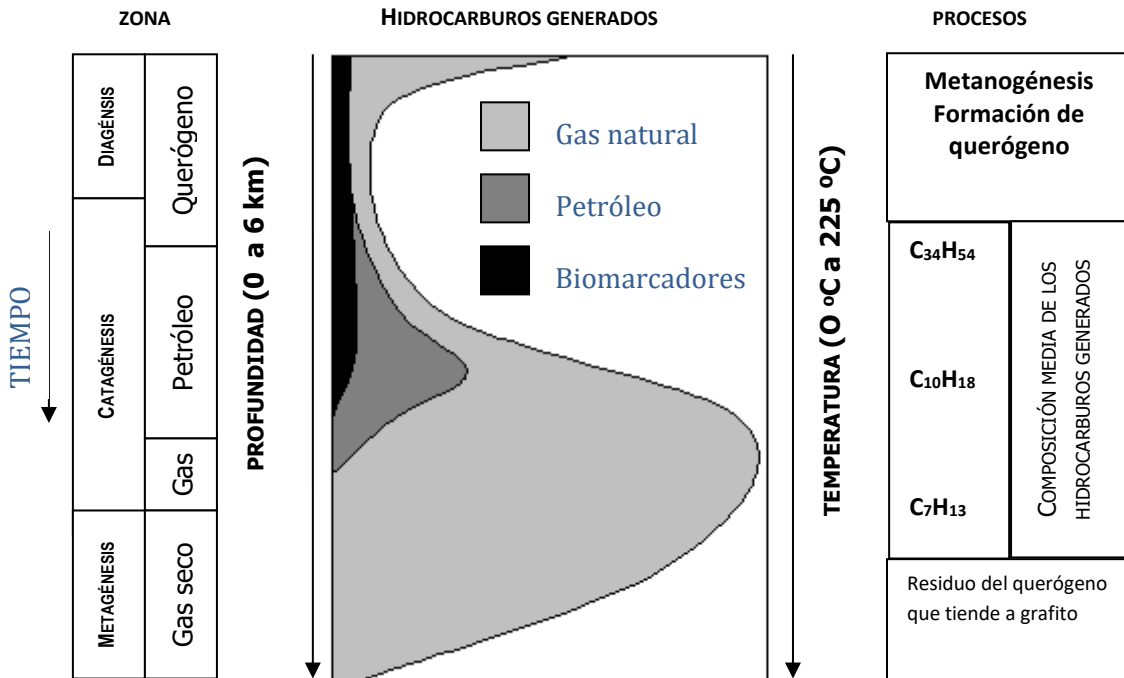


Figura I.4: Esquema de las etapas de producción de petróleo crudo y gas natural (Hunt, 1996)

La agrupación de estos átomos supone una gran variedad de compuestos químicos. En una aproximación sencilla cabe basarse en las clasificaciones en familias que mediante las técnicas habituales (destilación, espectroscopia, cromatografía) se han realizado en estudios previos sobre geoquímica del petróleo (Killops y Killops, 1993; Engel y Macko, 1993; Speight, 2001).

### 2.3. Metagénesis.

El rango de temperaturas en este proceso alcanza a los 200°C. Para entonces, el querógeno residual se ha aromatizado y ordenado en capas bajo el efecto de la presión, mostrando una clara evolución hacia grafito. No obstante, se sigue generando mucho metano (gas seco) por alteración (craqueo) del crudo previamente originado y del bitumen residual.

### 2.4. Constituyentes del bitumen

Se conoce con el término genérico de “bitumen” a aquel constituyente orgánico de las rocas sedimentarias, producto de las transformaciones que sufre la materia orgánica durante la litogénesis, compuesto principalmente por los elementos carbono e hidrógeno y que es soluble en disulfuro de carbono y otros solventes orgánicos. El petróleo es una forma de bitumen, constituida principalmente por hidrocarburos (Hunt, 1996).

Químicamente, el bitumen está definido como una mezcla de hidrocarburos y compuestos orgánicos heteroatómicos, que contienen azufre, oxígeno, nitrógeno y trazas de

metales, principalmente vanadio y níquel (Hunt, 1996). El bitumen se compone de cuatro familias o grupos de compuestos químicos (hidrocarburos saturados, aromáticos, resinas y asfaltenos, conocidos por el acrónimo SARA; Figura I.5). que se diferencian entre sí en función de su solubilidad en distintos solventes orgánicos.

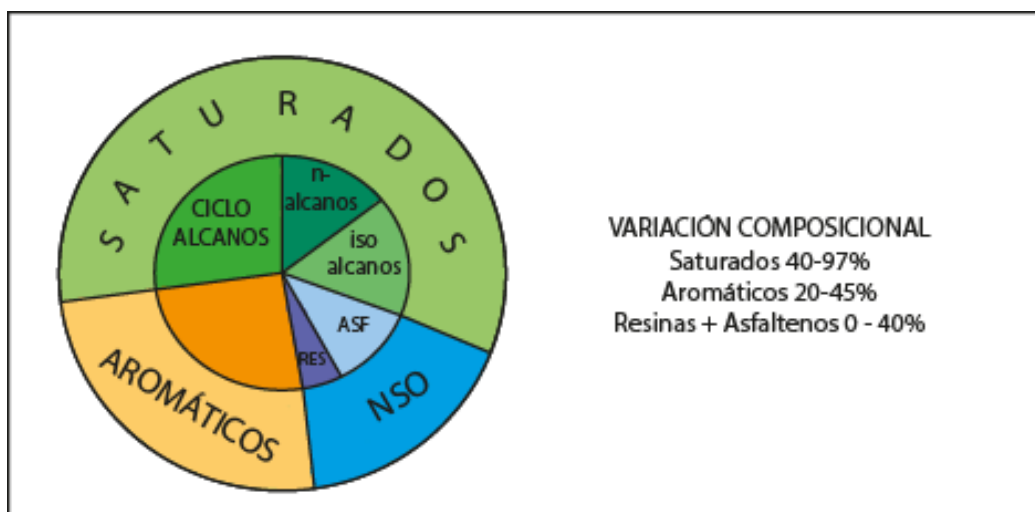


Figura I.5: Composición de un petróleo.

#### 2.4.1. Hidrocarburos del petróleo.

Entre los petróleos crudos (compuestos mayoritariamente de carbono e hidrógeno), la composición media aproximada incluye un 65% de hidrocarburos alifáticos (33% de alcanos lineales y ramificados más un 32% de cicloalcanos) y un 35% de aromáticos; aunque esta distribución, formada durante la catagénesis, depende de la composición del querógeno original. Los grupos más importantes se detallan a continuación (Kostecky y Calabrese, 1991; Killops y Killops, 1993; Primo Yufera, 1996; Riser-Roberts, 1998; Eweis *et al.*, 1999).

##### 2.4.1.1. Hidrocarburos alifáticos

También son conocidos como hidrocarburos saturados o parafinas y se dividen en alcanos (lineales o ramificados) y cicloalcanos (también conocidos como naftenos o hidrocarburos nafténicos). Son componentes no polares.

- *Alcanos*. Los alcanos son hidrocarburos saturados, es decir, contienen solamente carbono e hidrógeno y los enlaces carbono-carbono son sencillos (Figuras I.6 y I.7).

Los alcanos lineales son predominantes en el petróleo e incluyen compuestos de hasta unos setenta átomos de carbono o incluso más, aunque los más abundantes son más ligeros (Killops y Killops, 1993). Por debajo de seis átomos de carbono (metano, etano, propano, butano y pentano) son gaseosos en condiciones normales; los que se encuentran entre seis y quince átomos de carbono son líquidos; y los mayores de quince átomos de carbono son sólidos o líquidos bastante viscosos.

Los alcanos ramificados más habituales son los iso-alcanos (2-metilalcanos) y, algo menos, los anteiso-alcanos (3-metilalcanos).

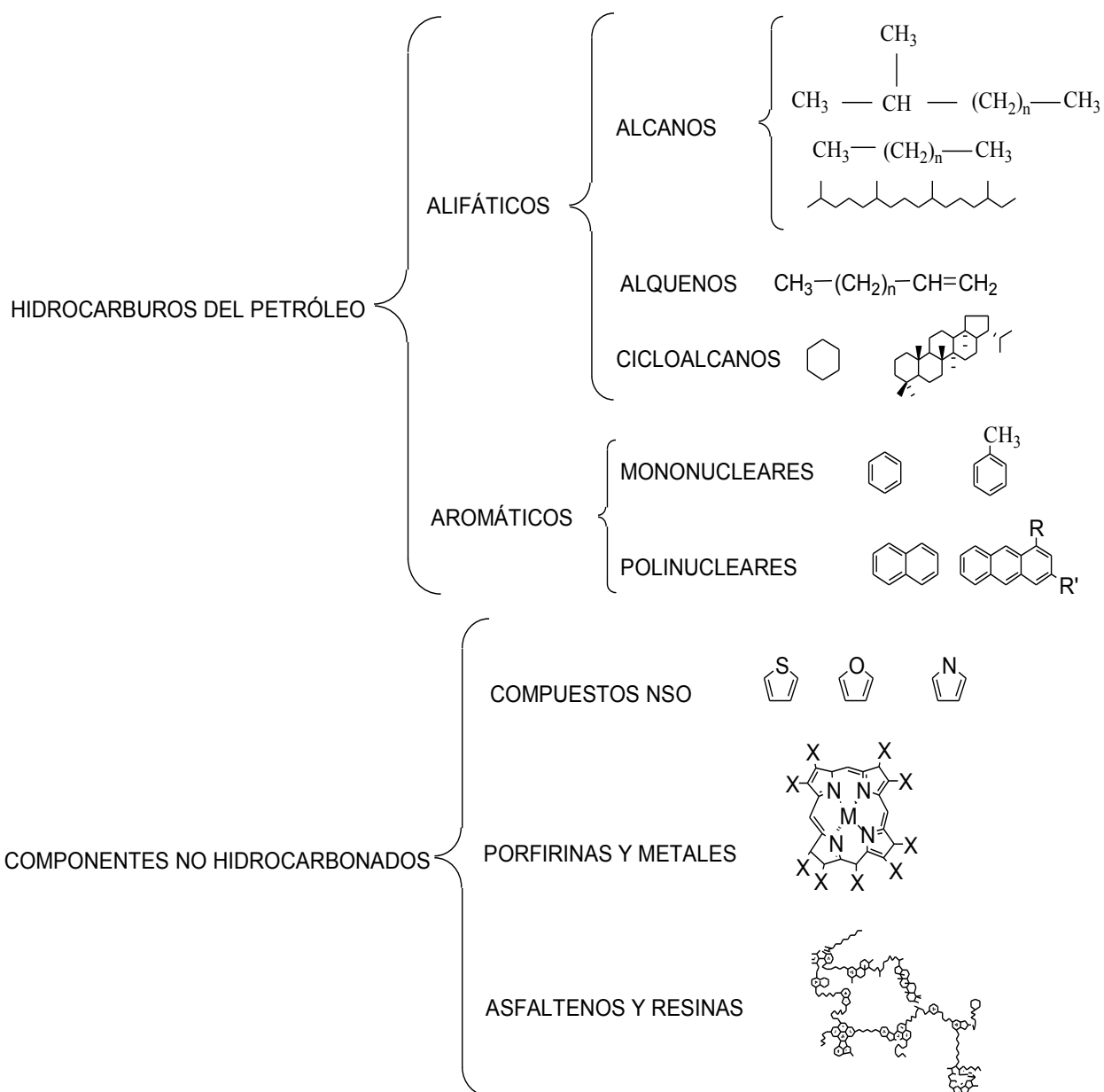
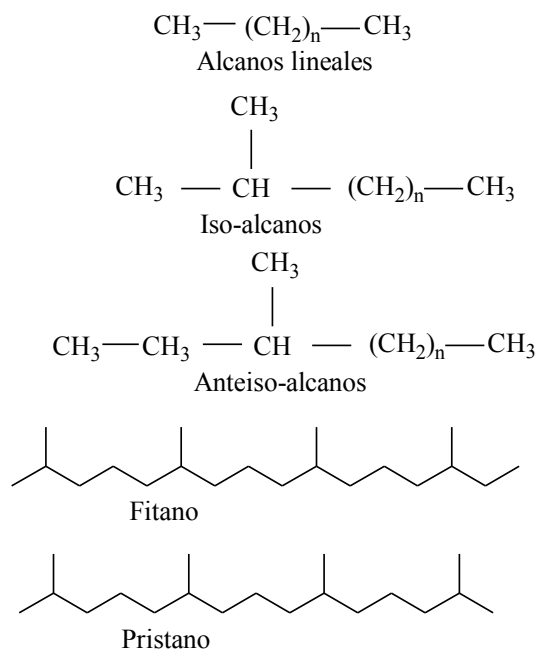


Figura I.6. Componentes del petróleo según la división utilizada en el texto. La fracción destilable incluye a la mayoría de maltenos; la fracción no destilable incluye asfaltenos, resinas y la mayoría de los compuestos organometálicos.

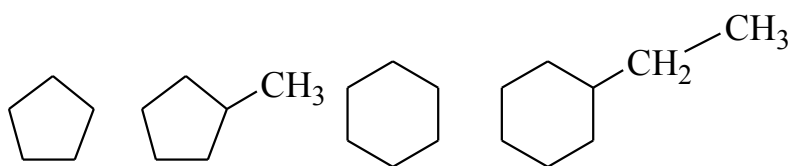
Los isoprenoides son alcanos ramificados muy importantes a los que se hará referencia en los próximos capítulos, particularmente al pristano o 2,6,10,14-tetrametilpentadecano y al fitano o 2,6,10,14-tetrametilhexadecano (Figura I.7).

- *Alquenos*. Los alquenos son productos no saturados que poseen uno o más dobles enlaces. Su presencia en el petróleo es muy minoritaria, y apenas se les prestará atención de aquí en adelante.



Figuras I. 7. Representación de los alcanos lineales y diversos tipos de ramificados, junto con las estructuras de los principales isoprenoides: pristano y fitano.

- *Cicloalcanos*. Los más abundantes incluyen las series de ciclopentanos y ciclohexanos con cadenas alquílicas de un número de átomos de carbono similar al de los principales alcanos lineales (Figura I.8). En general son líquidos, pero a medida que aumenta la longitud de la cadena alquílica se pueden convertir en sólidos. También se encuentran cicloalcanos con más de un anillo, por ejemplo, los alquilperhidronaftalenos, pero su abundancia decrece a medida que crece el número de anillos, siendo escasos o permaneciendo ausentes los perhidroantracenos y perhidrofenantrenos. Estos compuestos poseen la misma estructura que los hidrocarburos aromáticos, pero carecen de enlaces dobles y, por tanto, de anillos bencénicos.



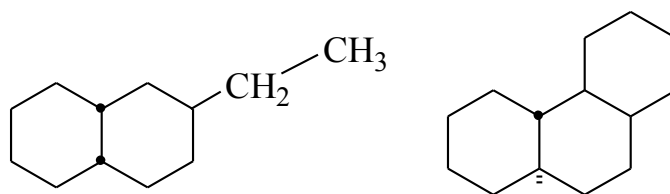


Figura I.8: Algunos cicloalcanos habituales en el petróleo.

#### 2.4.1.2. Hidrocarburos aromáticos.

Los compuestos aromáticos tienen estructuras basadas en la molécula de benceno, lo que les confiere una débil polaridad. Se encuentran en el petróleo, incluyendo compuestos de uno a cinco anillos y aromáticos alquil-sustituidos.

- *Compuestos monoaromáticos.* El compuesto aromático más simple es el benceno. Benceno, tolueno, etilbenceno y los tres isómeros del xileno son conocidos colectivamente como BTEX (Figura I.9), y están entre los hidrocarburos más hidrosolubles. Por ello, son los componentes geoquímicamente más móviles de la gasolina convencional, con lo que su presencia en vertidos y afecciones de suelos y aguas es habitual.

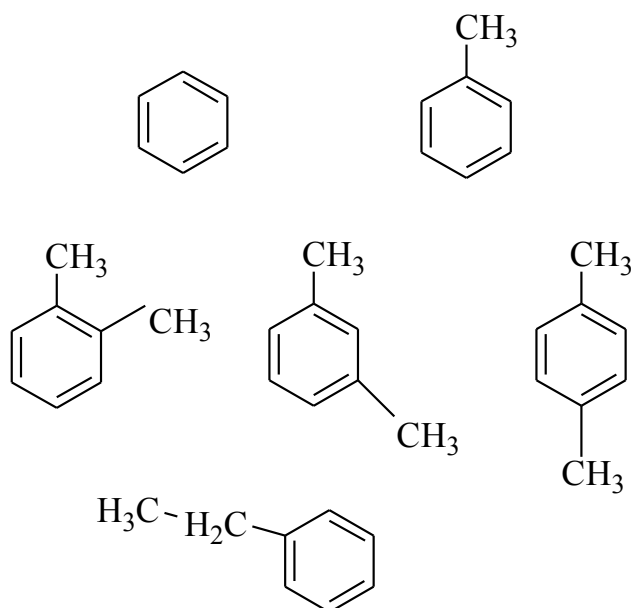


Figura I.9: Moléculas de benceno, tolueno, o-xileno, m-xileno, p-xileno y etilbenceno.

La longitud de las cadenas sigue la norma ya comentada de los alcanos lineales. Asimismo, los de cadena más corta son líquidos y el resto sólidos.

- *Compuestos poliaromáticos.*

Entre ellos cabe destacar la presencia de los PAHs (hidrocarburos aromáticos policíclicos), que representan uno de los principales problemas medioambientales de nuestro tiempo. No son particularmente abundantes en el petróleo, al menos en la forma en que se presentan en la literatura, ya que básicamente aparecen con cadenas lineales unidas en algún punto del anillo (Figura I.10). De esta forma no hay cantidades grandes de naftaleno en el petróleo, pero sí de alquilnaftalenos. Lo mismo ocurre con los derivados del fenantreno y del antraceno. Cabe señalar que, así como en el caso del benceno los sustituyentes alquílicos suelen ser cadenas largas, para los PAHs lo habitual es que se trate de grupos metilo o etilo. La presencia en el petróleo de PAHs con mayor peso molecular que los citados es casi testimonial. En cualquier caso, todos ellos son sólidos en condiciones normales y poseen muy baja solubilidad en agua (salvo el naftaleno).

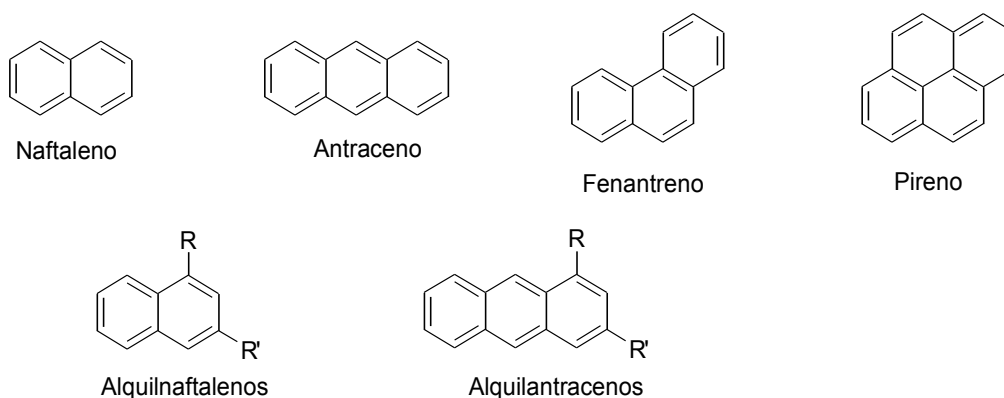


Figura I.10: *Algunos PAHs y sus derivados alquílicos.*

## 2.4.2. Componentes no hidrocarbonados.

La presencia en el petróleo de compuestos no hidrocarbonados incrementa la complejidad de la mezcla, ya de por sí difícil de abordar si sólo se consideran los hidrocarburos. En concreto, el crudo contiene cantidades apreciables de compuestos orgánicos de nitrógeno, azufre y oxígeno (NSO) y, asimismo, de compuestos organometálicos (destacan las porfirinas), metales y sales inorgánicas (Speight, 2001). Por otra parte, en la fracción no destilable del petróleo (asfaltenos y resinas) se encuentran la mayor parte de los componentes heterocíclicos (con N, S y O), motivo por el que se puede considerar a esta fracción parte del conjunto de compuestos no hidrocarbonados (Figura I.6).

### 2.4.2.1. Compuestos de azufre.

Una cantidad significativa de azufre (aprox. un 2% en peso) puede estar presente en compuestos de peso molecular medio, pertenecientes a la fracción aromática de los hidrocarburos, y que se denominan tiofenos; derivando estos de compuestos presentes en querógenos ricos en azufre. En cualquier caso, los compuestos que contienen azufre tales como los benzotiofenos, dibenzotiofenos, naftobenzotiofenos y sus derivados alquílicos son más abundantes que los compuestos de nitrógeno y oxígeno (Figura I.11).

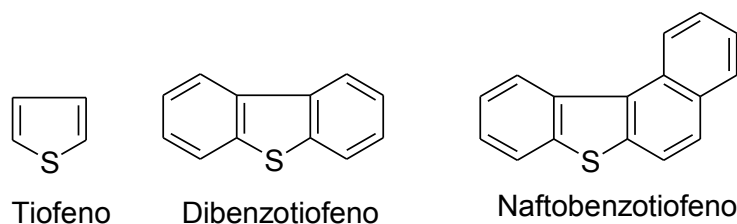


Figura I.11: Principales compuestos con azufre del petróleo (junto a estos, abundan sus derivados alquílicos).

#### 2.4.2.2. Compuestos de nitrógeno.

Los compuestos de nitrógeno que se encuentran en el crudo se pueden agrupar en dos grupos (Benedik *et al.*, 1998); el primero comprende las moléculas de carácter no-básico que incluyen a pirroles e indoles y los derivados alquílicos del carbazol; mientras que las moléculas de carácter básico son, fundamentalmente, derivados de la piridina y la quinoleína (Figura I.12).

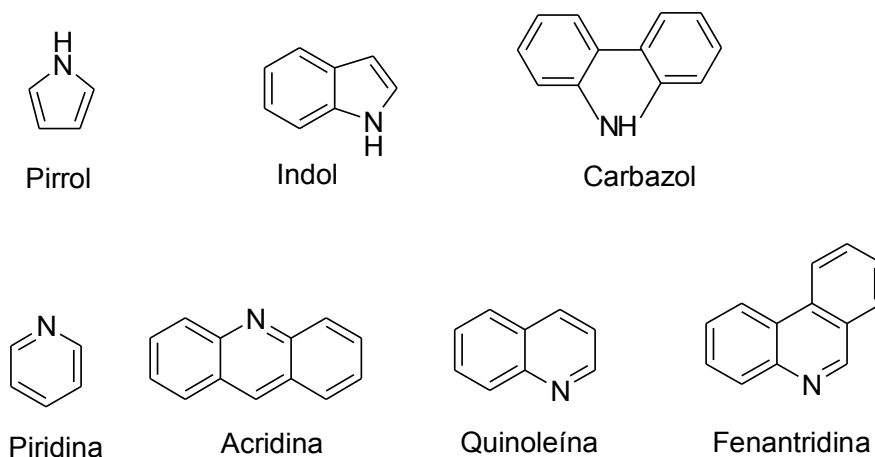


Figura I.12: Principales compuestos con nitrógeno en el petróleo. En la fila de arriba aparecen los componentes no-básicos y en la de abajo los básicos.

#### 2.4.2.3. Compuestos de oxígeno.

El oxígeno apenas aparece en las fracciones más volátiles del petróleo. Por el contrario, en fracciones pesadas o en crudos poco maduros su proporción aumenta, sirviendo también como indicador de la mayor o menor oxidación de la mezcla producto del envejecimiento o meteorización (“weathering”).

Los compuestos orgánicos con oxígeno presentan una gran variedad de formas, muchas de las cuales están presentes en el petróleo crudo (Figura I.13). En el grupo de los compuestos alifáticos destaca la abundancia de los ácidos nafténicos; además, entre las moléculas aromáticas son habituales compuestos muy parecidos a un conjunto de compuestos heterocíclicos del azufre, en los cuales el sustituyente furano reemplaza al tiofeno.

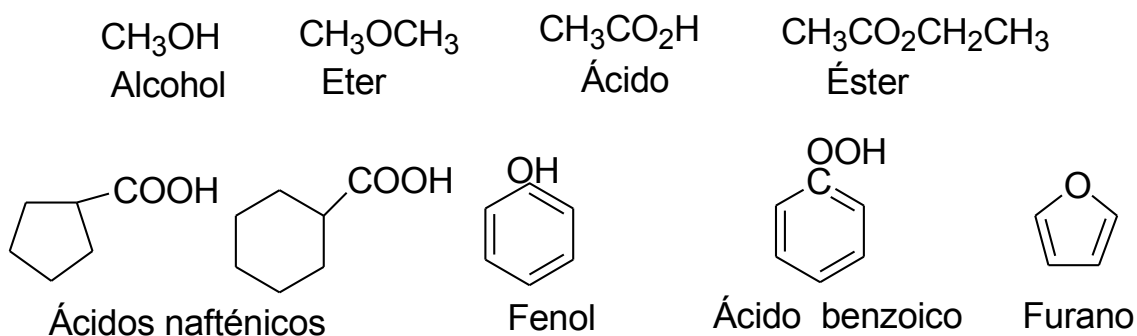


Figura I.13: Tipos de compuestos con oxígeno en el petróleo.

#### 2.4.2.4. Compuestos organometálicos

Como ya se ha mencionado, el petróleo es una mezcla compleja de compuestos orgánicos. No obstante, la aparición de 'impurezas' tales como el agua, sales y algunos componentes metálicos resulta habitual.

En el petróleo crudo, se pueden establecer dos grupos de metales más significativos (Engel y Macko, 1993; Reimann y Caritat, 1998; Speight, 2001):

- Zn, Ti, Ca y Mg aparecen principalmente en forma de jabones organometálicos con propiedades surfactantes.
- V, Cu, Ni y Fe están mayoritariamente presentes en compuestos oleosolubles, ya que estos metales son capaces de quelarse con componentes pirrólicos derivados de la clorofila (porfirinas) y la hemoglobina de los biopolímeros precursores del petróleo.

Todos estos compuestos organometálicos se encuentran en la fracción no destilable del petróleo, por lo que su estudio individualizado resulta complejo.

#### 2.4.2.5. Constituyentes no destilables: asfaltenos y resinas.

Los asfaltenos son componentes aromáticos y heteroatómicos de gran polaridad y con pesos moleculares que oscilan entre 1.000 y 100000 (Figura I.14). Su principal característica es la tendencia a la asociación para formar micelas. Cuando se habla de benceno u otro compuesto químico en particular, se hace referencia a especies químicas bien definidas con propiedades perfectamente medibles y reproducibles. Por el contrario, los asfaltenos no son una especie química y sí son una familia de compuestos que presentan sólo un comportamiento global característico. Bajo el término "asfaltenos" se agrupa a los componentes que quedan como fracción insoluble después de tratar un petróleo crudo en determinadas condiciones (solventes, temperaturas, etc.). La composición de esta fracción insoluble varía con el tipo de petróleo y la característica común, que los hace importantes en la producción de crudo, es que suelen originar precipitados (sólidos) que dañan el medio poroso o bloquean tuberías de conducción en instalaciones de campos petroleros y refinerías.

También cabe recordar que gran parte de los compuestos NSO, porfirinas y otros organometálicos, se encuentran en esta fracción.

Las resinas pueden considerarse como un subgrupo dentro de los asfaltenos o, más concretamente, otra fracción no destilable formada por compuestos aromáticos malténicos muy polares con gran tendencia a la asociación; aunque, por otra parte, su presencia limita la tendencia de los asfaltenos a la interacción entre sí. Su peso molecular se encuentra entre 500 y 5000 unidades.

En resumen, la complejidad de las fracciones no destilables hace difícil precisar más sus propiedades, así como los efectos que sobre los procesos habituales en la industria petrolera y en la problemática medioambiental pueden tener.

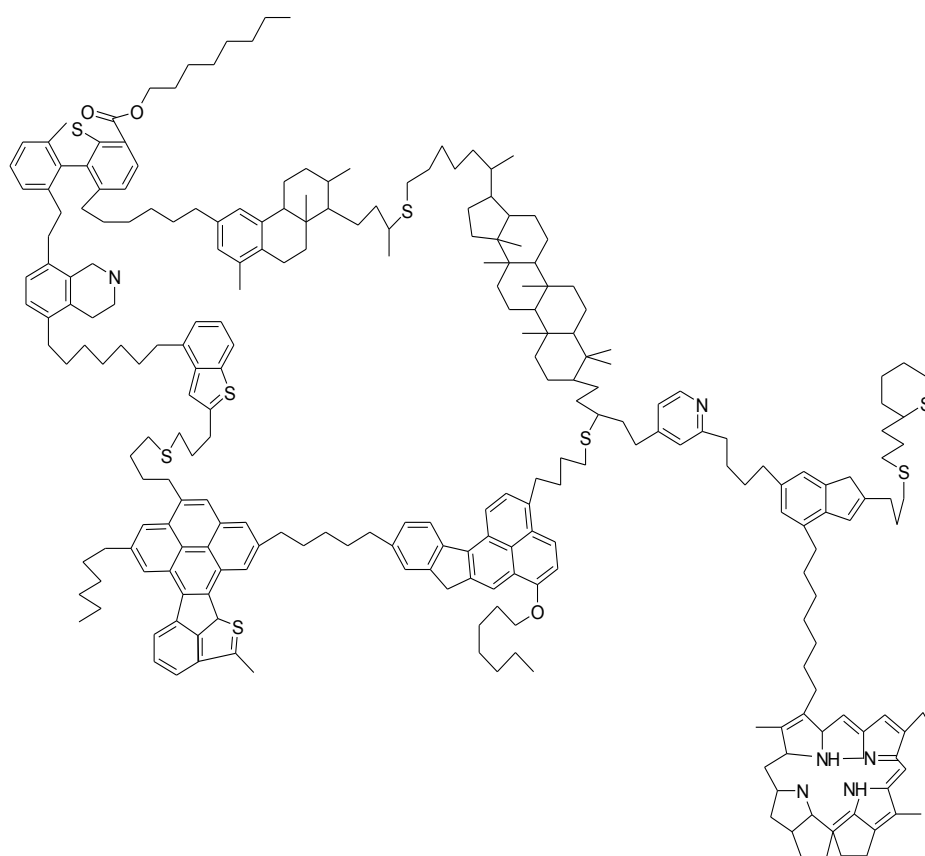


Figura I.14: Estructura tipo de asfalteno propuesta en Pineda-Flores y Mesta-Howard (2001).

### 3. ALTERACIÓN TÉRMICA O MADURACIÓN TÉRMICA

Un incremento progresivo de la profundidad de soterramiento supone un aumento progresivo de la temperatura a la que está el sedimento. Este aumento de temperatura puede producir una desproporción (craqueo y policondensación) de alcanos normales de cadena larga, componentes poliaromáticos y resinas en moléculas de menor peso molecular (hidrocarburos ligeros). El intervalo de temperatura para que este proceso tenga lugar está entre 160 y 200 °C (Kartsev, 1964).

En los yacimientos, la presencia de “pirobitumen” y el aumento del contenido de hidrocarburos ligeros, así como la progresiva ausencia de hidrocarburos intermedios, son indicadores de la ocurrencia de reacciones de desproporción durante la alteración térmica (Hunt, 1996).

En relación con lo anterior, y a fin de conocer el nivel de madurez térmica de un querógeno, una propiedad de mucho interés en la geoquímica del petróleo es el grado de reflectancia de los macerales del grupo de la vitrinita, valor que se incrementa de modo lineal con el aumento en la madurez térmica del kerógeno. Los macerales aislados, previamente inmovilizados con una resina en una pastilla, la cual es pulida, son sumergidos en un aceite mineral para prevenir destellos y luego iluminados con luz monocromática (546 nm, en la región verde del espectro visible). Los valores de reflectancia, generalmente sobre la telocolinita, medidos contra un estándar, son luego expresados como porcentajes, a través del término “Ro” (Durand, 1980). El subíndice “o” significa aceite, es decir reflectancia bajo aceite. La literatura actual utiliza la nomenclatura “Rm”, que significa reflectancia media, indicando que el resultado que se reporta es el valor medio de por lo menos cien lecturas (Dow y O’Connors, 1982).

El concepto de madurez térmica del querógeno, o más bien de la roca madre que lo contiene, está relacionado con su evolución molecular con el incremento progresivo en profundidad de la secuencia sedimentaria que lo contiene, gracias a la deposición continua de nuevos sedimentos en la cuenca. A medida que un querógeno es soterrado a mayor profundidad, la porosidad y la permeabilidad disminuyen, y la temperatura aumenta. Esto ocasiona el cese de la actividad bacteriana. El incremento progresivo de la temperatura y la presión, además, promueven reacciones de craqueo térmico del querógeno (Tissot y Welte, 1984).

El concepto de la “ventana del petróleo”, introducido por Pusey (1973a,b), devino de observaciones de campo que permitieron reconocer que el craqueo térmico del querógeno y la generación de hidrocarburos, comienzan a una temperatura alrededor de 65°C, y que la destrucción de hidrocarburos líquidos en la roca madre, se hace dominante a valores superiores a 150°C. Este intervalo de temperaturas es lo que se conoce como la ventana del petróleo. Al comienzo de la ventana del petróleo, el querógeno produce un bitumen viscoso, rico en resinas y asfaltenos (Lewan, 1991). La evolución térmica progresiva de la roca madre, ocasiona la descomposición de este bitumen en petróleo líquido (Lewan, 1991), y posteriormente, en etapas más avanzadas a temperaturas más elevadas, se genera gas

húmedo (condensado y mezcla de gas metano con otros alcanos livianos) y finalmente gas seco (solamente metano). En todos los casos, tanto el proceso de formación del petróleo líquido, como el del condensado, están acompañados por la aparición de concentraciones importantes de metano.

Por otra parte, la utilización de componentes moleculares (biomarcadores) presentes en el crudo como parámetros para establecer el nivel de madurez térmica de su roca madre, tiene como fundamento varios procesos que ocurren durante la maduración de la materia orgánica (craqueo térmico, isomerización y aromatización).

Las variables que miden cambios en la madurez térmica, más comúnmente utilizadas, son las siguientes (Seifert y Moldowan, 1978; 1981): %20S (esterano C29  $\alpha\alpha\alpha$ ) =  $100 \times 20S / (20S + 20R)$ ; % $\beta\beta$  (esteranos C29  $\beta\beta$ ) =  $100 \times \alpha\beta\beta (R+S) / (\text{esteranos regulares totales})$ ; %22S (C32  $\alpha\beta$  trishomohopanos) =  $22S / (22S + 22R)$ ; sin embargo, algunos autores han demostrado que el uso esta última variable como parámetro de madurez no funciona bien sobre rocas madres inmaduras depositadas bajo condiciones hipersalinas (ten Haven et al., 1986).

Existen otros parámetros moleculares: %27Ts =  $(100 \times Ts / (Ts + Tm))$  que incrementa su valor de 0, en inmadurez, a 50 en el inicio de la ventana del petróleo y puede llegar a 80, en madurez térmica avanzada. Sin embargo, Bakr y Wilkes (2002) concluyeron que este parámetro es controlado más bien por variaciones en la facies y el ambiente depositacional de la roca madre, pero no por su madurez térmica.

La relación exacta entre un parámetro molecular y la madurez de la roca madre es función del gradiente geotérmico, litofacies y tipo de querógeno. En consecuencia, el valor exacto de la madurez (por ejemplo, el equivalente a la reflectancia de la vitrinita) asociado a un parámetro particular puede cambiar de una cuenca sedimentaria a otra. Adicionalmente, la relación matemática entre un parámetro indicador de madurez térmica y la madurez real de la roca madre, generalmente, no es lineal. Asimismo, con el aumento en la madurez térmica, algunos parámetros alcanzan un valor límite (de equilibrio); lo que significa que cada parámetro solo es aplicable para un intervalo de madurez térmica específico. Los parámetros moleculares para medir madurez térmica no deben ser, además, muy sensibles a procesos de alteración en el yacimiento. Por último, la concentración de los biomarcadores en el petróleo decrece con el aumento en la madurez térmica.

Independientemente de las consideraciones anteriores, los parámetros de madurez térmica derivados del uso de biomarcadores pueden ser muy útiles. Un ejemplo de su aplicación, concretamente en relación con el cálculo del valor de la gravedad API original de unas muestras determinadas, previamente a su biodegradación, fue presentado por Moldowan et al. (1992) para un conjunto de crudos del Adriático.

#### 4. PROCESOS DE ALTERACIÓN DEL CRUDO EN RESERVORIO

La migración comprende el proceso de transporte del petróleo o gas desde la roca madre hasta su lugar de acumulación (Tissot y Welte, 1984). El lugar de acumulación por su parte recibe el nombre de entrapamiento. Una trampa constituye una barrera geológica a la migración del petróleo, y está representada por un estrato de roca impermeable (y geometría apropiada) o alguna falla sellada, los cuales impiden el movimiento del petróleo en ese punto (Cohem, 1998). Después de la migración y entrapamiento del petróleo, pueden ocurrir varios procesos que tienden a modificar las características físicas y químicas de los hidrocarburos en el yacimiento o reservorio (Hunt, 1996).

##### 4.1. Desasfaltación

Este proceso consiste en la precipitación de asfáltenos en yacimientos de crudos medianos o pesados como consecuencia de la disolución de hidrocarburos livianos y gases, generados ya sea por alteración térmica en el depósito del crudo o por una carga de estas moléculas de bajo peso molecular que por migración alcanzan un yacimiento que contiene petróleo crudo más pesado (Milner et al., 1977).

Otra causa de la desasfaltación tiene que ver con alteraciones antropogénicas durante la perforación de pozos o procesos de recuperación mejorada de petróleo. En cualquier caso, el resultado final de este proceso es la generación de dos productos, uno más liviano y el otro más pesado que el crudo originalmente acumulado en el reservorio (Escobar, 1987). La desasfaltación antropogénica, o por inyección de gas, puede distinguirse de la ligada a la alteración térmica porque esta última se produce a escala regional, mientras que la primera está muy localizada (Bailey et al., 1974).

Si la relación entre isótopos estables de carbono es igual al del crudo inicial, entonces, la desasfaltación se debió a la inyección de gas; por el contrario, los residuos asfálticos formados por alteración térmica (pirobitúmenes) presentan relaciones entre isótopos estables de carbono significativamente más elevadas que el correspondiente crudo original (Tissot y Welte, 1984).

##### 4.2. Segregación por gravedad

Es la modificación de la composición del crudo por la acción de la gravedad, observándose como los compuestos pesados se acumulan en la base de la columna de petróleo, mientras los hidrocarburos ligeros se ubican en la parte superior del yacimiento (Lira-Galeana et al., 1994). Se expresa por un cambio progresivo en la gravedad API, con valores altos en el tope y cada vez menores a medida que se alcanza la base del intervalo productor (Creek y Schrader, 1985).

### 4.3. Fraccionamiento evaporativo

Se define como la pérdida selectiva de compuestos ligeros del crudo por difusión, en trampas no selladas completamente. Este fenómeno se caracteriza por una volatilización preferencial de parafinas de bajo peso molecular respecto a compuestos aromáticos y nafténicos de similar peso molecular. Puede ser detectada en yacimientos asociados con fallas o barreras de permeabilidad ineficientes. El producto resultante en el reservorio queda enriquecido en compuestos más pesados.

### 4.4. Lavado por agua

Es un fenómeno que se produce cuando existe una interacción del agua con el crudo, produciéndose una remoción gradual de los constituyentes de bajo peso molecular del petróleo más solubles en agua, sobre todo aromáticos (benceno, tolueno, xilenos, etc.) y sulfúreos (Evans et al., 1971). Las aguas meteóricas que se infiltran en el yacimiento a través de fracturas, fallas o zonas de alta permeabilidad, disuelven los compuestos polares de bajo peso molecular presentes en el petróleo, cambiando la composición del crudo remanente. Este proceso generalmente, aunque no siempre, opera simultáneamente a la biodegradación (Bailey et al., 1974).

Los principales efectos producidos por esta alteración son un enriquecimiento relativo de las fracciones polares, resinas y asfaltenos, como resultado de la solubilización parcial de las fracciones neutras; así como la disminución de la gravedad API del crudo (Palmer, 1984). Generalmente, la pérdida de benceno y tolueno es un buen indicador del lavado por aguas ya que estos compuestos son los más solubles en agua (Connan y Cassou, 1980).

### 4.5. Biodegradación

Pese que todos los procesos explicados anteriormente pueden dar lugar a “tarmats”, la biodegradación es el proceso de formación de tarmats más habitual. La consecuencia en el yacimiento de la biodegradación es la existencia de yacimientos de crudos pesados (Peters et al., 2005).

Se trata de un proceso consistente en la oxidación, por parte de microorganismos, de hidrocarburos y compuestos heteroatómicos mediante rutas metabólicas, que producen gases y especies parcialmente oxidadas (Head et al., 2003; Peters et al., 2005c) en aquellos yacimientos donde las condiciones son favorables para el desarrollo de dichos microorganismos, produciendo la remoción selectiva de determinadas sustancias presentes en el petróleo (Winters y Williams, 1969). En la superficie o cerca de esta, la biodegradación del petróleo a través de mecanismos aeróbicos está bien documentada (Abbassi y Shquirat, 2008; Antić et al., 2006; Atlas y Bragg, 2009; Atlas y Bartha, 1992). Sin embargo, la baja probabilidad, en general, de que existan condiciones aeróbicas en los yacimientos de petróleo, la presencia

de microorganismos anaerobios en los campos petrolíferos, y la identificación de mecanismos de biodegradación anaeróbica del petróleo llevan a la conclusión de que el proceso biodegradativo ocurre también y principalmente en forma anaerobia en el subsuelo (Aitken et al., 2004; Boll et al., 2002; Head et al., 2003; Jones et al., 2008; Magot et al., 2000; Widdel y Rabus, 2001; Zengler et al., 1999). Sea cual sea el mecanismo metabólico, el principal cambio que se observa en la composición total del crudo biodegradado es un aumento de la concentración de compuestos polares (Price, 1980).

Por tanto, la biodegradación del petróleo puede ocurrir en condiciones óxicas o anóxicas (Zengler et al., 1999). En el primer caso, la biodegradación es simultánea al lavado por aguas, y se produce en yacimientos poco profundos, estando controlada por la penetración de aguas meteóricas de baja salinidad que portan microorganismos y nutrientes al yacimiento (Connan, 1984). Asimismo, la biodegradación puede ser provocada también por bacterias anaeróbicas que obtienen energía a través de la reducción de ion sulfato, en aguas en las cuales este ion esté presente, a otras formas del azufre (Holba et al., 1996). Este azufre generado puede reaccionar con el crudo remanente originando crudos biodegradados con altas concentraciones de azufre. No obstante, en el caso que la disponibilidad en el medio del ion sulfato sea pobre, la biodegradación anaerobia también puede ser efectuada por bacterias metanogénicas (Bennett et al., 1993). Todos estos procesos requieren una serie de nutrientes esenciales (nitrógeno, fósforo o potasio) que pueden ser suministrados por la disolución o alteración de minerales presentes en la columna sedimentaria (Larter et al., 2006). Todos estos procesos están condicionados a la existencia de vida microbiana; así, 80°C es la temperatura de enterramiento que ha sido propuesta como aquella por encima de la cual el yacimiento se encontrará "pasteurizado", y es el límite de temperatura para la degradación de hidrocarburos en la cuenca (Wilhelms et al., 2001).

La biodegradación requiere de una serie de condiciones que soporten la vida microbiana: como se ha dicho, la temperatura generalmente debe ser menor a 80 °C, la salinidad del agua de formación menor a 150 ppm o el hecho de que el yacimiento debe carecer de anhídrido sulfhídrico para que se desarrolle cualquier actividad aeróbica o esté presente en menos de un 5 % para organismos sulfato-reductores (Peters y Moldowan, 1993).

Las bacterias aeróbicas viven en la fase acuosa porque en ella se encuentra el oxígeno molecular necesario para su supervivencia, provocando la biodegradación en la interfase agua-petróleo. Asimismo, la presencia de iones sulfato en las aguas de formación de yacimientos resulta esencial para el desarrollo de bacterias sulfato reductoras que, a su vez, causan la oxidación biológica de hidrocarburos y otros compuestos orgánicos del petróleo (Connan, 1984).

Finalmente, en la Tabla I.1. y Figura I.15 se expone la escala de biodegradación de distintos compuestos del petróleo en base al orden secuencial de desaparición de estos con dichos procesos. Así, el avance del proceso de biodegradación se establece en una escala del 1 al 10 (escala PM) que marcan la resistencia diferencial de los compuestos al ataque de los microorganismos (Peters et al., 2005).

El grado de avance del proceso de biodegradación sobre un crudo maduro, puede ser clasificado en una escala del 1 al 10 utilizando como criterio, la resistencia diferencial de distintas clases de compuestos al ataque bacteriano (escala PM, Peters y Moldowan 1993). La biodegradación es un proceso cuasi-secuencial, debido a que algunos de los compuestos más susceptibles al ataque, pertenecientes a las familias de compuestos más refractarios al ataque bacteriano, pueden ser atacados, antes de que las familias de compuestos más fáciles de metabolizar por las bacterias sean completamente destruidas. En la Figura I.15 Las flechas indican alteración ligera (líneas punteadas), disminución notable (líneas grises) y eliminación total (líneas negras). La secuencia de alteración de hidrocarburos poliaromáticos alquilados, está basada en los artículos de (Fisher et al., 1998) y (Trolio et al., 1999). El grado de biodegradación de (Wenger et al., 2002), indicado en la figura, refleja los principales cambios en la calidad del crudo (L, ligeramente biodegradado; M, biodegradación moderada; H, (High) o biodegradación avanzada).

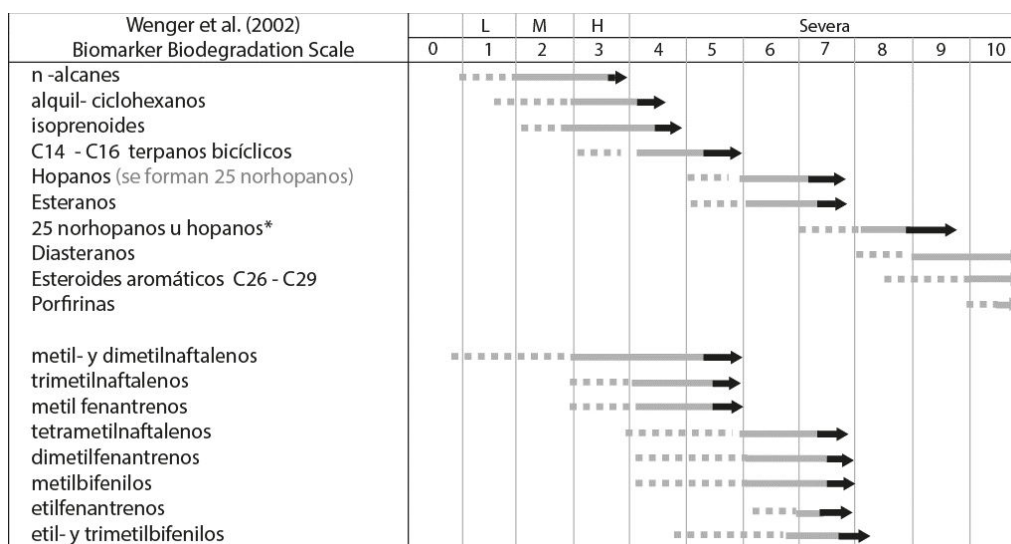


Figura I.15.: Grado de avance del proceso de biodegradación. Modificada de Peters et al. (2005).

Tabla I.1: Escala de biodegradación para crudos (Peters et al., 2005)

Nivel	Cambios composicionales a escala molecular
<b>1. (Muy leve) leve)</b>	C <sub>1</sub> a C <sub>15</sub> n-parafinas ligeramente degradadas; alcanos ramificados
<b>2. (Leve)</b>	Sobre el 90% de C <sub>1</sub> a C <sub>35</sub> n-parafinas afectadas
<b>3. (Moderada)</b>	Alcanos removidos; naftalenos y bifenilos afectados
<b>4. (Moderada)</b>	Isoprenoides y fenantrenos afectados; naftalenos removidos
<b>5. (Media)</b>	Isoprenoides y bifenilos removidos
<b>6. (Severa)</b>	25-norhopanos si hopanos afectados; de no ser así, sólo
<b>7. (Severa)</b>	Esteranos removidos y hopanos afectados si 25-norhopanos
<b>8. (Severa)</b>	Hopanos afectados; fenantrenos removidos
<b>9. (Muy severa)</b>	Diasteranos, triciclopiliprenanos y triterpanos no hopanoides
<b>10. (Extrema)</b>	Diasteranos y terpanos tricíclico. removidos; esteroides

En general, la alteración de los n-alcenos es la primera indicación de biodegradación. Seguido por la alteración de los isoprenoides, alquilciclohexanos, hidrocarburos monoaromáticos alquilados y componentes de hidrocarburos poliaromáticos alquilados más resistentes. Los alcanos cíclicos, sin embargo, solo se ven afectados a niveles de biodegradación severos (Fisher et al., 1996; Fisher et al., 1998; Peters y Moldowan, 1993; Trolio et al., 1999; Wenger et al., 2002).

La generación de nuevos compuestos durante la biodegradación del crudo también es indicativa del grado de biodegradación. Por ejemplo, Bennett et al. (2006) observaron concentraciones crecientes de C28 17 $\alpha$ 25-norhopano y C29 17 $\alpha$ 25-norhopano con una severidad creciente de la biodegradación y una profundidad mayor, en una columna de bitumen tipo Athabasca (Bennett et al., 2006).

Sin embargo, la eliminación secuencial aparente observada de los compuestos del petróleo resultado de la biodegradación puede variar de un caso a otro complicando el uso de una escala de biodegradación global (Bennett y Larter, 2008). Lin et al. (1989), encontraron degradación preferencial de compuestos aromáticos y tioaromáticos sobre alcanos en crudos biodegradados de las cuencas Ardmore / Anadarko en Oklahoma. Brooks et al. (1988) encontraron inconsistencia entre los patrones de biodegradación de esteranos, hopanos y formación de 25-norhopanos en la región de arenas petrolíferas de Alberta, hallando algunos crudos en los que los esteranos regulares se habían eliminado por completo mediante biodegradación sin formación de 25 norhopanos, mientras que en algunos otros todavía había esteranos presentes y mostraban 25-norhopanos en cantidades variables.

Bennett y Larter (2008) investigaron la composición de hidrocarburos aromáticos en Athabasca. Se observó la eliminación de alquilnaftalenos, alquilbifenilos y alquildibenzotiofenos por biodegradación, mientras que los hidrocarburos esteroideos tri y monoaromáticos no mostraron cambios aparentes en la composición. La distribución de metilfenantreno mostró respuestas variadas, en diferentes partes de la cuenca, debido a la biodegradación. Estos autores concluyeron que la biodegradación del petróleo en yacimientos con problemas de petróleos pesados y extrapesados es muy compleja, y que posiblemente se puedan ver afectados también por factores locales tales como la química del agua, la composición del bitumen, la mineralogía, la microbiología y los procesos de mezcla del petróleo.

Pese a todo lo anterior, se pueden observar comúnmente gradientes composicionales en los campos de petróleo pesado en todo el mundo, con la mayoría de los crudos alterados ubicados en la parte inferior de la columna de petróleo. Larter et al. (2000, 2003) propusieron por primera vez un modelo de gradación que explicaba la generación de gradientes de composición. El modelo indica que la mayor parte de la biodegradación tiene lugar en la base de las columnas de petróleo, cerca de los contactos agua-aceite. Estas zonas proporcionan condiciones que son más adecuadas para la actividad microbiana, como el agua libre y la disponibilidad de nutrientes (Larter et al., 2000). Los gradientes de composición se desarrollarán en yacimientos conectados de alta permeabilidad, donde las velocidades de

difusión de mezcla son similares o más bajas que las tasas de biodegradación (Larter et al., 2003). Bennett y Larter (2008) también observaron variación en la composición de biomarcadores cíclicos en columnas de petróleo biodegradado de Athabasca. La degradación progresiva de esteranos y diasteranos regulares con profundidad creciente se identificó por su decreciente abundancia relativa con los pregnanes C21 y C22. El bitumen más alterado estaba ubicado en la base del yacimiento.

Se debe tener en cuenta que las escalas existentes para la evaluación de la biodegradación (Volkman et al., 1983; Peters y Moldowan, 1993; Wenger et al., 2002; Peters et al., 2005), pese a funcionar bien en petróleos ligeros convencionales, lo hacen tan bien en petróleos fuertemente degradados. Larter et al. (2012) indican que la escala “Manco” es útil para arenas bituminosas y petróleos pesados de la Cuenca Sedimentaria Oeste de Canadá. El parámetro “Manco” está diseñado para la diferenciación composicional y propiedades del fluido sutiles que no son detectadas mediante las escalas antiguas. Pese a su aparente utilidad, en este trabajo no ha sido aplicada ya que se carece de datos probados de que esta escala sea útil en otro tipo de muestras diferente a las de la Cuenca Oeste de Canadá.

## 5. PROCESOS DE ALTERACIÓN DEL CRUDO TRAS UN VERTIDO

### 5.1. Introducción

El crudo puede entrar en contacto con el agua por un gran número de causas tanto antropológicas como naturales. Las causas antropogénicas pueden clasificarse, a su vez, en vertidos accidentales y descargas operacionales. Pese a que los protocolos internacionales han disminuido los vertidos antropogénicos, numerosos vertidos accidentales e intencionadas a modo de descarga de depósitos hacia vías fluviales y ambientes marinos siguen ocurriendo. La Tabla I.2 muestra la estimación de las masas de petróleo procedentes de vertidos accidentales y descargas operacionales intencionadas en Norte América y a nivel mundial. La causa principal de vertidos accidentales es la problemática de los buques cisterna que transportan crudo o productos petroleros, seguida por los vertidos de oleoductos y otras tuberías, aquellos vertidos que tienen lugar en instalaciones costeras y los derrames procedentes de plataformas petroleras marinas u “offshore”. Las principales causas en el caso de descargas operacionales intencionadas incluyen descargas de buques de transporte, limpieza de los contenedores de carga y agua de producción en plataformas offshore. (Tabla I.2).

Por otro lado, las causas antropogénicas de carácter crónico, como las escorrentías superficiales y las deposiciones atmosféricas procedentes de ambientes terrestres, las cuales son muy difíciles de clasificar entre accidentales o intencionadas, constituyen el mayor aporte de contaminación petrolera en el medioambiente marino. Por lo tanto, hay que considerarlos detalladamente en las investigaciones de vertidos de petróleo.

Tabla I.2: Media estimada anual de descargas (Stout y Wang, 2006). En kilotoneladas.

	Norte América			Todo el mundo		
	Est.	Min.	Max.	Est.	min	max
<b>Fuentes Accidentales</b>						
Vertido de tanque de embarcaciones	5.3	4	6.4	100	93	130
Vertido en tubería	1.9	1.7	2.1	12	6.1	37
Vertido de industria costera	1.9	1.7	2.2	4.9	2.4	15
Descarga sin tanque	1.2	1.1	1.4	7.1	6.5	8.8
Vertidos de plantas en producción	0.16	0.15	0.18	0.86	0.29	1.4
<b>Descargas intencionadas</b>						
Descargas operacionales (barcos)	0.22	0.06	0.6	270	90	810
Limpieza de tanques				36	18	72
Agua de producción en plataformas offshore	2.7	2.1	3.7	36	19	58
Embarcaciones marinas de recreación	5.6	2.2	9			
Combustible de avión desechado	1.5	1	4.4	7.5	5	22
<b>Fuentes terrestres crónicas</b>						
Terrestres (ríos y escorrentía superficial)	54	2.6	1900	140	6.8	5000
Deposición atmosférica	21	9.1	81	52	23	200
<b>Fuentes naturales (filtraciones)</b>						
	160	80	240	600	200	2000
<b>Total</b>	260	110	23000	1300	470	8300

A pesar de la significativa contribución de las causas antropogénicas de carácter crónico, caso de las filtraciones de crudo y las contribuciones naturales, son los vertidos accidentales e intencionados los que están dañando más los recursos naturales. La definición de “GC-MS fingerprint” (huella química) comprende el análisis y comparación de un conjunto

de características químicas diagnosticas de muestras oleosas (tanto del vertido como de la fuente) y muestras procedentes de las costas impactadas. Estos análisis suponen un importante rol en la evaluación de responsabilidades y la monitorización de los efectos ecológicos.

La función exacta de un análisis de huella química (“GC-MS fingerprinting”) en un vertido petrolero puede variar durante el tiempo, dependiendo de las circunstancias de la descarga (Boehm et al., 1997). Por ejemplo, los vertidos de crudo o descargas operacionales que entran en aguas superficiales pueden clasificarse en dos categorías: vertidos “misteriosos” y vertidos de fuentes conocidas. Los primeros implican una fuga de petróleo o residuo en el mar, en ríos o puertos, o en cualquier otro cuerpo de agua; cualquiera de ellos bien en ausencia de accidente u otra causa conocida, bien en presencia de múltiples fuentes posibles. Los segundos, en cambio, suponen la descarga de un crudo o producto petrolero procedente de una fuente puntual identificada o un incidente conocido. En cualquiera de estos escenarios, el análisis de huella química permite obtener una información clave a la hora de establecer posibles daños en recursos naturales y distribuir las responsabilidades de limpieza.

Para el análisis de la huella química, además, hay que tener en cuenta tres factores que la controlan en petróleos vertidos. Como ya se ha descrito, la química del petróleo natural es el resultado de los procesos geológicos que llevaron a su formación durante millones de años, es decir (1) la naturaleza del estrato generador, (2) la historia del citado estrato, así como (3) los cambios provocados durante la migración y posterior acumulación en la roca del reservorio (Tissot y Welte, 1984; Hunt, 1996). Estos tres “controles primarios” configuran las características químicas específicas de los crudos, que pueden variar significativamente entre dos provincias petroleras diferentes. Diferencias más sutiles pueden también aparecer entre crudos de yacimientos individuales dentro de un mismo campo de petróleo (Kauffman et al., 1990; Peters y Fowler, 2002). En definitiva, los controles primarios determinan una serie de características genéticas a los petróleos, proporcionando una primera base para la huella química (Stout et al., 2002). Los derivados petrolíferos “fabricados” por el hombre son derivados de petróleos naturales durante el refino de petróleo. Estos incluyen diferentes fueles, lubricantes y otros productos. A pesar de que muchas características pasan de un petróleo natural a sus productos derivados, el proceso de refino puede dejar sus propios efectos en la composición química de los productos finales; esto ha de tenerse en cuenta como un “segundo control” de la huella química del producto petrolífero. Así, la composición de los petróleos fabricados por el hombre se ve afectada por la combinación de los controles primarios y secundarios.

Una vez que el petróleo es vertido queda inmediatamente expuesto a varios procesos químicos, físicos y biológicos que afectaran a su composición química (Jordan y Payne, 1980). Estos fenómenos se denominan conjuntamente como “meteorización” o envejecimiento (weathering), la cual debe considerarse como “tercer control” de la huella química del petróleo en el medio ambiente. La meteorización afecta a la composición química a muy diferentes ritmos. Por ejemplo, la evaporación y volatilización ocurrirán mucho más rápido que la biodegradación de compuestos recalcitrantes. Al estudiar la huella química de muestras mucho después de un derrame de petróleo se debe tener en cuenta los efectos de la

meteorización a largo plazo (Wang et al., 1994b, 1998; Reddy et al., 2002; Petkewich, 2002; Prince et al., 2002a; Short et al., 2004). Por tanto, tanto en investigaciones de vertidos desconocidos a corto plazo, como de vertidos conocidos a largo plazo se debe tener en cuenta los cambios que la meteorización provoca (Douglas et al., 1996; Wang y Fingas, 1995c; Stout et al., 2001; Daling et al. 2002).

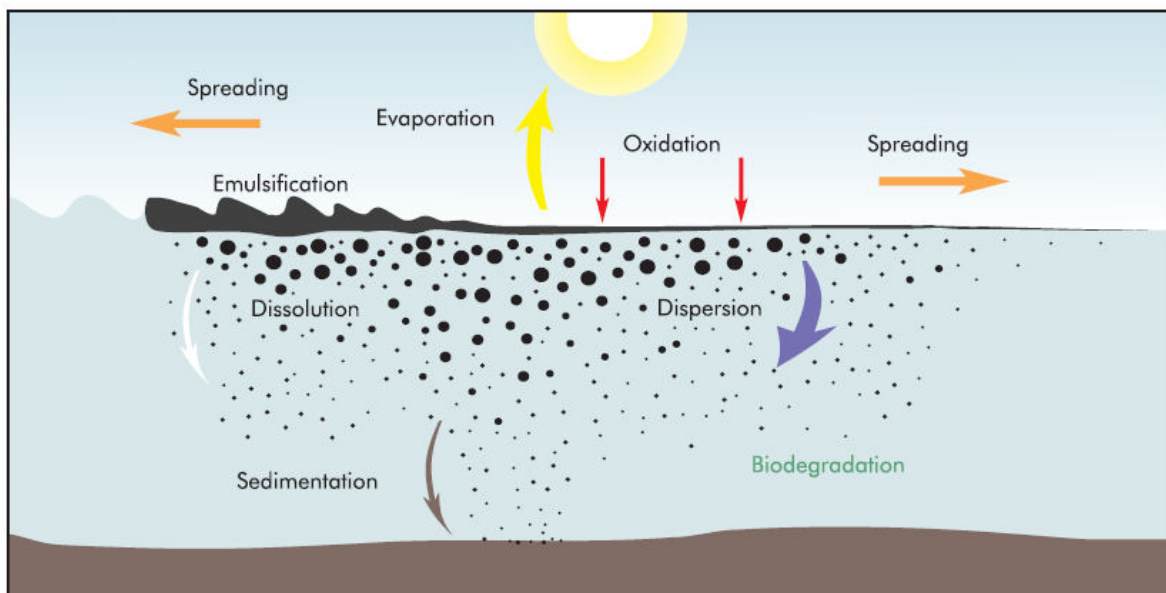


Figura I.16: *Procesos involucrados en un vertido de hidrocarburo (ITOPF, 1987).*

Como se ha dicho anteriormente, la meteorización altera la huella química de los productos vertidos, la cual puede no coincidir con la huella química del producto original. La meteorización de los vertidos es la causante de la formación de bolas de alquitrán (“tarballs”), el enriquecimiento progresivo en las fracciones pesadas de los mismos; por tanto, las siguientes secciones tratan más extensamente los diferentes mecanismos de la meteorización.

## 5.2. Extensión y advección

La extensión (“spreading”) es el transporte o movimiento horizontal de la capa o “mancha” de hidrocarburo que ocurre en la superficie del agua debido a los efectos de la gravedad, inercia, fricción, viscosidad, y tensión superficial.

Por otro lado, la advección es el desplazamiento del crudo debido a la influencia de los vientos en superficie y/o las corrientes de fondo. Ambos procesos, extensión y advección, incrementan la superficie que ocupa el hidrocarburo, aumentando también de este modo su exposición al aire, a la luz solar y a las corrientes marinas. Como consecuencia de estos dos procesos también aumenta el riesgo potencial de impacto medioambiental, aunque no se produce alteración en la composición química del crudo.

Estos procesos no son uniformes y se encuentran grandes variaciones en el espesor de crudo dentro de la propia “mancha” (ITOPF, 1987). Independientemente del tipo de crudo, el petróleo tiende a extenderse con un espesor medio de 0,1 mm, con zonas que contienen áreas

más gruesas y brillantes (Mackay y McAuliffe, 1988). Asimismo, cuando el crudo se encuentra con obstáculos en su camino, tiende a acumularse a su alrededor en capas más gruesas.

La extensión es el proceso dominante en los estadios iniciales de un vertido (CONCAWE, 1983; Exxon, 1985; ITOPF, 1987) y concierne a todo el crudo. Como ya se ha mencionado, este proceso no es capaz de alterar la composición química ni de contribuir a la separación de los distintos componentes el crudo, pero facilita que otros procesos (envejecimiento y atenuación) sean más eficientes debido al substancial aumento de la superficie del vertido.

Desde el momento en el que se produce el vertido, la extensión y la advección comienzan de manera inmediata (Mielke, 1990), y continúan aproximadamente durante una semana a diez días para manchas de tamaño grande, o hasta que el vertido llegue a la costa y sea contenido por las barreras de contención u otros obstáculos que impidan su propagación (Exxon, 1985). El crudo que queda en el mar forma las famosas “tarballs” (chapapote o bolas de alquitrán) que después de un extenso proceso de meteorización normalmente se encuentran flotando bien en la superficie del agua o justo por debajo de ella.

Existen diversas condiciones ambientales y características del propio crudo que influyen en este proceso. En función del tipo de petróleo y, más en concreto, de su gravedad específica y viscosidad, se puede valorar la facilidad con que la extensión se llevará a cabo. Los crudos con alta gravedad específica no se extenderán con igual rapidez que otros petróleos más ligeros. Por otro lado, las condiciones ambientales tales como velocidad del viento, estado del mar, corrientes, temperatura del agua y salinidad, son factores que también influyen en el proceso.

### **5.3. Volatilización**

Durante este proceso, los componentes ligeros y medios del petróleo, que son los más volátiles, pasan a la atmósfera. La composición química del crudo es alterada a medida que estos componentes se evaporan y, a pesar de que el volumen de petróleo disminuye con la evaporación, la fracción que permanece tiene una viscosidad y densidad relativamente mayores provocando un aumento del espesor y favoreciendo la aparición de las “tarballs”.

La evaporación es el principal proceso de atenuación natural que ocurre en la superficie del agua y, durante las primeras 24-48 horas, es el proceso de mayor importancia desde el punto de vista de la disminución del volumen del vertido (Payne y McNabb, 1984). Dependiendo de la composición del crudo, la evaporación puede ser responsable de la pérdida de más de la mitad del volumen de la mancha en superficie. Una pérdida del 20- 40% de volumen durante la evaporación es considerada como normal (Mielke, 1990; Lewis y Aurand, 1997). Este porcentaje puede ser mayor para crudos ligeros y productos refinados (e.g., gasolinas) debido obviamente a su mayor contenido en componentes ligeros (Lee, 1980; ITOPF, 1987).

La evaporación también afecta a la toxicidad del crudo. Varios de los componentes más ligeros del petróleo son considerados generalmente los más tóxicos, pero éstos son sometidos al proceso de evaporación durante las primeras 5 horas (Lewis y Aurand, 1997). Este hecho se debe a la presencia en la mencionada fracción de hidrocarburos alifáticos que se comportan como disolventes (pentano, hexano, etc.), así como por la presencia de los compuestos aromáticos más solubles ("BTEX"), cuya toxicidad es elevada. Una vez superada la primera etapa, se considera que la mayor toxicidad reside en una fracción media del petróleo (Clark, 1997), ya que aunque estos componentes también son susceptibles al proceso de evaporación, éste se lleva a cabo de una manera mucho más lenta en comparación con los componentes ligeros. La toxicidad de la fracción media de petróleo se debe a su contenido en aromáticos de dos anillos y a que se ha demostrado que permanece en el agua durante un periodo de tiempo mayor, aumentando su potencial dañino. En definitiva, la evaporación ocurre en unas dos semanas, comenzando inmediatamente después del vertido. Independientemente del tipo de petróleo, la mayor parte de la evaporación se produce dentro de las 12 primeras horas (McAuliffe, 1989). Los componentes más ligeros (con menos de 15 átomos de carbono) se evaporan a un ritmo mucho más rápido y pueden llegar a desaparecer por completo, dentro de las primeras 48 a 72 horas. Por el contrario, los componentes más pesados, constituidos por moléculas más complejas, pueden permanecer en la superficie del agua por un periodo de tiempo mucho mayor, del orden de semanas o meses, sin evaporarse; solamente un cambio en su composición química, debido a los procesos de meteorización que nos ocupan, haría posible que la evaporación entrara en juego de nuevo. Por tanto, para crudos pesados la evaporación dura estrictamente el tiempo que éste permanece en el medioambiente, aunque como se ha apuntado, después de la primera semana, ésta resulta prácticamente despreciable.

Durante la evaporación, existen diversos factores ambientales que favorecen el proceso, tales como la radiación solar, la velocidad del viento, el estado del mar y la temperatura del agua. La variación de estos parámetros puede influir directamente en la ratio y la velocidad con la que los componentes del crudo se evaporan. Además, las características del propio crudo, tales como el contenido en volátiles o el tamaño del área por la que se extiende, influyen de manera notoria en el proceso de evaporación y son elementos a tener en cuenta.

#### **5.4. Disolución**

La disolución de los hidrocarburos vertidos en el mar es el proceso en virtud del cual algunos compuestos pasan de la mancha superficial de petróleo a formar parte de la columna de agua. Los compuestos aromáticos más ligeros (BTEX, alquilbencenos, naftalenos y alquilnaftalenos) son los más hidrosolubles. Cuantitativamente, se ha estimado que la fracción de crudo que es eliminada mediante disolución está comprendida el 2% y el 5% (Neff, 1990). Para algunos tipos de crudo, incluso una disolución tan pequeña en porcentaje es poco probable ya que los componentes más hidrosolubles también son muy volátiles y la evaporación de las capas superficiales es más rápida que la disolución en la columna de agua. Por tanto, los procesos de evaporación y disolución son competitivos entre sí, siendo la evaporación el proceso dominante para el crudo en la superficie del agua (Deborah, 2004).

A pesar de que sólo una pequeña cantidad del hidrocarburo vertido se disuelve, una vez disuelto, estos componentes están de alguna forma biodisponibles (Neff, 1990), pudiendo causar impactos negativos. La mayor concentración de estos compuestos tóxicos en el agua se encuentra en la superficie y en las cercanías a la fuente del vertido, por lo tanto, la exposición de la vida marina a éstas sustancias tóxicas se considera acotada y de corta duración debido a los procesos descritos tanto de evaporación como de biodegradación (NRC, 1989).

La horquilla de tiempo en la que se produce la disolución es muy estrecha y se estima que no supere las primeras 24 horas inmediatamente posteriores al vertido. En este rápido proceso la solubilidad de los componentes individuales del petróleo y la temperatura del agua son dos factores clave que influyen de manera notable en el porcentaje de volumen de hidrocarburo eliminado por disolución. Obviamente, los compuestos que se disuelven en agua fría o por debajo del punto de congelación pueden permanecer por un periodo de tiempo mayor debido a que las bajas temperaturas reducen la evaporación (Lee, 1980).

### **5.5. Dispersión natural**

La dispersión natural es uno de los procesos de atenuación natural más importante durante los primeros días del vertido. La dispersión depende de la energía del medio, de las fuerzas capaces de mezclar el crudo y el agua, tales como las generadas por el viento y las olas. El fundamento del proceso consiste en la mezcla de acúmulos o gotículas de crudo con la columna de agua. Dependiendo del tamaño de las gotas, el crudo puede emerger a superficie o puede persistir en una mezcla (permanente) en la columna de agua.

La dispersión natural reduce el volumen de hidrocarburo eliminado por otros procesos de atenuación natural, no obstante, puede mejorar otros. Esta reducción es debida a que la dispersión reduce el volumen de la mancha de crudo en superficie, siendo desfavorable para procesos como la evaporación o la fotooxidación. Por otro lado, la dispersión no altera las propiedades fisicoquímicas del petróleo. En base a algunas observaciones se ha cuantificado la eliminación de la mancha superficial debido a la dispersión en un rango del 10% al 60% durante los primeros días después del vertido. Esta variación depende del estado del mar, es decir, del oleaje y fuerza del viento. Existen otros factores tales como la viscosidad del crudo, la tensión interfases o la presencia de surfactantes naturales, que afectan al proceso de dispersión natural. Generalmente, a mayor viscosidad, menor facilidad para que el crudo se disperse, llegando a ser inviable la dispersión natural, como ocurre en el caso del fuelóleo pesado. La tensión superficial entre las fases petróleo/agua afecta a la capacidad del petróleo para dispersarse en pequeñas gotas; con valores de tensión bajos, es más probable que se formen pequeñas gotas dispersas. La presencia de surfactantes naturales favorece aún más la dispersión de las gotículas del petróleo en la columna de agua.

### **5.6. Formación de emulsiones**

La emulsificación supone la formación de un nuevo producto que tiende a aumentar el volumen total y que es relativamente resistente a otros procesos de meteorización (tales como la evaporación y la disolución). Algunos de los componentes más pesados de una mancha

superficial de crudo tienden a precipitar en forma de partículas sólidas muy finas. Estas partículas ayudan a la estabilización de la emulsión por la presencia de surfactantes naturales (Lewis y Aurand, 1997). Estas emulsiones contienen generalmente del 30 al 80 por ciento de agua y se denominan normalmente como “mousse” debido a su color y consistencia (Neff, 1990; Mielke, 1990; Gilfillan, 1993).

Las emulsiones de petróleo-agua se pueden agrupar en cuatro tipos: emulsiones estables, mezclas inestables de petróleo-agua, emulsiones mesoestables, y emulsiones con agua incorporada en suspensión. Estos tipos se diferencian por el aspecto visual y por propiedades reológicas como la viscosidad o la elasticidad. Una emulsión mesoestable tiene propiedades entre estables e inestables, pero se degrada en unos pocos días de exposición. El tipo de emulsión producida viene determinada principalmente por las propiedades y características del crudo o producto de partida. El contenido en asfaltenos y resinas y la viscosidad son los parámetros más importantes a considerar (Fingas y Fieldhouse, 2003). Ejemplos clásicos de vertidos con formación de mousse son los derivados de los buques Prestige y Erika (fueles pesados). Por el contrario, las emulsiones casi nunca se forman con derrames de gasolina, queroseno o gasóleo, excepto a temperaturas muy bajas (NRC, 1989; RPI, 1992). El estado del mar es una variable ambiental que afecta al proceso; cuanto mayor sea la energía más rápido se formará la mousse y mayor será el volumen de agua que puede ser incorporado a la emulsión. En cambio, con condiciones de mar en calma hay menos probabilidades de que se forme una emulsión (CONCAWE, 1983).

El proceso de emulsificación comienza con frecuencia durante el primer día inmediatamente posterior al derrame y puede seguir ocurriendo durante todo el primer año. El mayor volumen de mousse se forma normalmente en la primera semana posterior al vertido, después de la pérdida de los componentes más ligeros debido a la evaporación y disolución (Lee, 1980). Con el tiempo, la mousse que queda en el agua o varada en la costa puede dar lugar a la formación de “tarballs”.

## 5.7. Fotooxidación

La fotooxidación es un proceso por el cual algunos componentes del crudo, fundamentalmente aromáticos, se transforman químicamente a través de una reacción fotoquímica (en presencia de oxígeno) para producir nuevos compuestos no hidrocarbonados que tienden a ser más solubles en agua y también más tóxicos a corto plazo (Neff, 1990). Bajo condiciones de fuerte radiación solar (latitud baja, pocas nubes), con este proceso de eliminación se ha demostrado que se descompone parcialmente una mancha delgada en cuestión de unos días (NRC, 1985). Al aumentar la latitud y la profundidad del agua, disminuye la intensidad de la radiación solar, y como consecuencia una disminución de la cantidad de crudo que puede ser foto-oxidado. Generalmente, los productos de la fotooxidación tienen una vida media de unas pocas horas hasta varios días, ya que se degradan por acción fotolítica o biológica y están expuestos a la disolución y dispersión en la columna de agua (Payne y McNabb, 1984).

En definitiva, la fotooxidación de una mancha superficial de petróleo afecta a la extensión y a la formación de la mousse, pudiendo derivar en la incorporación de los nuevos productos generados a la columna de agua (Mackay y McAuliffe, 1988). A pesar de ello, las concentraciones de los compuestos formados por fotooxidación son relativamente bajas ya que los compuestos hidrosolubles son incorporados a la columna de agua mediante procesos naturales. El proceso de la fotooxidación suele estar comprendido entre las horas posteriores al vertido y un mes aproximadamente. En este trabajo no hay prevista una medida específica de la fotooxidación, puesto que se trata de un proceso minoritario. Su efecto se tendrá en cuenta en tanto en cuanto se suele sumar a los de la biodegradación y la volatilización.

### **5.8. Sedimentación y afección costera**

La sedimentación implica la incorporación del crudo tanto en los sedimentos en suspensión como en los del fondo marino y, normalmente, suele ocurrir con la fracción más pesada del vertido petrolero. En general, el crudo se adhiere a los detritos (partículas que son mezclas de materia orgánica, bacterias y partículas de arcilla). Otra forma de sedimentación también se produce cuando los organismos de la biota marina ingieren partículas del crudo que han sido incorporadas en la columna de agua por dispersión natural. Las gotículas pasan por el organismo sin digerir y son eliminadas como parte de la materia fecal. La sedimentación también ocurre cuando el petróleo se queda varado en la orilla y es incorporado a los sedimentos que a posteriori son transportados a las zonas submareales, caso del vertido del Prestige. El crudo extra pesado o previamente meteorizado puede hundirse directamente hasta el fondo marino sin adsorción previa de sedimentos; este proceso se ve favorecido por la disminución de la densidad del agua debido al influjo de agua dulce (ITOPF, 1987; Neff, 1990).

El proceso de sedimentación es un proceso importante en zonas someras y condiciones de aguas bravas, donde los sedimentos del fondo son puestos en suspensión repetidas veces (Neff, 1990). La sedimentación impide la eliminación del crudo vertido mediante otros procesos de atenuación natural, incluida la biodegradación. Se ha podido comprobar que los hidrocarburos más persistentes en el medio ambiente son los que se incorporaron en algún momento a los sedimentos submareales de los estuarios o aguas costeras (Gundlach et al., 1983), o aquellos que quedaron varados en zonas costeras de baja energía (Hayes et al., 1993). Durante el derrame del Exxon Valdez, el crudo que quedó interstratificado en los sedimentos y en las rocas de las playas permaneció prácticamente inalterado durante los siguientes 5 años (Michel y Hayes, 1996). Un fenómeno muy similar se produjo tras el vertido del Prestige (Galicia, España) en arenales muy extensos como el de la playa de O'Rostro (La Coruña)

Dependiendo de su energía asociada existen diferentes tipos de ámbitos costeros que poseen características que influyen de una manera muy importante en el proceso de sedimentación. Las zonas con una alta energía son más propicias para la cobertura total de zonas rocosas o la interstratificación en arena ('lasaña'). En cambio, las zonas de baja energía (marismas, etc.) no son áreas especialmente expuestas a la sedimentación del crudo, al menos hasta que éste haya sufrido fuertes procesos de meteorización; sin embargo, en las zonas intermareales, el crudo vertido puede quedar en la orilla e ir enterrándose progresivamente

debido a los ciclos deposicionales de la playa. Otro suceso que tiene un potencial significativo para modificar las tasas de sedimentación ocurre cuando el petróleo se libera cerca del fondo del océano, por ejemplo, por un vertido en cabeza de pozo (por problemas con el “árbol de navidad”) o por otros fallos como el de la plataforma Deep Water Horizon en el Golfo de México en 2010. En estos casos durante el ascenso del petróleo a la superficie, se observa la incorporación de los sólidos en suspensión presentes en la columna de agua.

Por último, los vientos, el oleaje y las corrientes marinas influyen en la llegada del petróleo a la costa y favorecen su deposición en ella. La acción de las olas en combinación con los ciclos mareales favorece la sedimentación del petróleo en las playas. Las corrientes también son responsables del transporte del petróleo hasta la costa. Queda así patente que la llegada del petróleo a la costa está condicionada por la distancia de la zona afectada al origen del vertido, por las corrientes, oleajes y vientos predominantes, así como las características del crudo y su capacidad para persistir en el medio.

### **5.9. Degradación biológica**

La biodegradación forma una parte muy importante de la meteorización del crudo, siendo un proceso natural por el cual las bacterias u otros microorganismos alteran y descomponen los hidrocarburos del petróleo, produciendo en algunos casos ácidos carboxílicos y dióxido de carbono (Hoff, 1993).

Una de las observaciones más interesantes de la biodegradación del petróleo es que la tasa de biodegradación relativa de diferentes clases de compuestos es muy similar para todos los tipos de crudos, incluso la velocidad de eliminación de los isómeros dentro de una familia particular de compuestos. Sin embargo, la gran diferencia entre la biodegradación del crudo en un yacimiento y la degradación de un vertido reciente es que el grado en que se eliminan las clases de compuestos en un derrame reciente es mucho más limitado que lo que ocurre en un yacimiento durante millones de años (Paul, R., 2017).

De acuerdo con esto y con estudios geoquímicos previos sobre el destino de los contaminantes orgánicos en medioambiente (Jovančićević et al. 2005; Antić et al. 2006; Ilić et al. 2011) a menudo, los alcanos normales en el rango de C10 a C26 se suelen considerar los que más fácilmente se degradan, pero los aromáticos de bajo peso molecular, como el benceno, tolueno y xileno, catalogados entre los compuestos más tóxicos que se encuentran en el petróleo, son también muy fácilmente biodegradados por muchos microorganismos marinos. Las estructuras más ramificadas son más difíciles de degradar que las cadenas lineales, al producir impedimentos estéricos (Gallego y Sánchez, 2003). Por tanto, cuanto mayor sea la complejidad de la estructura hidrocarbonada, es decir, cuanto mayor sea el número de sustituyentes alquilo o anillos aromáticos condensados, menores serán las tasas de degradación (Atlas, 1995).

Hay que destacar que después de varios meses de exposición del vertido y pese a los significantes cambios en el carácter general del petróleo, los biomarcadores esteranos y terpanos continúan inalterados, demostrando su utilidad para ser usados como herramienta

de correlación entre el petróleo original y el alterado. (Paul, R., 2017). Al cabo de tiempo, las bacterias pueden llegar a biodegradar esteranos y terpanos (Reed, W.E., 1977), en esta circunstancia, se haría necesario la utilización de técnicas más sofisticadas como medio de correlación. Mediante el uso de GC de alta temperatura podemos observar los n-alcenos de hasta C100 (ceras). Se ha demostrado que los hidrocarburos por encima de C45 son muy resistentes a biodegradaciones extremas (Paul, R., 2017), pudiendo utilizarse estas ceras como herramienta de correlación en casos de biodegradación muy extrema.

Comparando la biodegradación de la fracción aromática y saturada conjuntamente (Lichtfouse et al. 1994), se puede decir que generalmente, la fracción aromática es más resistente que la saturada (Volkman et al. 1983; Peters et al. 2005). Sin embargo, como se ha dicho, se ha probado la degradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos individuales. Además, están extensamente estudiados los mecanismos y rutas para la biodegradación de hidrocarburos aromáticos. Davies y Evans (1964) estudiaron que, en condiciones aeróbicas, las bacterias son capaces de descomponer en naftaleno en dióxido de carbono. Además, algunos hongos pueden oxidar el antraceno y el fenantreno (Cerniglia y Yang 1984). Se probó posteriormente, que el mismo proceso afectaba también a otros hidrocarburos policíclicos aromáticos (naftaleno, fluoranteno, pireno, y benzo(a)pireno (Cerniglia 1992). Recientemente, investigaciones más detalladas han llegado a la conclusión sobre los isómeros del fenantreno. Se mostró que, de 29 tipos de bacterias encontradas en el suelo, 11 tipos utilizan metil fenantrenos para su desarrollo. (Lamberts et al. 2008; Novakovic, 2012).

En todo caso, la biodegradación de petróleo en el medio marino se lleva a cabo en su mayoría por diferentes poblaciones bacterianas. Por lo general, en ambientes no contaminados estas bacterias comprenden <1% de la población total. Las bacterias degradadoras utilizan los hidrocarburos que son producidos de forma natural por las plantas, algas y otros organismos vivos, así como otros soportes, como por ejemplo los carbohidratos y las proteínas. En un ambiente marino contaminado por petróleo la proporción de bacterias con potencial degradador a menudo supera el 10% de la población total de bacterias (Atlas, 1995).

La biodegradación es sin duda el proceso más importante en la eliminación del crudo vertido al medio marino, especialmente cuando éste o sus variantes llegan a las costas. La degradación biológica de hidrocarburos en ambientes marinos suele estar limitada por factores abióticos del medio ambiente tales como la disponibilidad de oxígeno molecular, fósforo y nitrógeno. Las tasas de biodegradación del petróleo son insignificantes en sedimentos anaeróbicos, porque el oxígeno molecular es requerido por la mayoría de los microorganismos para el paso inicial en el metabolismo de los hidrocarburos. El oxígeno, sin embargo, no es limitante en los ambientes marinos bien aireados (Atlas, 1995). La disponibilidad del contaminante también es una limitación para la biodegradación; se trata de un factor crítico, más importante que la propia presencia de comunidades microbianas. Para que la degradación de un contaminante pueda producirse es necesario que interactúe con la célula (microorganismo) en medio acuoso, de manera que pueda ser transportado al interior de la misma. La forma más común de transporte es la complejación con enzimas extracelulares producidas por los microorganismos; en esta línea, la producción de surfactantes por los

microorganismos es un factor determinante que facilita la degradación (Gallego y Sánchez, 2003).

Además, en sistemas costeros de alta energía, siguen apareciendo restos de fuel en la costa después de varios años. Esto es debido a que los sistemas de alta energía favorecen ciclos de enterramiento del crudo, a cuatro metros de profundidad, y vuelta a la superficie. Durante este proceso, se observa una clara señal de biodegradación dentro de las fracciones alifática y aromática. Los n-alcanos se agotan totalmente, y los alquilfenantrenos C1 y C2, propuestos para el reconocimiento de fuentes del vertido y evaluación del nivel de meteorización, exhiben una interesante secuencia de eventos de incremento de la biodegradación (Bernabéu et al., 2013). Sin embargo, los triterpenos y esteranos más recalcitrantes aún proporcionan la clave para el reconocimiento de la fuente (Albaigés et al., 2017).

## 6. BIOMARCADORES

Como se ha planteado en los dos apartados anteriores la alteración del crudo, principalmente por biodegradación, tanto en los yacimientos como tras un vertido plantea una sustancial modificación de la composición química. En este contexto una herramienta esencial de estudio son los biomarcadores, compuestos o familias de compuestos que se encuentran tanto en rocas, como en sedimentos y en el petróleo crudo. Los “biomarcadores”, marcadores biológicos o fósiles moleculares son aquellos compuestos muy estables químicamente durante la sedimentación y soterramiento de materia orgánica, o lo que es lo mismo, durante las etapas de generación, expulsión y migración del petróleo; lo cual permite que sean vinculados a algún compuesto precursor presente en los restos de seres vivos del cual derivan, dada la similitud estructural existente entre el precursor biológico y el biomarcador (Peters et al., 2005). Los biomarcadores, por tanto, constituyen una pequeña fracción dentro de la materia orgánica cuyo esqueleto de carbono resiste los procesos de diagénesis y catagénesis. Algunos de ellos son una potente herramienta geoquímica en el campo de la biodegradación por su gran resistencia a la misma, lo cual les hace ideales, bien para comparar crudos biodegradados con otros que no lo están, bien para medir avances en procesos de biorremediación.

Para algunas clases de fósiles moleculares se ha establecido una relación directa precursor-biomarcador, por ejemplo, las vías por las cuales los esteroides son convertidos en esteranos han sido estudiadas en gran detalle y muchas de las reacciones de conversión están bien documentadas (Philp, 1985).

El estudio de los biomarcadores comenzó en 1934 cuando Alfred Treibs identificó y aisló porfirinas de crudos y sugirió que estos compuestos procedían de la clorofila de las plantas; posteriormente, se han realizado gran cantidad de estudios que han conducido a la identificación de numerosos compuestos orgánicos que son utilizados en la caracterización de muestras geológicas. Debido a que los marcadores biológicos pueden ser medidos tanto en crudos como en bitúmenes de rocas madre, estos compuestos se configuran como una herramienta muy importante en correlaciones geoquímicas y pueden ser usados como trazadores para interpretar las características de la roca madre de petróleo cuando sólo se dispone del crudo. Consiguientemente, los biomarcadores son útiles para proveer información sobre el tipo de materia orgánica presente en la roca madre, de las condiciones ambientales durante su deposición y su soterramiento, la madurez térmica de la roca o el crudo, el grado de biodegradación, litología de la roca madre y edad de la misma, así como sobre la migración de petróleo y posibles áreas de exploración (Hunt, 1996).

El establecimiento de correlaciones crudo-crudo y crudo-roca madre hace de la geoquímica orgánica una herramienta de prospección geoquímica fundamental en la evaluación del potencial petrolero de una cuenca sedimentaria. Es importante recalcar el hecho de que un estudio de correlaciones geoquímicas confiable debe estar soportado como mínimo por tres o cuatro parámetros independientes de correlación (Peters y Moldowan, 1993). Otro de los problemas principales es el conocer si distintos yacimientos en una cuenca bajo exploración han sido llenados con crudos procedentes de una o varias rocas madres (Escobar, 1987).

El estudio de la distribución de biomarcadores dentro de la fracción de hidrocarburos saturados y aromáticos del bitumen puede ser considerado como una herramienta importante en el análisis integrado de una cuenca sedimentaria. Sin embargo, estas distribuciones pueden estar afectadas por la madurez térmica, la cual altera el registro de las condiciones de sedimentación de la materia orgánica, por ello está recomendado realizar un análisis previo de madurez térmica (por ejemplo, pirólisis Rock-Eval) con la finalidad de estudiar el alcance y la aplicabilidad de los diferentes biomarcadores.

Los biomarcadores presentes en las muestras geológicas incluyen los hidrocarburos saturados: *n*-alcanos, isoprenoides, triterpanos y esteranos; así como diferentes hidrocarburos aromáticos. Siendo el hidrocarburo isopreno ó 2-metil-1,3-butadieno, compuesto presente en todos los seres vivos, el monómero a partir del cual se origina una amplia variedad de biomarcadores (Mackenzie, 1984).

A continuación, serán tratados en detalle los biomarcadores saturados y aromáticos de especial interés para esta tesis doctoral.

### 6.1. Isoprenoides

Los isoprenoides son moléculas de hidrocarburos saturados con estructura ramificada que están formados por combinaciones de unidades de isopreno (Powell y Mckirdy, 1973). Los isoprenoides regulares están presentes en altas concentraciones en crudos y carbones. Dentro de estos isoprenoides cabe destacar, además del llamado norpristano (2,6,10-trimetilpentadecano), el pristano (2,6,10,14-tetrametilpentadecano) y el fitano (2,6,10,14-tetrametilhexadecano). Estos biomarcadores derivan de la diagénesis de la cadena fitol de la clorofila (Dydik et al., 1978), aunque existen reportadas otras fuentes alternativas para la génesis del fitano y el pristano (Goossen et al., 1984; Frimmel et al., 2004).

En particular, los isoprenoides pristano y fitano han sido utilizados en numerosos estudios de correlación de crudos y extractos de roca madre, ya que la relación entre ambos ha sido empleada como indicador del ambiente deposicional (Philp, 1985). En ambientes reductores (tipo marino), el fitol es hidrogenado para producir dihidrofitol y luego es sometido a un proceso de reducción a partir del cual se obtiene el fitano. Por el contrario, en ambientes más oxidantes (pantanos), el fitol es oxidado a ácido pristénico, que a su vez sufre una descarboxilación oxidativa para producir el isoprenoide pristano. Por tanto, la importancia de estos biomarcadores está en que a partir de la ratio pristano a fitano se pueden identificar las condiciones redox en el ambiente de sedimentación. De tal forma que un valor de la ratio inferior a la unidad sugiere condiciones anóxicas, valores entre uno y tres indican condiciones subóxicas-disóxicas y, si alcanza valores mayores se tienen condiciones óxicas. Además, diversos autores (ten Heaven et al., 1987) plantean el uso de dicha proporción para determinar ambientes de sedimentación hipersalinos. El dato fijado para la ratio pristano a fitano en este caso es menor a 0.6. Sin embargo, para muestras con valores de dicha ratio en el intervalo de 0.8 a 2.5 no se recomienda el uso de este parámetro como indicador de paleoambiente (Peters y Moldowan, 1993). Pese a que la relación pristano a fitano está ampliamente aceptada con los usos anteriormente descritos, presentan ciertas limitaciones que hay que tener en cuenta (Peters et al., 2005). Estas limitaciones son, por ejemplo, el hecho de que la concentración de

estos biomarcadores se puede ver afectada por diferentes procesos durante la diagénesis y la catagénesis, o que en la determinación analítica por cromatografía de gases puede ocurrir la coelución del pristano y otro isoprenoide.

La relación anteriormente descrita, en combinación con las ratios  $Pr/n-C17$  y  $Ph/n-C18$ , ha sido usada en numerosos estudios para obtener información del ambiente deposicional y como parámetros de correlación en estudios de crudos y rocas madres (Alexander, 1981). Variaciones de estas relaciones han sido también empleadas para obtener información acerca de la madurez relativa de las muestras (Mackenzie et al., 1982). Las relaciones  $Pr/n-C17$  y  $Ph/n-C18$  disminuyen con una mayor madurez térmica del crudo, debido a la tendencia creciente de generación de  $n$ -parafinas a partir del querógeno. Estas relaciones, asimismo, aumentan con el progresivo incremento en la biodegradación a bajos niveles, debido a la pérdida de  $n$ -alcanos. Hunt (1996) elaboró un gráfico (Figura I.17) de  $Pr/n-C17$  vs.  $Ph/n-C18$ , el cual permite clasificar crudos y extractos de rocas por su origen, incluyendo además el carácter óxido-reductor de su paleoambiente deposicional.

## 6.2. Alcanos lineales

Los  $n$ -alcanos son hidrocarburos saturados dispuestos en cadenas lineales. Su uso difundido como biomarcadores se debe a que se encuentran ampliamente distribuidos en la mayoría de las muestras geológicas, pueden ser fácilmente detectables a través de cromatografía de gases y proveen información sobre la fuente de materia orgánica y la madurez del sedimento. También se ha postulado que los ácidos grasos normales pueden ser precursores de muchos alcanos normales de peso molecular medio y alto (Philp, 1985). La distribución de  $n$ -alcanos ha sido utilizada como un indicador del ambiente deposicional de la roca madre (Leythaeuser y Welte, 1969). Estudios de correlación han permitido establecer que una distribución de  $n$ -alcanos con un marcado predominio de parafinas lineales en la región del cromatograma de C25 a C35, que exhibe un máximo frecuente en C27 y C29, corresponde a la materia orgánica de tipo continental derivada de plantas superiores. Por otra parte, un predominio de  $n$ -parafinas ( $n$ -alcanos) en el intervalo C12-C20, con un máximo en C15 y C17, ha sido vinculado a la materia orgánica marina, con presencia de fitoplancton y algas marrones, entre otros (Philp, 1985).

A medida que aumenta la madurez, la distribución de alcanos lineales se ve modificada; además, el tamaño de los  $n$ -alcanos dominantes tienden a convertirse en  $n$ -alcanos de más bajo número de carbonos, hasta el punto en que solo se producen condensados de hidrocarburos ligeros y/o metano (Philp, 1985).

Además de la materia orgánica precursora y madurez, la biodegradación puede también influenciar la distribución de  $n$ -alcanos en el petróleo crudo. Las etapas iniciales de la biodegradación están caracterizadas por la remoción de  $n$ -alcanos de bajo peso molecular, seguidas por los alcanos lineales en el intervalo C16 a C25 y, finalmente, los superiores a C25. La relativamente rápida remoción de los  $n$ -alcanos por biodegradación reduce su utilidad como herramienta de correlación (Nakasone, 1999).

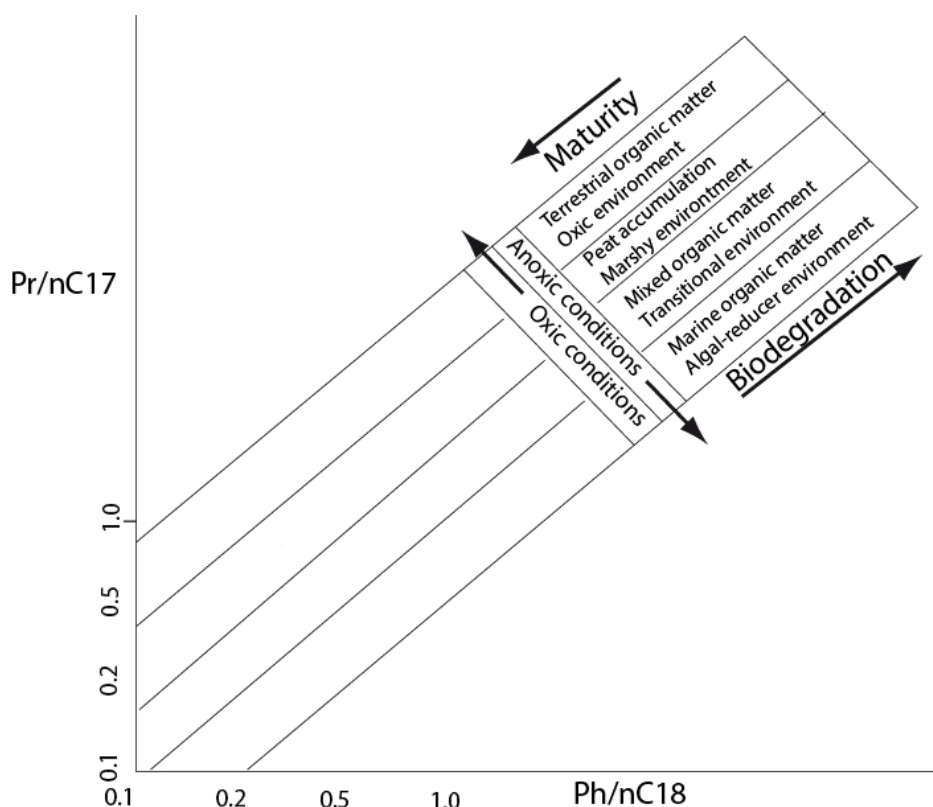


Figura I.17: Gráfico pristano/heptadecano vs. fitano/octadecano (modificada de Hunt, 1996).

### 6.3. Triterpanos

Los terpanos son biomarcadores importantes a la hora de establecer el tipo de materia orgánica, grado de madurez, biodegradación, etc. Se clasifican en función del número de unidades isoprénicas en monoterpenoides (1), sesquiterpenoides (3), diterpenoides (4), seterpenoides (5) y triterpenoides (6). La mayoría de los terpanos encontrados en el petróleo proceden de lípidos de membranas celulares, incluyen diversas series homologas que serán descritas en lo sucesivo. La distribución de las diversas series de triterpanos es mostrada en el fragmentograma correspondiente al ión 191, y puede usarse para fines de correlación, debido tanto a que los triterpanos están presentes en casi todos los crudos como a que las rocas madres depositadas en condiciones similares presentan una distribución de triterpanos muy parecida (Peters et al., 2005).

- *Triciclopiprenanos*, errónea pero comúnmente llamados “terpanos tricíclicos”, cuyos compuestos precursores son constituyentes de las membranas de procariotas y algas (Ourisson et al., 1982). La serie de los triciclopiprenanos aparece fundamentalmente en el intervalo C19 a C30. Se ha propuesto un precursor C30 para estas series que podría ser el triciclohexaprenol, formado a su vez anaeróbicamente a partir de un compuesto conocido como hexaprenol (Philp, 1985). Los triciclopiprenanos presentan una resistencia muy alta a los procesos secundarios tales como la biodegradación (Peters et al., 1990). Esta resistencia los hace unos magníficos indicadores de madurez y muy útiles en la determinación de crudos

marinos biodegradados dada la procedencia marina de estos terpanos (Aquino Neto et al., 1982).

- *Triterpanos tetracíclicos*, originados a partir de la alteración biológica o térmica del anillo terminal de triterpanos pentacíclicos hopanoides (Philp, 1985). Varios terpanos tetracíclicos en el intervalo C24-C27 están asociados a ambientes con aporte de materia orgánica terrestre en condiciones oxidantes (Philp y Gilbert, 1986; Clark y Philp, 1989).

- *Triterpanos pentacíclicos*, son los biomarcadores más extendidos en la biosfera, ya que proceden de compuestos que forman organismos procariontes, bacterias, cianobacterias, líquenes y plantas superiores. Estos compuestos de alta complejidad molecular han sido usados como indicadores de origen, madurez, migración y biodegradación. Tradicionalmente han sido divididos en dos grupos: hopanoides y aquellos otros que no tienen una estructura tipo hopano (Hunt, 1996).

Los triterpanos hopanoides son marcadores biológicos encontrados en el petróleo crudo, y sus precursores están ampliamente distribuidos en bacterias y cianobacterias (algas verde-azules). También han sido encontrados en árboles tropicales, líquenes y helechos. Dos precursores comúnmente aceptados para los hopanoides son el diplopteno y el C25 tetrahidroxihopano (Philp, 1985).

Los compuestos hopanoides precursores que existen en los organismos vivos tienen la configuración biológica  $17\beta(H)$   $21\beta(H)$ , menos estable térmicamente que la estereoquímica  $17\alpha(H)$   $21\beta(H)$  propia de los hopanos normales. La diagénesis temprana del material orgánico que contienen dichos precursores conduce a altas concentraciones de hopanos  $17\beta(H)$   $21\beta(H)$  en el caso de las muestras menos maduras. Sin embargo, la distribución de hopanos cambia con el incremento en la madurez, siendo predominante la configuración geológica  $17\alpha(H)$   $21\beta(H)$ , termodinámicamente más estable a temperaturas más altas, en la mayoría de crudos y rocas madre maduras (Peters et al., 2005). Al mismo tiempo, ocurre la formación de otra serie análoga a la de los hopanos normales, la cual presenta la configuración  $17\beta(H)$   $21\alpha(H)$  y es conocida por la denominación de "moretanos"; los cuales son usados como indicadores de madurez en ambientes no hipersalinos (Hunt, 1996).

Además, y a medida que el nivel de madurez aumenta, los epímeros 22S y 22R de los homohopanos o hopanos normales extendidos van aproximándose a una relación de equilibrio correspondiente a una mezcla 3:2 (Philp, 1985). Por ello, las proporciones de 22R y 22S pueden ser determinadas para todos los homohopanos C31 a C35 o para alguno específicamente. Esta relación se ve incrementada desde 0 hasta 0.6 durante la maduración por la mayor estabilidad térmica del isómero 22S en comparación con el 22R. El valor de equilibrio de la isomerización 22S/22R se alcanza en una etapa temprana de generación de petróleo, por tal motivo este parámetro no puede ser usado en muestras muy maduras (Farrimond et al., 1998). Por tanto, los cambios en la distribución de hopanos con la madurez han sido usados para indicar si una roca madre es lo suficientemente madura para generar petróleo. Para que una

roca madre sea o haya sido efectiva, la distribución de hopanos necesita ser similar a aquella que presenta un crudo, es decir, si los extractos de roca contienen grandes cantidades de  $17\beta(H)$   $21\beta(H)$  hopanos y un predominio del epímero  $22R$ , es improbable que la roca haya alcanzado suficiente madurez para haber generado petróleo (Seifert y Moldowan, 1978).

La distribución de homohopanos se usa también como marcador del paleoambiente deposicional. En condiciones reductoras, se preserva el precursor  $C35$  bacteriopanetrol, mientras que en ambientes oxidantes se reduce disminuyendo la longitud de su estructura (Hunt, 1996). La distribución relativa de los homohopanos normales en petróleos es usada como indicador del potencial redox durante e inmediatamente después de la deposición de los sedimentos de la roca madre. El índice de homohopanos es la relación  $C35/ (C31 \text{ a } C35)$  y, usualmente, se expresa en porcentaje. Petróleos crudos y bitúmenes de madurez similar que muestran alta concentración de homohopanos  $C35$ , comparada con sus homólogos más bajos, se relacionan con ambientes marinos altamente reductores (bajo Eh) con poco oxígeno libre disponible. Se debe tomar en cuenta que este índice puede verse afectado por cambios en la madurez (Peters et al., 1990).

Otros biomarcadores importantes dentro de esta familia son el trisnorhopano (Tm), que se forma por la pérdida de tres carbonos en las posiciones 22, 29 y 30 del hopano normal, y el  $18\alpha(H)$ -22,29,30-trisnorneohopano (Ts), más estable térmicamente que el anterior. La ratio Ts/Tm es utilizada como indicador de madurez siempre y cuando se aplique en crudos derivados de una roca madre común y del mismo tipo de facies orgánicas. No obstante, dicha ratio presenta anomalías en rocas carbonáticas y ambientes hipersalinos (Peters et al., 2005).

Entre los triterpanos que no tienen una estructura tipo hopano destacan el oleanano y el gammacerano. El oleanano se asocia a la materia orgánica terrestre (angiospermas) del Cretácico Tardío o etapas posteriores (Hunt, 1996). Presenta dos isómeros ( $\beta$  y  $\alpha$ ), aunque el  $18\alpha(H)$ -oleanano es el más significativo, dada su mayor estabilidad (Alberdi y López, 1996). El gammacerano, a su vez, es típico de ambientes hipersalinos por estratificación de la columna de agua, y se cree que es derivado del tetrahimanol (Hunt, 1996).

La biodegradación también afecta a los hopanos, pudiendo conducir a la formación de hopanos desmetilados ó 25-norhopanos si el grupo metil es removido del anillo A o B del sistema hopano (Seifert y Moldowan, 1978). El ión 177, en vez del ión 191, puede ser usado para monitorear la presencia de 25-norhopanos (Peters et al., 2005).

#### 6.4. Esteranos

Los esteranos son compuestos derivados de esteroides que, a su vez, están ampliamente distribuidos en la biosfera; destacando el esteroide  $C27$  o colesterol, principal

esteroide presente en las algas rojas; el homólogo C28 o ergosterol, abundante en algas verdes de agua dulce; así como el esteroide C29 o fucosterol, dominante en plantas superiores (Mackenzie et al., 1982). Sin embargo, Cassani et al. (1988a) mencionan que en algunos crudos marinos el predominio del homólogo C29 puede atribuirse a la contribución de algas marrones o verdes u otros organismos marinos. Variaciones en el patrón sustituyente de la cadena lateral y en la estereoquímica de los esteroides pueden usarse como un indicativo más específico de los organismos precursores (Peters et al., 2005).

Por otro lado, los esteroides existentes en los organismos vivos generalmente contienen un enlace doble y se presentan como epímeros 20R con la configuración biológica 14 $\alpha$ (H) 17 $\alpha$ (H), característica de los esteroides regulares. Con el avance de la diagénesis, el doble enlace es hidrogenado, originándose un nuevo carbono anomérico y la consiguiente mezcla de dos isómeros 5 $\alpha$ (H) y 5 $\beta$ (H). Asimismo, la configuración 14 $\beta$ (H) 17 $\beta$ (H), propia de la serie de los isosteroides, adquiere mayor importancia con la madurez (Philp, 1985). En ambas series existe un predominio de la estereoquímica 5 $\alpha$ (H) debido a su mayor estabilidad térmica, de manera que los epímeros 5 $\beta$ (H) están presentes en menores cantidades y generalmente están enmascarados (Hunt, 1996).

Los esteroides regulares presentan dos isómeros: 20R, isómero biológico estable durante la diagénesis, y 20S; observándose el incremento de la relación 20S/(20S+20R) desde 0 hasta 0.5 con el aumento de la madurez por la mayor estabilidad térmica del isómero 20S en comparación con el 20R. Si bien los esteroides precursores sólo presentan la configuración biológica, conforme aumenta la madurez los epímeros 20S y 20R de los esteroides regulares van aproximándose a una relación de equilibrio correspondiente a una mezcla 1:1 (Philp, 1985). Para ello se utiliza los esteroides regulares C29 debido a su fácil identificación en el fragmentograma correspondiente el ión 217. Las proporciones de 20R y 20S pueden ser afectadas por factores diferentes a la madurez, como la facies orgánica y la biodegradación, esta última reflejada en valores de la relación 20S/(20S+20R) por encima de 0.55 debido a la remoción selectiva del epímero 20R (Seifert y Moldowan, 1986). Asimismo, la isomerización con la madurez en las posiciones 14 y 17 en los esteroides C29, 20S y 20R, se traduce en un incremento progresivo de la ratio de isosteroides a esteroides regulares ( $\beta\beta/\alpha\alpha$ ) hasta alrededor de 0.7, debido a la mayor estabilidad térmica de la configuración 5 $\alpha$ (H) 14 $\beta$ (H) 17 $\beta$ (H) en comparación con la de los isómeros biológicos 5 $\alpha$ (H) 14 $\alpha$ (H) 17 $\alpha$ (H). Esta última relación es independiente del tipo de materia orgánica y alcanza su valor de equilibrio más tarde que la relación 20S/(20S+20R), siendo por tanto más efectiva a niveles más altos de madurez (Farrimond et al., 1998).

La proporción relativa en la que se presentan los esteroides C27, C28 y C29 en un crudo o bitumen permite inferir el tipo de materia orgánica precursora (Figura I.18). Así, si una alta proporción relativa de los esteroides C29 en comparación con las correspondientes sus homólogos C28 y C27 puede ser asociada a materia orgánica terrígena o algas marrones. Si C27 predomina sobre los otros dos predomina la materia orgánica marina. Si el C28 esteroide es el mayoritario estamos ante una materia orgánica precursora lacustre (Hunt, 1996).

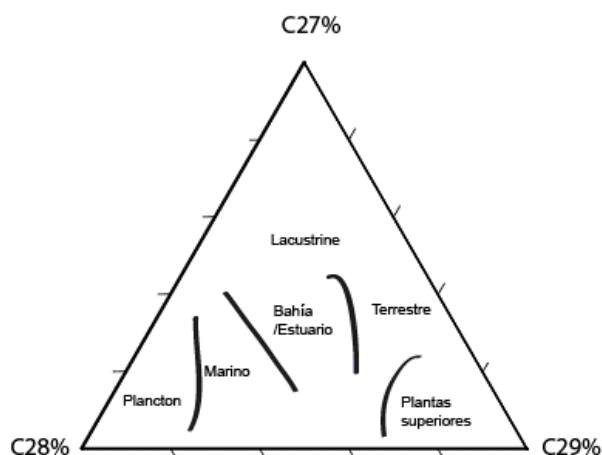


Figura I.18: Diagrama ternario de esteranos regulares C27, C28 y C29

### 6.5. Biomarcadores aromáticos

Los biomarcadores aromáticos son ampliamente utilizados para determinar la litología de la roca madre y el tipo de materia orgánica precursora, así como indicadores de madurez térmica de crudos y bitúmenes extraídos de rocas madres. La abundancia de estos compuestos en el petróleo crudo se debe a transformaciones complejas de productos precursores naturales nafténicos y olefínicos (Peters et al, 2005).

Los biomarcadores aromáticos más estudiados pertenecen a las series de los fenantrenos (Radke et al., 1982), esteroides aromáticos (Peters et al., 2005), dibenzotiofenos (Hughes, 1984) y bifenilos (Trolio et al., 1999). Se ha demostrado que, en el intervalo correspondiente a la ventana del petróleo, las relaciones entre diversos homólogos de estas familias de compuestos aromáticos cambian en una forma regular con el incremento en la madurez térmica de la materia orgánica. Entre ellos destacan las siguientes familias.

- *Esteroides aromáticos*, los cuales se dividen en dos grupos, monoaromáticos y triaromáticos. Mientras los primeros pueden derivarse de los esteroides durante la diagénesis temprana (Moldowan y Fago, 1986) y son observados en el fragmentograma del ión 253 en la fracción aromática; los segundos (ión 231) aparecen por procesos de aromatización y pérdida de los radicales de los esteroides monoaromáticos durante la maduración térmica (Mackenzie et al., 1982). Unos y otros son utilizados como parámetros de la madurez térmica, siendo especialmente útil la ratio de triaromáticos  $C_{20}/(C_{20}+C_{28}+C_{20R})$ , o ratio TA, a valores de madurez próximos al pico de la ventana de petróleo (Peters et al, 2005).
- *Fenantrenos* ( $m/z$  178+192), compuestos originados a partir de esteroides y triterpenoides presentes en el material biológico de partida, o bien derivados del propio fenantreno, que son usados fundamentalmente como indicadores de madurez térmica de la materia orgánica en carbones, crudos y bitúmenes de rocas madres de hidrocarburos (Radke et al., 1986). Asimismo, y aunque con importantes limitaciones por ser muy sensibles a la madurez térmica, la abundancia de 9-metilfenantreno se ha relacionado con crudos y bitúmenes de origen marino, mientras un origen terrígeno

supondría la abundancia de 1-metilfenantreno (Budzinski et al., 1995). Estos biomarcadores se relacionan en el “índice de metilfenantrenos” (MPI1), parámetro que se basa en la distribución del compuesto fenantreno y de sus homólogos metilados, la cual muestra un cambio progresivo durante la maduración térmica de la roca madre (Radke et al., 1982). Al aumentar la madurez, ocurre un incremento de los metilfenantrenos isómeros 2 y 3 frente a sus isómeros 1 y 9, dada la configuración energética menos estable con la madurez térmica de estos últimos. El índice de metilfenantreno (MPI1) exhibe buena correlación lineal con la reflectancia de la vitrinita en crudos y bitúmenes derivados de querógenos tipo III a cualquier temperatura, pero no sucede igual para otros tipos de querógenos (Cassani et al., 1988b). Siendo la ratio de la suma de los metilfenantrenos 2 y 3 a la suma del fenantreno y los otros dos metilfenantrenos igual a dos tercios del índice de metilfenantreno (MPI1).

Asimismo, Radke y Welte (1983) postularon dos ecuaciones para calcular valores de la reflectancia de la vitrinita ( $R_c$ ) a partir de datos de MPI1:

$$R_c = 0.6 \text{ MPI1} + 0.4 \quad (0.65 < R_c < 1.35) \quad \text{y} \quad R_c = -0.6 \text{ MPI1} + 2.3 \quad (1.35 < R_c < 2.00)$$

La idea es que el valor de MPI1 determinado sobre una muestra de crudo o bitumen permita conocer la reflectancia de vitrinita para la correspondiente roca madre. El índice MPI1 puede ser particularmente útil para conocer la madurez de la materia orgánica en margas y calizas donde las partículas de vitrinita son escasas, tal es el caso de querógenos tipo I y algunos del tipo II (Tissot y Welte, 1984). Un parámetro similar al MPI1 es la “ratio de metilfenantrenos” (MPR) o cociente entre los metilfenantrenos 2 y 1; existiendo una ecuación para calcular valores de la reflectancia de la vitrinita ( $R_c$ ) a partir de datos de MPR (Radke et al., 1982).

- *Dibenzotiofenos* ( $m/z$  184+198), compuestos aromáticos formados por dos anillos bencénicos unidos a un heterociclo con átomo de azufre. La abundancia de los metildibenzotiofenos varía con la madurez, siendo el isómero 1 menos estable térmicamente (Santamaria et al., 1998). Asimismo, la distribución de los dibenzotiofenos metilados puede ser empleada como un indicador de la litología de la roca madre; de tal manera que para una roca siliciclástica, la distribución sería del tipo “escalera” (4-metil > 2,3-metil > 1-metil), mientras que una distribución del tipo “valle” (4-metil > 2,3-metil < 1-metil) sería para una roca rica en carbonatos (Hughes, 1984). No obstante, cualquier litología puede presentar una distribución del tipo “escalera” debido a procesos de biodegradación (Galarraga et al., 2010) y/o valores de la madurez térmica superiores a 0.8 % (Radke, 1998).

Por último, la relación de dibenzotiofeno a fenantreno (DBT/P) resulta ser excelente indicador de la litología de la roca madre, teniendo en cuenta que valores mayores a la unidad indican roca carbonatada, mientras los valores menores a uno, lutitas. Es más, si se representa gráficamente dicha relación en función de la ratio

pristano/fitano se tiene una herramienta muy efectiva a fin de indicar la litología y ambiente deposicional de una roca madre; permitiendo clasificar las muestras en cinco grupos (1A, 1B, 2, 3 y 4). Tal clasificación (Figura I.19) se hace posible debido a que estas relaciones reflejan los regímenes de Eh-pH que resultan de los procesos microbiológicos y químicos que ocurren durante la sedimentación y la diagénesis de la materia orgánica (Hughes et al., 1995).

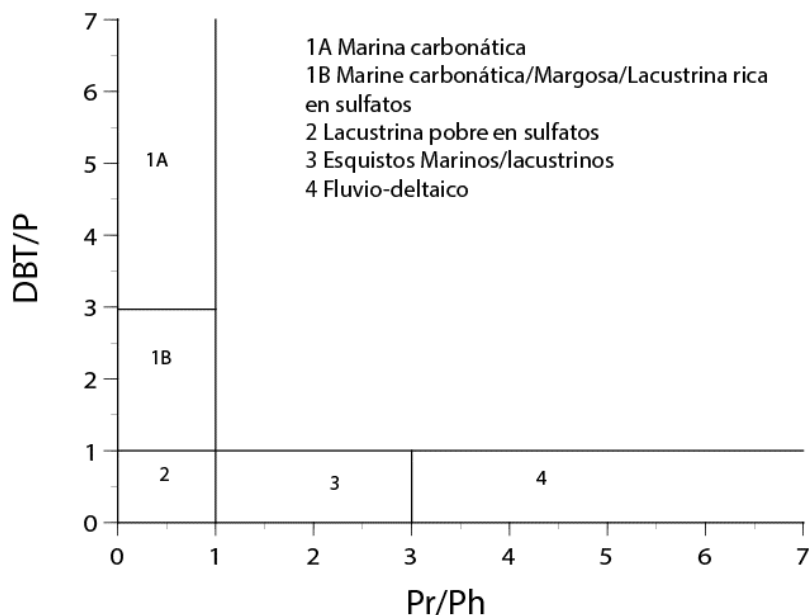


Figura I.19: Gráfico dibenzotiofeno/fenantreno vs. pristano/fitano

## 6.6. Uso de biomarcadores en seguimientos de vertidos.

Las relaciones entre determinados biomarcadores individuales o grupos de éstos se suelen comparar con el fin de definir relaciones de diagnóstico en el caso de vertido de productos petrolíferos. Los criterios de selección se basan en la abundancia en el combustible original, la facilidad de identificación en los cromatogramas y representación de algunas de las familias más importantes en crudos y fuelóleos. Con el fin de eliminar la respuesta variable del espectrómetro de masas para diferentes iones, la mayoría de las relaciones usadas se basan en compuestos individuales registrados al mismo ion (con la excepción de las ratios que incluyen hidrocarburos policíclicos aromáticos). Las relaciones diagnosticas comúnmente utilizadas para la identificación de los vertidos se exponen en la Tabla I.3. Además, otras relaciones diagnosticas “informativas” se utilizan para elucidar los cambios producidos por exposición ambiental y se describen a continuación de la tabla. En conjunto, estas relaciones evalúan la contribución de la volatilización, la biodegradación y la fotodegradación a la atenuación natural del producto derramado. La mayor parte de las relaciones o ratios que se citan en los siguientes puntos están basadas en experiencias anteriores del grupo de trabajo en el que se ha realizado esta tesis doctoral (Gallego et., 2006; Gallego et al., 2007a; Gallego et al., 2007b), forman parte de la bibliografía más habitual, o bien se han probado en trabajos aún inéditos.

Ratios de alcanos			Ratios de Biomarcadores		
1	C17/Pr	n-hetadecano/ pristano	13	27Ts/30ab	18 $\alpha$ (H)-22,29,30-trisnorhopano/17 $\alpha$ (H),21 $\beta$ (H)-hopano
2	C18/Ph	n-octadecane/ fitano	14	27Tm/30ab	17 $\alpha$ (H)-22,29,30-trisnorhopano/17 $\alpha$ (H),21 $\beta$ (H)-hopano
3	Pr/Ph	pristano/fitano	15	28ab/30ab	17 $\alpha$ (H)-21 $\beta$ (H)-28,30-bisnorhopano/17 $\alpha$ (H),21 $\beta$ (H)-hopano
Ratios de PAH			16	29ab/30ab	17 $\alpha$ (H)-21 $\beta$ (H)-30-norhopano/17 $\alpha$ (H),21 $\beta$ (H)-hopano
4	4-MD/1-MD	4-metildibezotiofeno/4-metildibezotiofeno	17	30O/30 ab	18 $\alpha$ (H)-oleanano/17 $\alpha$ (H),21 $\beta$ (H)-hopano
5	2-MP/1-MP	2-metilfenantreno/1-metilfenantreno	18	31abS/30ab	17 $\alpha$ (H)-21 $\beta$ (H)-22S-homohopano/17 $\alpha$ (H),21 $\beta$ (H)-hopano
6	2-MFI/4-MPy	2-metilfluoranteno/4-metilpireno	19	30G/30ab	gammacerano/17 $\alpha$ (H),21 $\beta$ (H)-hopano
7	B(a)F/4-MPy	benzo(a)fluoreno/4-metilpireno	20	27dbR/27dbS	13 $\beta$ (H)-17 $\alpha$ (H),20R-colestano/13 $\beta$ (H)-17 $\alpha$ (H),20S-colestano
8	B(B+C)F/4-MPy	benzo(b+c)fluoreno/4-metilpireno	21	27bb/29bb	5 $\alpha$ (H),14 $\beta$ (H),17 $\beta$ (H), 20 (R+S)-colestano/24etil5 $\alpha$ (H),14 $\beta$ (H),17 $\beta$ ,20(R+S)-colestano
9	2-MPy/4-MPy	2-metilpireno/4-metilpireno	22	SC26/RC26+SC27	C26,20S-esteranotriaromatico/C26,20R+C27,20S-esteranotriaromatic
10	1-MPy/4-MPy	1-metilpireno/4-metilpireno	23	SC28/RC26+SC27	C28,20S-esteranotriaromatico/C26,20R+C27,20S-esteranotriaromatic
11	Reteno/TPM	reteno/tetrametil-fenantreno	24	RC27/RC26+SC27	C27,20R-esteranotriaromatico/C26,20R+C27,20S-esteranotriaromatic
12	BNT/TMP	benzo(b)nafto(1,2-d)tiofeno/tetrametilfenantreno	25	RC28/RC26+SC27	C28,20R-esteranotriaromatico/C26,20R+C27,20S-esteranotriaromatic

Al margen de lo indicado en la tabla presedente, lo habitual es que para los estadios iniciales de degradación los isoprenoides (Pristano y Fitano) sean útiles para el seguimiento de la degradación de los *n*-alcanos (Gallego et al., 2006). Sin embargo, para estadios más avanzados, se utiliza el 17 $\alpha$ (H), 21 $\beta$ (H),-30-hopano como estándar interno de normalización (Bragg et al., 1994; Prince et al., 1994; Pollard et al.,1999; Peters y Moldowan, 2004), debido a que presenta muy baja solubilidad, biodegradabilidad y volatibilidad garantizando su presencia en los productos residuales en las costas.

- Índices con isoprenoides: C17/pristano, C18/fitano, C17 + C18/pristano+ fitano, C30 + C31 + C32 + C33/pristano + fitano.
- Índices con Hopanos: C17 + C18/17a21b hopano, C30 + C31 + C32 + C33/17a21b hopano, Pristano + Fitano /17a21b hopano,  $\Sigma$  (C1-APH + C2-APH) /17a21b hopano,  $\Sigma$ C2-DBT/17a21b hopano, Pireno/17a21b. \*APH:antracenos y fenentrenos, DBT:dibenzotiofeno.
- Otros ratios para evaluar el grado de meteorización
  - Pr/Ph (Pristano vs. Fitano) (Gallego et al 2006): Se trata de un indicador secundario de la meteorización de las muestras.

- MPR (ratio entre los isómeros metilfenantrenos), definida como el cociente entre la suma (3-MPhe + 2MPhe) y la suma (9-4MPhe + 1MPhe). (Brackstad et al., 2014).
- DMPR (ratio entre los isómeros dimetilfenantrenos), definida como el cociente entre la suma (3,5+2,6+2,7 DMPhe) y la suma (1,3+3,9+2,10+3,10+1,6+2,9+2,5 DMPhe). (Brackstad et al., 2014).

## 7. CORRELACIONES GEOQUÍMICAS

Basadas generalmente en el uso de biomarcadores, las correlaciones geoquímicas muestran las relaciones genéticas entre crudo-crudo y crudo-roca madre en base a parámetros moleculares. El análisis isotópico también es una herramienta muy eficaz para el estudio de correlaciones. Las correlaciones geoquímicas se usan en la industria petrolera con el fin de identificar sistemas petroleros, definir almacenes potenciales que aumenten la producción y para reconocer indicios de contaminación medioambiental por hidrocarburos y su remediación (Peters et al., 2005).

Uno de los límites que tienen las correlaciones geoquímicas es distinguir los efectos de la roca madre (aporte de materia orgánica y ambiente de sedimentación) de aquellos producidos por la madurez. Debido a este problema, los datos geoquímicos de mayor fiabilidad se extraen de los biomarcadores, puesto que son resistentes a los procesos secundarios y proporcionan información específica sobre el origen, el ambiente deposicional y la madurez de la materia orgánica (Tissot y Welte, 1984). Tal información se obtiene por cromatografía de gases y espectrometría de masas de las fracciones de compuestos saturados y aromáticos. Además de los biomarcadores o marcadores biológicos, se puede obtener información útil a través de parámetros isotópicos como ya se mencionó o bien por relaciones entre hidrocarburos alifáticos e hidrocarburos aromáticos.

### 7.1 Correlaciones crudo-crudo

Las correlaciones crudo-crudo se basan en el establecimiento de las relaciones existentes entre muestras de diferentes crudos, "tars", o bolas de alquitrán y se realizan por comparación de una serie de características composicionales que han sido previamente determinadas. Este tipo de correlaciones requieren parámetros que distingan crudos de diferentes fuentes y que sean resistentes a procesos secundarios. Los biomarcadores son la herramienta principal usada para este tipo de correlaciones; la distribución de los mismos genera una huella o patrón característico y propio en cada crudo, lo cual facilita la comparación entre muestras (Peters y Moldowan, 1993).

### 7.2 Correlaciones crudo-roca madre

Las correlaciones crudo-roca madre están basadas en el concepto de que ciertos parámetros del crudo son heredados de la correspondiente roca madre. Esta relación proporciona información útil sobre el origen y el posible patrón de migración (Peters et al., 2005). Además de las ratios de determinados metales y las proporciones de petroporfirinas u otros componentes del petróleo, los compuestos de las familias de los esteranos y triterpanos son muy interesantes para establecer correlaciones de este tipo, ya que sus distribuciones y relaciones no presentan grandes diferencias entre el bitumen extraído y los crudos provenientes de estas rocas (Hunt, 1996).

### 7.3. “GC-MS fingerprinting”

Como ya se ha indicado anteriormente, la metodología empleada cuando se produce un vertido petrolero se conoce como “fingerprinting”. En un sentido general las técnicas de “fingerprinting” son más extensas e incluyen las aproximaciones que pueden ser aplicadas para la correlación e interpretación de gran cantidad de información analítica (Petrisor, 2005).

El análisis de las sustancias químicas presentes en los vertidos de petróleo puede llevarse a cabo mediante los métodos analíticos estandarizados por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (US-EPA, “United States Environmental Protection Agency”); aunque estos métodos EPA resultan inadecuados en ocasiones debido a que solamente unos pocos compuestos químicos aparecen como analitos, por lo que los investigadores han desarrollado nuevas metodologías para caracterizar minuciosamente la naturaleza y evolución de la contaminación por productos petrolíferos mediante el análisis de los biomarcadores.

La cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (GC-MS) es la herramienta analítica más habitual para la investigación y estudios relacionados con la química ambiental en el caso de contaminantes orgánicos. Esto es debido a que es capaz de determinar componentes individuales en mezclas complejas.

Además, también es posible colocar un dispositivo pirolizador delante del sistema GC-MS (Py/GC-MS, “Pyrolysis Gas Chromatography-Mass Spectrometry”) que ayude a obtener una más amplia información analítica. Esta técnica se usa generalmente para analizar fracciones complejas de la materia orgánica que no son directamente analizadas por GC-MS. Durante la pirolisis, la materia orgánica se somete a una temperatura elevada y se fragmenta en pequeños trozos que pueden ser analizadas mediante GC-MS. Una descripción más detallada de estas técnicas analíticas y su aplicación se hace en capítulos posteriores de esta tesis.

El análisis de biomarcadores es la clave para el estudio forense de muestras de vertidos de hidrocarburos y para la evaluación de la atenuación natural como ya ha descrito en el apartado 6.6. En efecto, algunas relaciones entre compuestos biomarcadores no son alteradas por los procesos secundarios en el medio ambiente; lo cual permite la identificación del origen del vertido. En definitiva, las que podríamos llamar relaciones diagnósticas entre compuestos recalcitrantes nos permiten identificar muestras con un mismo origen a pesar de haber sufrido procesos de degradación. Por otro lado, determinadas relaciones entre diferentes biomarcadores se ven alteradas por los procesos de alteración secundarios. Así, la evaluación de estas relaciones con el tiempo permite ver como los procesos de atenuación natural está afectando al vertido.

## 8. ISÓTOPOS ESTABLES DEL CARBONO

La isotopía del carbono se fundamenta en el estudio de fracciones de crudos y compuestos específicos tales como los biomarcadores (Whiticar, 1996). El carbono en el planeta Tierra se concentra fundamentalmente en la atmósfera, siendo fijado por los organismos mediante reacciones biológicas; siendo dos los isótopos estables del carbono en la naturaleza:  $^{12}\text{C}$  (98,894%) y  $^{13}\text{C}$  (1,106 %). Los compuestos de carbono de origen biológico están enriquecidos relativamente en el isótopo más liviano ( $^{12}\text{C}$ ), mientras que el isótopo pesado ( $^{13}\text{C}$ ) es retenido en las formas principales del carbono inorgánico, tales como carbonatos, bicarbonatos y dióxido de carbono (Galimov, 2006). En las plantas terrestres el fraccionamiento isotópico del carbono está vinculado a los procesos de transporte, fijación y difusión en el aire del anhídrido carbónico. Estos procesos han permitido que la composición isotópica del  $^{13}\text{C}$  no haya variado significativamente en el tiempo geológico (Alberdi y Toro, 1993).

En base a lo anteriormente expuesto, los isótopos de carbono proveen información importante sobre el origen y procesos sufridos durante la maduración de la materia orgánica soterrada, de manera que sus moléculas constituyentes sufren cambios fisicoquímicos que originan el fraccionamiento isotópico del carbono. Estos procesos favorecen el isótopo más pesado ( $^{13}\text{C}$ ) con el aumento de la madurez (Peters et al., 2005). Los cambios isotópicos asociados a la madurez son más evidentes en hidrocarburos ligeros que en querógenos y crudos (Whiticar, 1996).

Para la determinación de la materia orgánica precursora mediante los isótopos de carbono se usa un parámetro estadístico denominado “variable canónica” (VC). Con esta variable se puede establecer una diferencia entre crudos procedentes de materia orgánica marina y terrestre. Según Sofer (1984), la relación isotópica para crudos terrestres y marinos se determina mediante las siguientes formulas:

$$\delta^{13}\text{CARO} = 1.12 \delta^{13}\text{CSAT} + 5.45 \text{ (para crudos terrestres)}$$

$$\delta^{13}\text{CARO} = 1.10 \delta^{13}\text{CSAT} + 3.75 \text{ (para crudos marinos)}$$

Formalizándose por la fórmula de VC como:

$$\text{VC} = -2.53 \delta^{13}\text{CSAT} + 2.22 \delta^{13}\text{CARO} - 11.65$$

Un valor de VC menor o igual a 0.47 es propio de crudos marinos, mientras que para valores superiores o iguales a 0.47 se trata de un crudo terrestre.

La caracterización isotópica de crudos ha sido reportada por diversos autores (Schoell, 1988; entre otros) mediante estudios gráficos y estadísticos usando el fraccionamiento isotópico de las muestras. En este sentido, se observó que las fracciones SARA presentan un enriquecimiento progresivo de  $^{13}\text{C}$  en las fracciones más polares, por lo que propuso como técnica de correlación las curvas isotópicas. Esta técnica demuestra que crudos con curvas isotópicas similares están relacionados genéticamente (Stahl, 1978).

La maduración térmica cambia poco la huella isotópica del petróleo crudo (Tocque et al., 2005). A bajos niveles de madurez los crudos son isotópicamente más ligeros, pero posteriormente se enriquecen en  $\delta^{13}\text{C}$  (Lorant et al., 1998). No obstante esta variación suele ser inferior al 1 ‰ (Galimov, 2006).

El efecto de la biodegradación en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  varía con el grado de extensión la misma (Galimov, 2006) y tiende hacia valores menos negativos (Peters et al., 2005). Asimismo, la variación entre los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  de las fracciones de saturados y aromáticos con este proceso secundario puede ser mínima (Mansuy et al., 1997) o de hasta el 4 ‰ (Kodina y Galimov, 1984; Galimov y Frik, 1985).

Se ha demostrado la eficacia de la medición de isotopos en gases y petróleos durante la década de los setentas y ochentas (Stahl 1978; Sofer 1984). Sin embargo, el uso de la composición isotópica de compuestos específicos (compuestos ligeros, n-alcános o biomarcadores) es menos habitual. Sin embargo, estos datos nos aportan información valiosa para distinguir familias de petróleos, llevar a cabo correlaciones petróleo-petróleo y petróleo-roca madre y un mejor entendimiento de los procesos dentro del yacimiento.

La biodegradación elimina los  $^{12}\text{C}$ , enriqueciendo los hidrocarburos en  $^{13}\text{C}$  (Stahl 1980; Clayton 1991; Odden et al. 2002; Jones et al. 2008). El impacto de la biodegradación sobre el análisis isotópicos de las muestras totales de petróleo es pequeño, pero, con el aumento de los niveles de biodegradación, debido a la desaparición de los n-alcános (Marcano et al. 2013) el valor de  $\delta^{13}\text{C}$  se verá incrementado en los hidrocarburos de la fracción saturada Pedentchouk y Turich (2018). Como se muestra en Sun et al. 2005, en yacimientos con elevado grado de biodegradación el valor de  $\delta^{13}\text{C}$  para alcános de alto peso molecular (HMW) ( $\text{C}_{19+}$ ) se mantiene. Sin embargo, para moléculas de bajo peso molecular (LMW) se observa un enriquecimiento de  $^{13}\text{C}$  del 4 ‰ con respecto a petróleos no biodegradados del mismo yacimiento. Solo los n-alcános de LMW se ven significativamente afectados por una progresiva biodegradación. Por ejemplo, del butano al nonano el petróleo biodegradado se ve enriquecido entre 3–7‰ en  $^{13}\text{C}$ . Por lo tanto, el valor de  $\delta^{13}\text{C}$  de los n-alcános de HMW se podrían seguir utilizando como herramienta de correlación a pesar de haber sufrido una biodegradación elevada.

En el caso de los hidrocarburos aromáticos la abundancia relativa y el valor de  $\delta^{13}\text{C}$  de los compuestos aromáticos individuales en los crudos está controlado por su fuente, la madurez térmica y la edad de la roca madre. Además, se sabe que las alteraciones secundarias como la biodegradación, procesos de mezcla intrareservorio o el lavado por aguas puede afectar a la composición de los crudos (Volkman et al., 1984; Trollo et al., 1999; Hallmann et al., 2008). La composición isotópica del carbono para los análisis de compuestos específicos (CSIA) de algunos compuestos policíclicos aromáticos (PAH, por ejemplo, alquilnaftalenos, alquilfenanantrenos y alquildibenzotiofenos) revelo un enriquecimiento de entre el 2-8‰ en  $^{13}\text{C}$ , después de un experimento de bioestimulación en campo en condiciones anaeróbicas (Yanik et al., 2003).

## 9. OBJETIVOS

De acuerdo con lo expuesto en la introducción general anterior, los petróleos pesados y extra pesados son una reserva mundial importante de hidrocarburos. La explotación de estos genera una serie de problemas técnicos que hace que no sean viables económicamente en muchos casos y, por otra parte, si se producen vertidos de este tipo de crudos las dificultades analíticas y las consecuencias ambientales son importantes. Además, las macromoléculas denominadas asfaltenos son un componente fundamental de un crudo pesado o extra pesado, por lo que su caracterización es muy compleja al no ser una tarea sencilla su análisis.

En este contexto, el **objetivo principal** de la investigación es **la caracterización de crudos pesados enriquecidos en fracciones pesadas (asfaltenos)**. Este objetivo amplio tiene aplicaciones en cada uno de los casos objeto de estudio, por un lado, la elucidación de las causas en la formación de “tarmat” en los yacimientos considerados; por otro, el estudio de la atenuación natural de vertidos en el medio ambiente. El objetivo principal supone obtener información que mejore procesos tecnológicos, tanto en el ámbito de la recuperación ambiental de áreas afectadas por vertidos, como en la ingeniería de yacimientos. Así, de esta línea general surgen tres objetivos concretos para esta tesis doctoral que se desarrollan a continuación:

### **Objetivo nº1: Desarrollo de un protocolo analítico para la caracterización de fracciones pesadas de crudos y sus derivados.**

Se ha desarrollado un protocolo que incluye técnicas muy específicas. En concreto, se ha trabajado con la pirólisis acoplada a GC-MS, así como realizado medidas isotópicas a fracciones SARA con la técnica IRMS (“Isotope Ratio Mass Spectrometry”) y específicas a *n*-alcanos mediante GC-IRMS. Además, se han determinado metales traza –principalmente V y Ni – mediante espectrometría de masas con plasma acoplado Inductivamente (ICP-MS). En paralelo, se han empleado también técnicas más habituales como la cromatografía líquida y la cromatografía de gases convencional con el fin de caracterizar las muestras estudiadas.

### **Objetivo nº2: Aplicación del protocolo en la problemática ambiental relacionada con el vertido de productos pesados.**

En lo que respecta a la atenuación natural de terrenos afectados por vertidos de hidrocarburos pesados, la aplicación del protocolo obtenido a partir del objetivo anterior ha tenido como objetivo simplificar el trabajo de análisis e interpretación, con el fin de escoger únicamente los parámetros que se demuestren clave para el seguimiento del vertido petrolero en cuestión.

### **Objetivo nº3: Aplicación del protocolo en el estudio de yacimientos de crudo no convencional (petróleos pesados).**

El protocolo obtenido en el objetivo nº1 se ha aplicado también a la caracterización de crudos muy viscosos y, en concreto, al problema de los “tarmats” en muestras procedentes de yacimientos no convencionales de petróleo crudo. El objetivo en estos casos ha sido identificar

y estudiar procesos generadores de “tarmats” y sus consecuencias de más interés desde el punto de vista de la ingeniería de yacimientos.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

- Abbassi, B.E., Shquirat, W.D. (2008). Kinetics of indigenous isolated bacteria used for ex-situ bioremediation of petroleum contaminated soil. *Water, Air, & Soil Pollution* 192, 221-226.
- Acevedo, S., Gutiérrez, L.B., Escobar, G. (1982). Estudio de la estructura molecular de asfaltenos de la Faja Petrolífera del Orinoco. *Acta Cient. Venez.*, vol. 33, 440- 444.
- Albaigés, J., de la Torre, L., Bayona, J.M., Domínguez, C. (2017). Applications of the CEN Methodology in Multiple Oil Spills in Spanish Waters. *Oil spill environmental forensics case studies*. 321-343.
- Alberdi, M., López, C. (1996). "Biomarker 18 $\alpha$ (H)-oleanane: a geochemical tool to assess Venezuelan petroleum systems". *Journal of South American Earth Sciences*, vol. 13, 751-759.
- Alberdi, M., Toro, C. (1993). Caracterización isotópica preliminar de  $^{13}\text{C}$  en crudos y rocas madres de las cuencas marinas Apure-Lago de Maracaibo. Los Teques. Reporte interno PDVSA Intevep, N $^{\circ}$  Int. 02719
- Aitken, C.M., Jones, D.M., Larter, S.R. (2004). Anaerobic hydrocarbon biodegradation in deep subsurface oil reservoirs. *Nature* 431, 291-294.
- Alexander, M. (1981). Biodegradation of chemicals of environmental concern. *Science*, vol. 211, 132–138.
- Aquino Neto, F.R., Trendel, J.M., Restle A., Connan, J., Albrecht, P. (1983). Ocurrente and formation of tricyclic and tetracyclic terpanes in sediments and petroleum. *Advances in Organic Geochemistry 1982*, 659-676.
- Antić, M., Jovančićević, B., Ilić, M., Vrvic, M.M., Schwarzbauer, J. (2006) Petroleum pollutant degradation by surface water microorganisms. *Environ Sci Pollut Res* 13:320–327
- Atlas, R.M. y Hazen, T.C. (2011). Oil biodegradation and bioremediation. A tale of the worst two spills in U.S.
- Atlas, R., Bragg, J. (2009). Bioremediation of marine oil spills: when and when not – the Exxon Valdez experience. *Microbial Biotechnology* 2, 213-221.
- Atlas, Ronald M. (1995). Petroleum Biodegradation and Oil Spill Bioremediation. *Marine Pollution Bulletin* 31, pp 178-182.
- Atlas, R.M., Bartha, R. (1992). Hydrocarbon biodegradation and oil-spill remediation. *Advances in Microbial Ecology* 12, 287-338.

- Bakr M.M.Y. y Wilkes H. (2002). The influence of facies and depositional environment on the occurrence and distribution of carbazoles and benzocarbazoles in crude oils: a case study from the Gulf of Suez, Egypt: *Org. Geochem.*, vol 33, p. 561-580.
- Bailey, N.J.L., Evans, C.R., Mimer, C.W.D. (1974). Applying petroleum geochemistry to search for oil: examples from western Canada basin. *A.A.P.G Bull.*, vol. 58, 2284-2294.
- Bears A.J., Baker M.I., Baumann R.A., Boon, P.E., Frajer, J.I., Hoogemboom, L. A. P., Hoogerbrugge, R., vanklaveren, J.D., Liem, A.K.D., Traag, W. A. y Vries, J. (2004). Dioxins, dioxin-like PCBs and non-dioxin-like PCBs in foodstuffs: occurrence and dietary intake in The Netherlands. *Toxicology Letters*, 15. 51-61
- Benedik, M.J., Gibbs, P.R., Riddle, R.R. y Wilson R.C. (1998). Microbial denitrogenation of fossil fuels. *Trends in Biotechnology*, 16, 390-395.
- Bennett, P.C., Siegel, D.E., Baedecker, M.J., Hult, M.F. (1993). Crude oil in a shallow sand and gravel aquifer. *Hydrogeology and inorganic geochemistry: Applied. Geochemistry.*, vol. 8, 529-549.
- Bennett, B., Fustic, M., Farrimond, P., Huang, H., Larter, S.R. (2006). 25-Norhopanes: Formation during biodegradation of petroleum in the subsurface. *Organic Geochemistry* 37, 787-797.
- Bennett, B., Larter, S.R. (2008). Biodegradation scales: Applications and limitations. *Organic Geochemistry* 39, 1222-1228.
- Bernabeu, A.M., Fernández-Fernández, S., Bouchette, F., Rey, D., Arcos, A., Bayona, J.M. (2013). Recurrent arrival of oil to Galician coast: the final step of the Prestige deep oil spill. *J. Hazard. Mater.* 250-251, 82-90.
- Boehm, P. y Saba, T. (2008). Identification and Allocation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH's). *Environmental Forensics. Notes*, 4. 1-5.
- Boehm, P.D., Douglas, G.S., Burns, W.A., Mankiewicz, P.J., Page, D.S. y Bence, A.E. (1997). Application of petroleum hydrocarbon chemical fingerprinting and allocation techniques after the Exxon Valdez oil spill. *Mar. Pollut. Bull.*; 34, 599-613.
- Boll, M., Fuchs, G., Heider, J. (2002). Anaerobic oxidation of aromatic compounds and hydrocarbons. *Current Opinion in Chemical Biology* 6, 604-611.
- Bragg, J.R., Prince, R.C., Harner, J., Atlas, R.M. (1994). Effectiveness of bioremediation for the Exxon Valdez oil spill. *Nature* 368, 413-418.
- Brakstad, O.G., Daling, P.S., Faksness, L., Almås I.K., Vang S., Syslak, L., Leirvik, F. (2014) Depletion and biodegradation of hydrocarbons in dispersions and emulsions of the macondo 252 oil generated in an oil-on-seawater mesocosm flume basin. *Marine Pollution Bulletin*; 84: 125-34.

- Brooks, P.W., Fowler, M.G., Macqueen, R.W. (1988). Biological marker and conventional organic geochemistry of oil sands/heavy oils, Western Canada Basin. *Organic Geochemistry* 12, 519-538.
- Budzinski, H., Garrigues, Ph., Connan, J., Devillers, J., Domine, D., Radke, M., Oudin, J.L. (1995). Alkylated phenanthrene distributions as maturity and origin indicators in crude oils and rock extracts. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, vol. 59, 2043-2056.
- Cassani, F., Gallango, O., Talukdar, S., Vallejos, C., Ehrmann, U. (1988a). Methylphenanthrene maturity index of marine source rock extracts and crude oils from the Maracaibo Basin. *Organic Geochemistry*, vol. 13, 73–80.
- Carpentier, B., Arab, H., Pluchery, E., Chautru. J.M. (2007). Tar mats and residual oil distribution in a giant oil field offshore Abu Dhabi. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 58, 472-490.
- Cerniglia, C.E. (1992). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biodegradation* 3:351–368
- Cerniglia, C.E., Yang, S.K. (1984). Stereoselective metabolism of anthracene and phenanthrene by the fungus *Cunninghamella elegans*. *Appl Environ Microbiol* 47:119–124
- Chierici, G.L. (1994). Principles of petroleum reservoir engineering. Springer-Verlag.
- Clark, J. (1997). Personal communication. Exxon Biomedical Services Inc., East Millstone, NJ.
- Clark, J.P., Philp, R.P. (1989). Geochemical characterization of evaporite and carbonate depositional environments and correlation of associated crude oils in the Black Creek Basin, Alberta. *Canadian Petroleum Geologist Bulletin*, vol. 37, 401-416.
- Clayton, C. (1991). Effect of maturity on carbon isotope ratios of oils and condensates. *Organic Geochemistry*, 17, 887–899.
- Cohem, M. (1998). *Geología Básica*. Ediciones FLSTP, Maracaibo, Edo. Zulia, Venezuela
- CONCAWE. (1983). Characteristics of Petroleum and its Behaviour at Sea. CONCAWE's Oil Spill Clean-up Technology: Special Task Force No. 8. November 1983. pp. 1-36.
- Connan, J., Cassou, A.M. (1980). Properties of gases and petroleum liquids derived from terrestrial kerogen at various maturation levels. *Geochimica et Cosmochimica. Acta*, vol. 44, 1-23.
- Connan, J., (1984). Biodegradation of crude oils in reservoirs. in Brooks J. and Welte D.H., (eds.) *Advances in Petroleum Geochemistry*, vol. 1, 299-305.
- Creek, J.L., Schrader, M.L. (1985). East Painter reservoir, an example of a compositional gradient from a gravitational field. Annual Technical Conference and Exhibition of the SPE, paper No. 14411, Las Vegas.

- Daling, P.S., Faksness, L.G., Hansen, A.B. y Stout, S.A. (2002). Improved and standardized methodology for oil spill fingerprinting. *Environ. Forensics*; 3, 263–278.
- Davies, J.I., Evans, W.C. (1964). Oxidative metabolism of naphthalene by soil pseudomonads: the ring fission mechanisms. *J Biochem* 91:251–261
- Deborah, P. (2004). Oil spill impact modeling: Development and validation. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 23, No. 10, pp. 2441–2456.
- Dydik, B.M., Simoneit, B.R.T., Brassell, S.C. y Eglinton, G. (1978). Organic geochemical indicators of paleoenvironmental conditions of sedimentation. *Nature*, vol. 272, 216 - 222.
- Douglas, G.S., Bence, A.E., Prince, R.C., McMillen, S.J., Butler, E.L. (1996). Environmental stability of selected petroleum hydrocarbon source and weathering ratios. *Environ. Sci. Technol.*; 30, 2332–2339.
- Dow W.G., O'Connors D.I. (1982). Kerogen maturity and type by reflected light microscopy applied to petroleum exploration, in *How to Assess Organic Maturation and Paleotemperatures*. Society of Economic Paleontologist and Mineralogist (SEPM) short course.
- Durand B. (1980). *Kerogen: Insoluble Organic Matter from Sedimentary Rocks*. Paris, Editions Technip, 512 p.
- Engel, M.H. y Macko, S.A. (1993). *Organic geochemistry. Principles and Applications*. Plenum press, Nueva York.
- Escobar, M., (1987). *Geoquímica Orgánica del Petróleo en la Región Nor-central de la Costa Occidental del Lago de Maracaibo*. Caracas, Universidad Central de Venezuela, Tesis Doctoral, 380 p.
- Evans, C.R., Rogers, M.A., Bailey, N.J.L. (1971). Evolution and alteration of petroleum in Western Canada. *Chemical Geology.*, vol. 8, 147-170. Hunt, J.M. *Petroleum Geochemistry and Geology*, 2nd ed. Freeman Press, USA.
- Exxon Corporation. (1985). *Fate and Effects of Oil in the Sea*. Exxon Background Series, December 1985.
- Eweis, J.B., Ergas, S.J., Chang, D.P.Y. y Schroeder, E.D. (1999). *Principios de biorrecuperación*. McGrawHill, Madrid.
- Farrimond, P., Taylor, A., Telnaes, N. (1998). Biomarker maturity parameters: the role of generation and thermal degradation. *Organic Geochemistry*, vol. 29, 1181-1197.
- Filby, R.H. (1975). The nature of metals in petroleum. Yen T.F., ed., *The Role of Trace Elements in Petroleum*: London, Ann Arbor Science Publishers Inc., 31-58.
- Fingas, M., Fieldhouse B. (2003). Studies of the formation process of water-in-oil emulsions. *Marine Pollution Bulletin* 47 pp. 369–396.

- Fisher, S.J., Alexander, R., Kagi, R.I. (1996). Biodegradation of alkyl-naphthalenes in sediments adjacent to an off-shore petroleum production platform. *Polycyclic Aromatic Compounds* 11, 35-42.
- Fisher, S.J., Alexander, R., Kagi, R.I., Oliver, G.A. (1998). Aromatic hydrocarbons as indicators of biodegradation in North Western Australian reservoirs; The sedimentary basins of Western Australia 2, in: Purcell, P.G., Purcell, R.R. (Eds.), *The Sedimentary Basins of Western Australia: Proceedings of Petroleum Exploration Society of Australia Symposium*, p. 185.
- Frimmel, A., Oschmann, W. y Schwark, L. (2004). Chemostratigraphy of the Posidonia black shale, SW-Germany: I – Influence of sea level variation on organic facies evolution. *Chemical Geology*, vol. 206, 177-198.
- Frame, G. M. (1997). A collaborative study of 209 PCB congeners and 6 Aroclors on 20 different HRGC columns 1. Retention and coelution database. *Fresenius. Journal of Analytical Chemistry* 357.701-713.
- Galarraga, F., Urbani, F., Escobar, M., Márquez, G., Martínez, M., Tocco, R. (2010). Main factors controlling the compositional variability of seepage oils from Trujillo State, Western Venezuela. *Journal of Petroleum Geology*, vol. 33, 255-268.
- Galimov, E.M. (2006). Isotope organic geochemistry. *Organic Geochemistry*, vol. 37, 1200-1262.
- Galimov, E.M., Frik, M.G. (1985). Isotopic method of detection of oil source deposits. *Geokhimiya*, vol. 10, 1474–1485.
- Gallego, J.R., Sierra, C., Permanyer, A., Peláez, A.I., Menéndez-Vega, D., Sánchez, J. (2011). Full-scale remediation of a jet fuel-contaminated soil: assessment of biodegradation, volatilization, and bioavailability. *Water Air Soil Pollut.* 217, 197e211.
- Gallego, J. L. R., García-Martínez, M. J., Llamas, J. F., Belloch, C., Peláez, A. I., Sánchez, J. (2007a). Biodegradation of oil tank bottom sludge using microbial consortia. *Biodegradation*, 18(3), 269-281. 10.1007/s10532-006-9061-y
- Gallego, J. R., Fernández, J. R., Díez-Sanz, F., Ordoñez, S., Sastre, H., González-Rojas, E., Sánchez, J. (2007b). Bioremediation for shoreline cleanup: In situ vs. on-site treatments. *Environmental Engineering Science*, 24(4), 493-504. 10.1089/ees.2006.0091
- Gallego, J. R., González-Rojas, E., Peláez, A. I., Sánchez, J., García-Martínez, M. J., Ortiz, J. E., Llamas, J. F. (2006). Natural attenuation and bioremediation of Prestige fuel oil along the Atlantic coast of Galicia (Spain). *Organic Geochemistry*, 37(12), 1869-1884. 10.1016/j.orggeochem.2006.07.022
- Gallego J.R.; Sánchez, J. (2003). Biorremediación. Aspectos tecnológicos y aplicación al vertido del Prestige (Revisión). *Industria y Minería*, nº351 (Monográfico).

- Gilfillan, E.S. (1993). Dispersant Use Guidelines for the State of Maine. Bowdoin College Marine Research Laboratory. pp. 1-69.
- Goossens, H., De Leeuw, J.W., Van de Graaf, B., Schenk, P.A. (1984). Tocopherols as likely precursors of pristane in ancient sediments and crude oils. *Nature*, vol. 312, 440-442.
- Gundlach, E.R.; Boehm, P.D.; Marchand, M. (1983). The Fate of the Amoco Cadiz Oil. *Science*, Vol. 221. pp. 122-127.
- Hallmann, C., Schwark, L., Grice, K. (2008). Community dynamics of anaerobic bacteria in deep petroleum reservoirs. *Nature Geoscience* 1, 588–591.
- Hayes, M.O. (1993). Distribution and weathering of shoreline oil one year after the Gulf War Oil Spill. *Marine Pollution Bulletin*. Vol. 27. pp. 135-142.
- Head, I.M., Jones, D.M., Larter, S.R. (2003). Biological activity in the deep subsurface and the origin of heavy oil. *Nature* 426, 344-352.
- Hoff, Rebecca Z. (1993). Bioremediation: an overview of its development and use for oil spill cleanup. *Marine Pollution Bulletin* Vol. 29, pp. 476-481.
- Holba, A.G., Dzou, I.L., Hickey, J.J., Franks, S.G., May, S.J., Lenney, T. (1996). Reservoir geochemistry of South Pass 61 Field, Gulf of Mexico: Compositional heterogeneities reflecting filling history and biodegradation. *Organic Geochemistry*, vol. 24, 1179-1198.
- Hu, C.; Li, X.; Pichel, W.G. y Muller-Karger, F. E. (2009). Detection of natural oil slicks in the NW Gulf of Mexico using MODIS imagery. *Geophysical Research Letters*. Vol 36.
- Hughes, W.B., Holba, A.G., Dzou, I.P. (1995). The ratios of dibenzothiophene to phenanthrene and pristane to phytane as indicators of depositional environment and lithology of petroleum source rocks. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, vol. 59, 3581-3598.
- Hughes, W. (1984). Use of Thiophenic Organosulfur Compounds in Characterizing Crude Oils Derived from Carbonate Versus Siliciclastic Sources. *Petroleum Geochemistry and Source Rock Potential of Carbonates Rocks*. Edited by Palacas, J.P. A.A.P.G, 181-196.
- Hunt, J.M. (1996). *Petroleum Geochemistry and Geology* (2nd Edition), San Francisco, Freeman and Company, 617.
- Ilić, M., Antić, M., Antić, V., Schwarzbauer, J., Vrvčić, M.M., Jovančićević, B. (2011). Investigation of bioremediation potential of zymogenous bacteria and fungi for crude oil degradation. *Environ Chem Lett* 9:133–140
- International Tanker Owners Pollution Federation, Ltd. (ITOPF). (1987). *Response to Marine Oil Spills*. Witherby & Co. Ltd., London. pp. 1-113.
- John P. Giesy y Krunthachalan Karnnan. (1998). Dioxin-like and Non-dioxin-like toxic effects Polychlorinated Biphenyls (PCBs): Implication for risk assesmentes. *Critical Reviews in Toxicology*, 28. 511-569.

- Jones, D.M., Head, I.M., Gray, N.D., Adams, J.J., Rowan, A.K., Aitken, C.M., Bennett, B., Huang, H., Brown, A., Bowler, B.F.J., Oldenburg, T., Erdmann, M., Larter, S.R. (2008). Crude-oil biodegradation via methanogenesis in subsurface petroleum reservoirs. *Nature* 451, 176-180.
- Jordan, R.E. y Payne, J.R. (1980). *Fate and Weathering of Petroleum Spills in the Marine Environment*. Ann Arbor Science Press, Ann Arbor, Michigan.
- Jovančević, B., Antić, M., Šolević, T., Vrvić, M., Kronimus, A., Schwarzbauer, J. (2005). Investigation of interactions between surface water and petroleum type pollutant. *Environ Sci Pollut Res* 12:205–212
- Kartsev, A.A. (1964). Geochemical transformations of petroleum, in Colombo U. and Hobson G.D., eds., *Advances in Organic Geochemistry 1963*, 11-14. New York.
- Kauffman, R.L., Ahmed A.S., y Elsinger, R.J. (1990). Gas chromatography as a development and production tool for fingerprinting oils from individual reservoirs: Applications in the Gulf of Mexico. D. Schumaker and B.F. Perkins (eds.), *Proc. 9th Annual Research Conf. of the Soc. Econ. Paleont. Mineral*; New Orleans; 263–282.
- Killops, S.D., Killops, V.J. (1993). *An Introduction to Organic Geochemistry*, New York, Longman, pp. 265.
- Kodina, L.A., Galimov, E.M. (1984). Formation of carbon isotope composition of organic matter of “humic” and “sapropelic” types in marine sediments. *Geokhimiya*. vol. 11, 1742–1756.
- Kostecky P.T y Calabrese, E.J. (1991). *Hydrocarbon contaminated soils and groundwater*. Vol 1. Lewis Publishers, NY.
- Lamberts, R.F., Christensen, J.H., Mayer, P., Andersen, O., Johnsen, A.R. (2008). Isomer-specific biodegradation of methylphenanthrenes by soil bacteria. *Environ Sci Technol* 42:4790–4796.
- Larter, S.R., Koopmans, M.P., Head, I., Aplin, A., Li, M., Wilhelms, A., Telnaes, N., Bowen, M., Zhang, C., Wu, T., Chen, Y. (2000). Biodegradation rates assessed geologically in a heavy oilfield; implications for a deep, slow (Largo) biosphere, *Proceedings GeoCanada 2000*.
- Larter, S.R., Wilhelms, A., Head, I., Koopmans, M., Aplin, A., Di Primio, R., Zwach, C., Erdmann, M., Telnaes, N. (2003). The controls on the composition of biodegraded oils in the deep subsurface -part 1: biodegradation rates in petroleum reservoirs. *Organic Geochemistry* 34, 601-613.
- Larter, S., Huang, H., Adams, J., Bennett, B., Jokanola, O., Oldenburg, T., Jones, M., Head, I., Riediger, C., Fowler, M. (2006a). The controls on the composition of biodegraded oils in the deep subsurface: Part II - Geological controls on subsurface biodegradation fluxes and constraints on reservoir-fluid property prediction, *A.A.P.G Bull.*, vol. 90, 921-938.

- Larter, S., Huang, H., Adams, J., Bennett, B., Snowdon, L.R. (2012). A practical biodegradation scale for use in reservoir geochemical studies of biodegraded oils. *Organic Geochemistry* 45. 66–76.
- Lee, R. (1980). Processes affecting the fate of oil in the sea. *Marine Environmental Pollution, Vol 1 : Hydrocarbons*. R.A. Geyer (ed.). Elsevier Scientific Publishing Co.: New York. pp. 337-350.
- Lee, R.F. (2003). Photo-oxidation and Photo-toxicity of Crude and Refined Oils Spill. *Science & Technology Bulletin, Vol. 8, No. 2*, pp. 157–162
- Lewan, M.D., Warden, A., Dias, R.F., Lowry, Z.K., Hannah, T.L., Lillis, P.G. G.S. Plumlee. (2014). Asphaltene content and composition as a measure of Deepwater Horizon oil spill losses within the first 80 days. *Organic Geochemistry*.
- Lewan M. (1991). Generation and Expulsion of Oil as Determined by Hydrous Pyrolysis: *AAPG Bull.*, vol. 75, no. 3, p. 620.
- Lewis, A. y Aurand, D. (1997). Putting Dispersants to Work: Overcoming Obstacles. *Oil Spill Conference*. API publications: Issue 4652 A, 1997, pp. X-72.
- Leythaeuser, D., Welte, D.H. (1969). Relation between distribution of heavy n-paraffins and coalification in carboniferous coals from the Soar District, Germany, in Schenck P.A. and Havenaar I., eds., *Advances in Organic Geochemistry*, 429-442, Oxford, Pergamon Press.
- Lichtfouse, E., Albrecht, P., Behar, F., Hayws, J.M. (1994). A molecular and isotopic study of the organic matter from the Paris Basin, France. *Geochim Cosmochim Acta* 58:209–221
- Lin, L.H., Michael, G.E., Kovachev, G., Zhu, H., Philp, R.P., Lewis, C.A. (1989). Biodegradation of tar-sand bitumens from the Ardmore and Anadarko Basins, Carter County, Oklahoma. *Organic Geochemistry* 14, 511-523.
- Lira-Galeana, C., Firoozabadi, A., Prausnitz, J.M. (1994). Computation o compositional grading in hydrocarbon reservoirs: Application to continuous thermodynamics. *Fluid Phase Equilibria*, vol. 102, 143-149.
- Lorant, F., Prinzhofer, A., Behar, F. y Huc, A.Y. (1998). Carbon isotopic and molecular constraints on the formation and the expulsion of thermogenic hydrocarbon gases. *Chemical Geology*, vol. 147, 240–264.
- Lunel, T. (1999). The Braer Spill: oil fate governed by dispersion. AEA technology. National Environmental Technology Center (NETCEN), formerly Warren Spring Laboratory.
- Mackay, D. and McAuliffe. C.D. (1988). Fate of Hydrocarbons Discharged at Sea. *Oil & Chemical Pollution, Volume 5, Issue 1, 1989*, pp. 1-20.
- Mackenzie, A.S. (1984). Applications of biological marker in petroleum geochemistry. Brooks, J. And Welte, D., eds., *Advances in petroleum geochemistry vol. 1*, 115-214.

- Mackenzie, A.S., Brassell, S.C., Eginton, G., Maxwell, J.R. (1982). Chemical fossils: The geological fate of steroids. *Science*, vol. 217, 491-504.
- Magot, M., Ollivier, B., Patel, B.K.C. (2000). Microbiology of petroleum reservoirs. *Antonie Van Leeuwenhoek* 77, 103-116.
- Mansuy, L., Philp, R.P., Allen, J. (1997). Source identification of oil spills based on the isotopic composition of individual components in weathered oil samples. *Environmental Science and Technology*, vol. 31, 3417–3425.
- Marcano, N., Larter, S. y Mayer, B. (2013). The impact of severe biodegradation on the molecular and stable (C, H, N, S) isotopic compositions of oils in the Alberta Basin, Canada. *Organic Geochemistry*, 59, 114–132.
- Maslen, E., Grice, K., Dawson, D., Le Metayer, P. y Edwards, D. (2011). Stable carbon isotopic compositions of individual aromatic hydrocarbons as source and age indicators in oil from Western Australian Basins. *Organic Geochemistry*. 41, 387–398.
- McAuliffe, C.D. (1989). The use of chemical dispersants to control oil spills in shallow nearshore waters. *Oil Dispersants: New Ecological Approaches*. L.M. Flaherty (ed.). American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA. ASTM STP 1018: pp. 49-72.
- Michel, J. y Galt, J. (1995). Conditions Under Which Floating Slicks Can Sink in Marine Settings. *Proc.1995 Oil Spill Conference*, API: Washington, DC. pp. 573-576.
- Michel, J. y Hayes, M.O. (1996). Evaluation of the Condition of Prince William Sound Shorelines Following the Exxon Valdez Oil Spill and Subsequent Shoreline Treatment: Volume II: 1994 Geomorphological Monitoring Survey, July 1994. NOAA Technical Memorandum NOS ORCA 91.
- Michel, J., French, D., Csulak, F. y Sperduto, M. (1997). Natural Resource Impacts from the North Cape Oil Spill. *Proc.1997 Oil Spill Conference*, API publications. Washington, DC. pp. 841-854.
- Michel, J., Scholz, D., Henry, C.B. y Benggio, B.L. (1995). Group V Oils: Source, Behavior, and Response Issues. *Proc. 1995 Oil Spill Conference*, API publications. Washington, DC. pp. 559-564.
- Mielke, J.E., (1990). Oil spill response technologies. Congressional Research Service, Library of Congress, Washington, DC. pp.1-30.
- Milner, C.D.W., Rogers, M.A., Evans, C.R. (1977). Petroleum transformations in reservoirs. *J. Geochemistry Exploration*, vol. 7, 101-153.
- Moldowan, J.M., Fago, F.J. (1986). Structure and significance of a novel rearranged monoaromatic steroid hydrocarbon in petroleum. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. vol. 50, 343-351.
- Moldowan, J.M., Lee, C.Y., Sundararaman, P., Salvatori, R., Alajbeg, A., Gjukic, B., Demaison, G.J., Slougui, N.E. y Watt, D.S., (1992). Source correlation and maturity

assessment of select oils and rocks from the Central Adriatic basin (Italy and Yugoslavia), in Moldowan J.M., Albrecht P. and Philp R.P., eds., *Biological Markers in Sediments and Petroleum*: Englewood Cliffs, New Jersey, Prentice Hall, p. 370-401.

Nakasone, O.M. (1999). *Geoquímica Orgánica de Crudos en Yacimientos del Eoceno, Areniscas C4 y CS, Bloque 1, Segregación Lagomar, Lago de Maracaibo, Venezuela*. Universidad del Zulia, Facultad de Ingeniería, Tesis de Maestría, 163 p.

National Research Council (NRC). (1985). *Oil in the Sea: Inputs, Fates, and Effects*. National Academy Press: Washington, DC. pp. 1-601.

National Research Council (NRC). (1989). *Using Oil Spill Dispersants on the Sea*. National Academy Press: Washington, DC. pp. 1-335

National Research Council (NRC). (2003). *Oil in the Sea III: Inputs, Fates, and Effects*. The National Academies Press, pp. 2, 17, 33.

Neff, J.M. (1990). Composition and fate of petroleum and spill treating agents in the marine environment. *Sea Mammals and Oil: Confronting the Risks*. Geraci J.R. and St. Aubin D.J. (eds.). Academic Press: New York. pp. 1-33.

Novaković, M., Ramadan, M.M.A., Knudsen T.Š., Antić, M., Beškoski, V., Gojgić-Cvijović, G., Jovančićević, B. (2012). Degradation of methyl-phenanthrene isomers during bioremediation of soil contaminated by residual fuel oil. *Environmental Chemistry Letters*; 10: 287-94.

Ourisson, G., Albrecht, P., Rohmer, M. (1982). Predictive microbial biochemistry from molecular fossils to procaryotic membranes. *Trends in biochemical sciences*, vol. 7, 236-239.

Odden W., Barth, T. y Talbot, M.R. (2002). Compound-specific carbon isotope analysis of natural and artificially generated hydrocarbons in source rocks and petroleum fluids from offshore Mid-Norway. *Organic Geochemistry*, 33, 47-65.

Lorant, F., Prinzhofer, A., Behar, F. y Huc, A.Y. (1998). Carbon isotopic and molecular constraints on the formation and the expulsion of thermogenic hydrocarbon gases. *Chemical Geology*, vol. 147, 240-264.

Palmer, S.E. (1984). Effect of water washing on C15 + hydrocarbons fraction of crude oils from northwest Palawan, Phillipines. *A.A.P.G Bull.*, vol. 68, 137-149.

Paul Philp, R. (2017). Fifty Years of Petroleum Geochemistry: A Valuable Asset in Oil Spill. *Environmental Forensics. Oil spill environmental forensics case studies*. 25-47.

Payne, J.R. y McNabb, G.D. Jr. (1984). Weathering of Petroleum in the Marine Environment. *Marine Technology Society Journal*, Vol.18: pp.24-42.

Pedentchouk, N. y Turich, C. (2018). Carbon and hydrogen isotopic compositions of n-alkanes as a tool in petroleum exploration. <http://sp.lyellcollection.org/>

- Petkewich, R. (2002). Spilled oil persists after 30 years. *Environ. Sci. Technol.*; 446.
- Peters, K.E., Walters, C.C., Moldowan, J.M. (2005). *The Biomarker Guide, Volume 1: Biomarkers and Isotopes in the Environment and Human History*. New York, Cambridge University Press, 490 p.; *The Biomarker Guide, Vol. 2: Biomarkers and Isotopes in the Petroleum Exploration and Earth History*. New York, Cambridge University Press, 700 p.
- Peters, K.E., Moldowan, J.M. (2004). *The Biomarker Guide: Interpreting Molecular Fossils in Petroleum and Ancient Sediments*, second ed. Prentice Hall, New Jersey.
- Peters, K.E. y M.G. Fowler. (2002). Applications of petroleum geochemistry to exploration and reservoir management. *Org. Geochem.*; 2002, 33, 5–36.
- Peters, K.E., Moldowan, J.M. (1993). *The Biomarker Guide*, New Jersey, Prentice Hall, 363 p.
- Peters, K.E., Moldowan, J.M. (1991). Effects of source, thermal maturity, and biodegradation on the distribution and isomerization of homohopanes in petroleum. *Organic Geochemistry* 17, 47-61.
- Peters, K.E., Moldowan, J.M., Sundararaman, P. (1990). Effects of hydrous pyrolysis on biomarker thermal maturity parameters, Monterey phosphatic and siliceous members: *Organic Geochemistry*, vol. 15, 249-265.
- Petrisor, I. (2005). Fingerprinting in environmental forensics. *Environmental forensics*, 6, 101-102.
- Philp, P., Gilbert, T.D. (1986). Biomarkers distributions in oils predominantly derived from terrigenous source material. *Advances in Organic Geochemistry 1985*, *Organic Geochemistry*, 73-84.
- Philp, R.P. (1985). Biological markers in fossil fuel production, *Mass Spectrom. Rev.*, vol. 4, 1-54.
- Pineda-Flores G. y Mesta-Howard, A.M. (2001). Petroleum asphaltenes: generated problematic and possible biodegradation mechanisms. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 43, 143-150.
- Powell, T.G., McKirdy, D.M. (1973). The effect of source material, rock type and on the n-alkane content of sediments. *Geochemica et Cosmochimica. Acta*, vol. 37, 623-633.
- Pollard, S.J., Whittaker, M., Ridsden, G.C. (1999). The fate of heavy oil wastes in soil microcosms I: a performance assessment of biotransformation indexes. *The Science of the Total Environment* 226, 1–22.
- Price, L.C. (1980). Crude oil degradation as an explanation of the depth rule. *Chemical Geology*, vol. 28, 1-30.
- Primo Yufera, E. (1996). *Química Orgánica Básica y Aplicada*, tomos I y II. Editorial Reverté, UP Valencia.

- Prince, R.C., Owens, E.H. y Sergy, G.A. (2002a). Weathering of an arctic oil spill after 20 years: The experiment revisited. *Mar. Pollut. Bull.*; 2002a, 44, 1236–1242.
- Prince, R.C., Elmendorf, D.L., Lute, J.R., Hsu, C.S., Haith, C.E., Senius, G.J. (1994). 17a(H), 21b(H)-hopane as a conserved internal biomarker for estimating the biodegradation of crude oil. *Environmental Science & Technology* 28, 142–145.
- Pusey, W.C. (1973a.) How to evaluate potential gas oil source rocks. *World Oil*, vol. 176, no. 5, p. 71-75.
- Pusey, W.C. (1973b). Paleotemperatures in the Gulf Coast using the ESRkerogen method. *Trans. Gulf Coast Assoc. Geol. Soc.*, vol. 23, p. 195-202.
- Ramil Criado, M., Rodríguez Pereiro, I., y Cela Torrijos, R. (2004). Determination of polychlorinated biphenyls in ash using dimethylsulfoxide microwave assisted extraction followed by solid-phase microextraction. *Talanta*, 63. 533-540.
- Radke, M. (1988). Application of aromatic compounds as maturity indicators in source rocks and crude oils. *Marine and Petroleum Geology*, vol.5, 224-236.
- Radke, M., Welte, D.H., Willsch, H. (1986). Maturity parameters based on aromatic hydrocarbons: Influence of the organic matter type. Leythaeuser D. and Rullkotter J., eds., *Advances in Organic Geochemistry 1985, Organic Geochemistry*, vol. 10, 51-63.
- Radke, M., Welte, D.H. (1983). The Methylphenantrene Index (MPI). A maturity parameter based on aromatic hydrocarbons: Influence of the organic matter type, in Leythaeuser D. y RullkotterJ., eds, *Advances in Organic Geochemistry 1985: Organic Geochemistry*, vol. 10, 51-63.
- Radke, M., Welte, D.H., Willsch, H. (1982). Geochemical study on a well in the Western Canada Basin: Relation of the aromatic distribution pattern to maturity of organic matter, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, vol. 46, 1-10.
- Reed, W.E. (1977). Molecular compositions of weathered petroleum and comparison with its possible source. *Geochim. Cosmochim. Acta* 41, 237-247.
- Reddy, C.M., Eglinton, T.I., Hounshell, A., White, H.K., Xu, L., Gaines, R.B. y Frysjinger, G.S. (2002). The West Falmouth oil spill after thirty years: The persistence of petroleum hydrocarbons in marsh sediments. *Environ. Sci. Technol.*; 36, 4754–4760.
- Reimann, C. y Caritat, P. (1998). *Chemical elements in the environment*. Springer-Verlag, Berlín-Heidelberg.
- Research Planning, Inc. (RPI). (1992). *Impact of Oil Spills on Coastal Ecosystems. A Course Manual*. Prepared for the Marine Spill Response Corporation. Monterey, California.
- Riser-Roberts, E. (1998). *Remediation of petroleum contaminated soils*. CRC Press. Lewis publishers, NY.

- Schoell, M. (1988). Multiple origins of the methane in the Earth. *Chemical Geology*, vol.71, 1-10.
- Snape, I., Ferguson, S.H., Harvey, P.A., Riddle, M.J., (2006). Investigation of fuel spills in Antarctica. II e extent of natural attenuation at Casey Station. *Chemosphere* 63, 89e98.
- Santamaría-Orozco, D., Horsfield, B., Di Primio, R., Welte, D.H. (1998). Influence of maturity on distributions of benzo- and bibenzothiophenes in Tithonian source rocks and crude oils, Sonda de Campeche, Mexico, *Organic Geochemistry*, vol. 28, 423-439.
- Seifert W.K. y Moldowan J.M. (1978). Application of steranes, terpanes and monoaromatic to the maturation, migration and source of crude oils. *Geochim. Cosmochim. Acta*, vol. 42, no. 1, p. 77-95.
- Seifert, W.K., Moldowan, J.M. (1986). Use of biological markers in petroleum exploration, in Johns R.B., ed., *Methods in Geochemistry and Geophysics*, vol. 24, 261-290.
- Sofer, Z. (1984). Stable Carbon Isotope composition of crude oils: application to source depositional environments and petroleum alteration. *A.A.P.G Bull*, 68, 31-49.
- Short, J.W., Lindeberg, M.R., Harris, P.M., Maselko, J.M., Pella, J.J. y Rice S.D. (2002). Estimate of oil persisting on the beaches of Prince William Sound 12 years after the Exxon Valdez oil spill. *Environ. Sci. Technol.*; 2004, 38, 1–25.
- Smil, V. (2000). *Cycles of life: Civilization and the biosphere*. Scientific American Library, NY.
- Speight, J.G. (1991). *The Chemistry and Technology of Petroleum*, 2nd ed., Marcel Dekker, Inc., New York, NY.
- Speight, J. (2013). *Heavy and Extra-heavy Oil Upgrading Technologies*, Gulf Professional Publishing.
- Speight, J.G. (2001). *Handbook of petroleum analysis*. John Wiley & Sons, Nueva York
- Stahl, W. 1980. Compositional changes and  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  fractionations during the degradation of hydrocarbons by bacteria. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 44, 1903–1907.
- Stahl, W.J. (1978). Source rock—crude oil correlation by isotopic type curves. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, vol.42, 1573–157.
- Stout, S.A., Uhler, A.D., McCarthy, K.J. y Emsbo-Mattingly, S. (2002a). Chemical fingerprinting of hydrocarbons. B.L. Murphy and R.D. Morrison (eds.), *Introduction to Environmental Forensics*; Academic Press, Boston, MA; 137–260.
- Stout, S.A., Wang, Z. (2006). Chemical Fingerprinting of spilled or discharged petroleum\_ Methods and factors affecting petroleum fingerprints in the environment. *Oil Spill Environmental Forensics*; Academic Press.

- Stout, S.A., Emsbo-Mattingly, S., Uhler, A.D. y McCarthy, K.J. (2002b). Particulate coal in soils and sediments recognition and potential influences on hydrocarbon fingerprinting and concentration. *Contam. Soil Sed. Water*; 12–15.
- Stout, S.A., Uhler, A.D. y McCarthy K.J. (2001). A strategy and methodology for defensibly correlating spilled oil to source candidates. *Environ. Forensics*; 2, 87–98.
- Sun, Y., Chen, Z., Xu, S. y Cai, P. (2005). Stable carbon and hydrogen isotopic fractionation of individual n-alkanes accompanying biodegradation: evidence from a group of progressively biodegraded oils. *Organic Geochemistry*, 36, 225–238.
- ten Haven, H.L., de Leeuw, J.W., Rullkötter, J., Sinninghe Damste, J.S. (1987). Restricted utility of the pristane/phytane ratio as a paleoenvironmental indicator. *Nature*, vol. 330, 641-643.
- ten Haven H.L., de Leeuw J.W., Peakman T.M. and Maxwell J.R. (1986). Anomalies in steroid and hopanoid maturity indices: *Geochim. Cosmochim. Acta*, vol. 50, no. 5, p. 853-855.
- Tissot, B.P. y D.H. Welte. (1984). *Petroleum Formation and Occurrence*. 2nd ed. Springer-Verlag, New York, NY.
- Thieres M.C. Pereira, Gabriela Vanini, Lílian V. Tose, Felipe M.R. Cardoso, Felipe P. Fleming, Paulo T.V. Rosa, Christopher J. Thompson, Eustáquio V.R. Castro, Boniek G. Vaz, Wanderson Romão, (2014). FT-ICR MS analysis of asphaltenes: Asphaltenes go in, fullerenes come out. *Fuel*, 131, 49-58.
- Tobiszewski, M. y Namiesnik, J. (2012). PAH diagnostic ratios for identification of pollution emission sources. *Environmentl pollution*, 162. 110-119.
- Tocque, E., Behar, F., Budzinski, H., Lorant, F. (2005). Carbon isotopic balance of kerogen pyrolysis effluents in a closed system. *Organic Geochemistry*, vol. 36, 893– 905.
- Trolio, R., Grice, K., Fisher, S.J., Alexander, R., Kagi, R.I. (1999). Alkylbiphenyls and alkyl-diphenylmethanes as indicators of petroleum biodegradation. *Organic Geochemistry*, vol. 30, 1241-1253.
- USGS. (2008). *Tar Balls from Southern California Seeps Appear on Central California Beaches*. U.S. Geological Survey. Minerals Management Service Cooperative Project.
- Volkman, J.K., Alexander, R., Kagi, R.I., Rowland, S.J., Sheppard, P.N. (1984). Biodegradation of aromatic hydrocarbons in crude oils from the Barrow Subbasin of Western Australia. *Organic Geochemistry* 6, 619–632.
- Volkman, J.K., Alexander, R., Kagi, R.I., Woodhouse, G.W. (1983). Demethylated hopanes in crude oils and their applications in petroleum geochemistry. *Geochim Cosmochim Acta* 47:785–794.
- Wang, Z., Fingas, M. y Sergy G. (1994b). Study of 22-year-old Arrow oil samples using biomarker compounds by GC/MS. *Environ. Sci. Technol.*; 28, 1733–1746

- Wang, Z., Fingas, M., Blenkinsopp, S., Sergy, G., Landriault, M., Sigouin, L. y Lambert, P. (1998). Study of the 25-year-old Nipisi oil spill: Persistence of oil residues and comparisons between surface and subsurface sediments. *Environ. Sci. Technol.*; 32, 2222–2232.
- Wang, Z. y Fingas, M. (1995c). Use of methyl dibenzothiophenes as markers for differentiation and source identification of crude and weathered oils. *Environ. Sci. Technol.*; 29, 2842–2849.
- Wang, Z.D., Fingas, M., Owens, E.H., Sigouin, L., Brown, C.E. (2001). Long-term fate and persistence of the spilled Metula oil in a marine salt marsh environment degradation of petroleum biomarkers. *J. Chromatogr. A* 926, 275e290.
- Wenger, L.M., Davis, C.L. y Isaksen, G.H. (2002). Multiple controls on petroleum biodegradation and impact on oil quality. *SPE Reservoir Evaluation and Engineering*, vol. 5, 375-383
- Widdel, F., Rabus, R. (2001). Anaerobic biodegradation of saturated and aromatic hydrocarbons. *Current Opinion in Biotechnology* 12, 259-276.
- Whiticar, M. (1996). Stable isotope geochemistry of coals, humic kerogens and related natural gases. *International Journal of Coal Geology*, vol. 32, 91-125.
- Wilhelms, A., Larter, S.R. (1994). Origin of tar mats in petroleum reservoirs. Part II: formation, vol. 401, 266 - 269.
- Wilhelms, A., Larter, S.R., Head, I., Farrimond, P., di-Primio, R., Zwach, C. (2001). Biodegradation of oil in uplifted basins prevented by deep-burial sterilization. *Nature* 411, 1034-1037.
- Winters J.C., Williams J.A. (1969). Microbiological alteration of crude oil in the reservoir: *Amer. Chem. Soc. Petrol. Chem. Div., New York Meeting Preprints*, vol. 14, E22-E31.
- Yanik, P.J., O'Donnell, T.H., Macko, S.A., Qian, Y., Kennicutt II, M.C. (2003). The isotopic compositions of selected crude oil PAHs during biodegradation. *Org Geochem*; 34:291–304.
- Zengler, K., Richnow, H.H., Rossello-Mora, R., Michaelis, W., Widdel, F. (1999). Methane formation from long-chain alkanes by anaerobic microorganisms. *Nature*, vol. 401, 266 - 269.



## **2. Muestras y metodología**



## CAPITULO II: MUESTRAS Y METODOLOGÍA

### 1. TIPOS DE MUESTRAS A CARACTERIZAR Y JUSTIFICACIÓN

#### 1.1. Justificación

Como se ha expuesto anteriormente, el objetivo principal de esta tesis doctoral es la caracterización de crudos enriquecidos en fracciones pesadas (principalmente asfaltenos). En este contexto, y teniendo en cuenta que la mayoría de las veces los análisis se realizan en laboratorios convencionales, sería idónea la selección de procedimientos no demasiado sofisticados que se puedan implantar de forma rutinaria y que al mismo tiempo permitan caracterizar adecuadamente muestras de diferentes orígenes.

Con este fin se han descartado técnicas analíticas complejas y poco presentes a nivel comercial (resonancia magnética, GC bidimensional, etc.) frente al uso de un GC-MS estándar con algunas variantes. Al mismo tiempo, se han seleccionado una serie de muestras de diversas procedencias con el fin de demostrar la eficacia del protocolo propuesto y sus variantes. Se detalla a continuación los distintos tipos de muestras, agrupadas en dos familias que, a su vez, se corresponden con los cuatro trabajos ya publicados y que configuran el grueso de esta memoria de tesis.

#### 1.2. Muestras procedentes de yacimientos de petróleo crudo no convencional

##### 1.2.1. Muestras procedentes de la Cuenca Los Llanos (Colombia).

Con el fin de caracterizar cada yacimiento y los efectos en el mismo derivados de la presencia de “tarmat” y crudos viscosos, se tomaron trece muestras de petróleo crudo y diecisiete muestras de tarmats (ripios y testigos de perforación) procedentes de los intervalos Gachetá, Une, Guadalupe, Mirador y Carbonera C7 dentro de dos bloques en explotación, Tiple y Caracara, en la parte centro-sur de la Cuenca Los Llanos (Colombia). También se analizaron una serie de muestras de rипios de la Formación Gachetá, tomadas en el pozo Ramiriqui-1, para estudios de correlación crudo-roca madre de petróleo. El detalle completo de las muestras se presenta en la Tabla II.1.

Tabla II.1: Tabla en detalle de las muestras de Los Llanos (Colombia)

Tipo	Pozo	Campo	Bloque	Intervalo	Profundidad (Pies)	
Crudo	Cubarro-1	Cubarro	Tiple	Mirador	-	-
Crudo	Melero-1	Melero	Garibay	Mirador	8856	8866
Crudo	ISW-01	Peguita SW	Caracara	C7-M	-	-
Crudo	JGR-27H	Peguita	Caracara	C7-M	-	-
Crudo	CCS-A3	Caracara Sur	Caracara	C7-M	-	-
Crudo	CCS-C18H	Caracara Sur	Caracara	C7-M	-	-
Ripios	CUBARRO-1	Cubarro	Tiple	Mirador	7850	7860
Ripios	CUBARRO-1	Cubarro	Tiple	Mirador	7870	7880

Ripios	MELERO-1	Melero	Garibay	Mirador	8840	8850
Ripios	MELERO-1	Melero	Garibay	Mirador	8860	8870
Ripios	JAGUAR SW-2	Peguita SW	Caracara	C7-M	5480	5490
Ripios	JAGUAR SW-2	Peguita SW	Caracara	C7-M	5470	5480
Testigo	JAGUAR SW-3	Peguita SW	Caracara	C7-M	5854	5856,5
Testigo	JAGUAR SW-3	Peguita SW	Caracara	C7-M	5876	5880
Testigo	JAGUAR-24	Peguita	Caracara	C7-M	5467	5477
Ripios	CCS-C17	Caracara Sur	Caracara	C7-M	5120	5120,45
Ripios	CCS-C17	Caracara Sur	Caracara	C7-M	5125	5125,5
Ripios	CCS-C17	Caracara Sur	Caracara	C7-M	5125,8	5126,75
Núcleo	CCS-C17	Caracara Sur	Caracara	C7-M	5120	-
Núcleo	CCS-C17	Caracara Sur	Caracara	C7-M	5125.95	-
Ripios	Ramiriqui-1	Ramiriqui	LLA-22	Gachetá	18892	
Ripios	Ramiriqui-1	Ramiriqui	LLA-22	Gachetá	18921	
Ripios	Ramiriqui-1	Ramiriqui	LLA-22	Gachetá	19004	
Ripios	Ramiriqui-1	Ramiriqui	LLA-22	Gachetá	19053	
Ripios	Ramiriqui-1	Ramiriqui	LLA-22	Gachetá	19117	
Ripios	Ramiriqui-1	Ramiriqui	LLA-22	Gachetá	19275	
Ripios	Ramiriqui-1	Ramiriqui	LLA-22	Gachetá	19169	
Ripios	Ramiriqui-1	Ramiriqui	LLA-22	Gachetá	19320	
Crudo	Jilguero-1	Jilguero	Tiple	Mirador	8852	8898
Crudo	Jilguero-1	Jilguero	Tiple	Guadalupe	8991	8994
Crudo	Jilguero-1	Jilguero	Tiple	Une	9445	9468
Crudo	jilguero-1	Jilguero	Tiple	Gachetá	9258	9264

### 1.2.2. Muestras procedentes de las unidades Misoa C2 y C3 del área 2-Sur del campo Ceuta de la Cuenca del Lago Maracaibo (Venezuela).

En este segundo caso, y también con el fin de evaluar yacimientos y los efectos en ellos derivados de la presencia de “tarmat” y crudos viscosos, se tomaron doce muestras de petróleo procedentes de doce pozos diferentes y dieciocho testigos de perforación procedentes en el pozo VG-19 procedentes de las subunidades Misoa C2 y C3 del área 2-Sur del campo Ceuta (Venezuela). Además, para las correlaciones crudo-roca madre de petróleo, se contó con datos previos de la roca madre por excelencia (La Luna) en la Cuenca del Lago Maracaibo. El detalle completo de las muestras se presenta en la Tabla II.2.

Tabla II.2: Tabla en detalle de las muestras de Ceuta (Cuenca del Lago Maracaibo).

Tipo	Pozo	Intervalo	Profundidad (Pies)
Crudo	VG-72	C2	4818
Crudo	VG-22	C2	4528
Crudo	VG-80	C3	5030
Crudo	VG-02	C2/C3	5155
Crudo	VG-98	C2/C3	5087
Crudo	VG-10	C2	5099
Crudo	VG-55	C3	4804
Crudo	VG-01	C2/C3	5027
Crudo	VG-75	C2/C3	4901
Crudo	VG-84	C2/C3	4929
Crudo	VG-08	C3	5353
Crudo	VG-15	C2/C3	5088
Testigo	VG-19	C2	5171
Testigo	VG-19	C2	5218
Testigo	VG-19	C2	5225
Testigo	VG-19	C2	5234
Testigo	VG-19	C2	5236
Testigo	VG-19	C2	5241
Testigo	VG-19	C2	5249
Testigo	VG-19	C2	5254
Testigo	VG-19	C3	5264
Testigo	VG-19	C3	5268
Testigo	VG-19	C3	5275
Testigo	VG-19	C3	5284
Testigo	VG-19	C3	5305
Testigo	VG-19	C3	5306
Testigo	VG-19	C3	5310
Testigo	VG-19	C3	5312
Testigo	VG-19	C3	5315
Testigo	VG-19	C3	5318

### 1.3. Muestras procedentes de vertidos al medioambiente

#### 1.3.1. Muestras procedentes de un vertido originado en una instalación industrial costera.

Tras un vertido de fuelóleo que afectó a varios kilómetros de costa en Asturias (España) en 2012, cinco zonas de estudio fueron seleccionadas en la parte costera rocosa más afectada por el mismo. Se realizaron ocho campañas de muestreo (0, 15, 60, 180, 240, 360, 540, 720 and 900 días después del vertido, respectivamente). Se trata de unas muestras de gran interés para la elaboración del precitado protocolo analítico, puesto que permiten evaluar la fiabilidad del mismo con la evolución en el tiempo de vertidos petroleros.

Una mayor variedad espacial se consiguió ya que el día 15 tras el vertido, un segundo conjunto de cinco muestras fue recogido a 100 km al este, después de ser transportadas por la corriente en forma de “mousse” (emulsión de crudo en agua) durante 2 semanas.

#### 1.3.2. Muestras de vertidos marinos y terrestres localizadas en diferentes lugares del mundo.

Finalmente, en este trabajo se pretendió mejorar el protocolo analítico propuesto de manera con la incorporación de algunas técnicas que se pueden aplicar más rápida y eficazmente, para ello se seleccionaron una serie de muestras de diferente origen y localización, todas ellas ligadas a vertido de crudo o derivados.

Se trata en total de cinco muestras de orígenes diferentes con el fin de obtener una mezcla de vertidos conocidos y casos desconocidos, de modo que las características de los residuos recuperados fuesen diferentes y el nivel de meteorización también fuese distinto. Tres de las muestras fueron tomadas en costas afectadas por vertidos (Gallego et al., 2013; Alzaga et al., 2004; Atlas and Hazen, 2011) y las otras dos se tomaron en suelos de campos petrolíferos en áreas afectadas con vertidos producidos por accidentes (Kufman et al., 2000). (Tabla II.3.)

Table II.3: Tabla en detalle de las muestras caracterizadas en el capítulo III. B2.

Muestra	Tipo	Ambiente vertido	Estado de la muestra	Localización
Kuwait	Petroleo	Terrestre	Suelo impregnado (conservado con costra superficial)	Kuwait
Angola	Petróleo ligero	Terrestre	Suelo impregnado	Angola
Aboño	Fuel pesado	Marino	Raspado de rocas	Costa Asturias (España)
Prestige	Fuel pesado residual	Marino	Raspado de rocas	Costa Galicia (España)
Macondo	Petróleo ligero	Marino	Tarball	Costa Alabama (EEUU)

La muestra de Kuwait consiste en un suelo arenoso impregnado con el crudo vertido, que se conservado debido a los efectos de la meteorización (formación de una costra en superficie). La muestra fue tomada a 40 cm de profundidad. La muestra se recogió en campo en 2014, pero el vertido tuvo lugar durante la Primera Guerra del Golfo (1990-1991). La muestra de Angola fue tomada en 2012 en un suelo arenoso de un campo petrolero afectado por vertidos, lodos y aceites prototípicos de una zona en explotación.

A finales del 2012 la costa noroeste española se vio afectada por el vertido de un crudo pesado (alrededor de 20 toneladas) procedente de unas instalaciones industriales costeras. La muestra de Aboño fue recogida en una zona pedregosa de 500 m (se corresponde con el material ya referido en 1.3.1.).

Como en el caso de Aboño, la muestra procedente del buque Prestige es un raspado de restos de un vertido de producto petrolífero en roca. Fue recogida en 2010, siete años después del vertido, en Galicia (noroeste de España). La muestra está muy meteorizada y especialmente biodegradada debido al tratamiento de biorremediación estimulada con fertilizantes oleofílicos que tuvo lugar entre 2003 y 2005 (Gallego et al., 2006).

Por último, la muestra de Macondo es un “tarball” recogido en la costa de Alabama (EE. UU.), aproximadamente 6 semanas después de la explosión de la plataforma petrolífera “Deepwater Horizon” en el Golfo de México el 20 de abril de 2010.

## 2. PROTOCOLO PARA LA CARACTERIZACIÓN DE PETRÓLEOS PESADOS Y SUS FRACCIONES

Las aplicaciones de la metodología “fingerprinting” para el estudio de vertidos de petróleo crudo y sus productos derivados han tenido una creciente mejora en las últimas décadas. Además de la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas convencional (GC-MS), otros métodos como la espectrometría de masas por relación de isótopos estables de crudo total, fracciones SARA y compuestos específicos (IRMS), la cromatografía de gases bidimensional (GCxGC) y la espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) han demostrado su efectividad. Sin embargo, en el estudio de emplazamientos contaminados, así como en la producción petrolera en yacimientos afectados por “tarmats”, donde se necesitan resultados rápidos, los análisis de gran complejidad son poco prácticos.

En este contexto, esta tesis pretende desarrollar un procedimiento experimental con técnicas geoquímicas sencillas que nos proporcione la información necesaria para poder identificar las causas del enriquecimiento en asfaltenos de las diferentes muestras, así como la evolución y origen de estas. Obviamente, el procedimiento general que se expondrá a continuación se ha aplicado con ciertas variantes a cada uno de los casos estudiados, destacando varias técnicas basadas en la espectrometría de masas, mientras que otras se han utilizado ocasionalmente. El esquema general del proceso se presenta en la Figura II.1.

### 2.1. Técnicas principales (utilizadas en todos los casos)

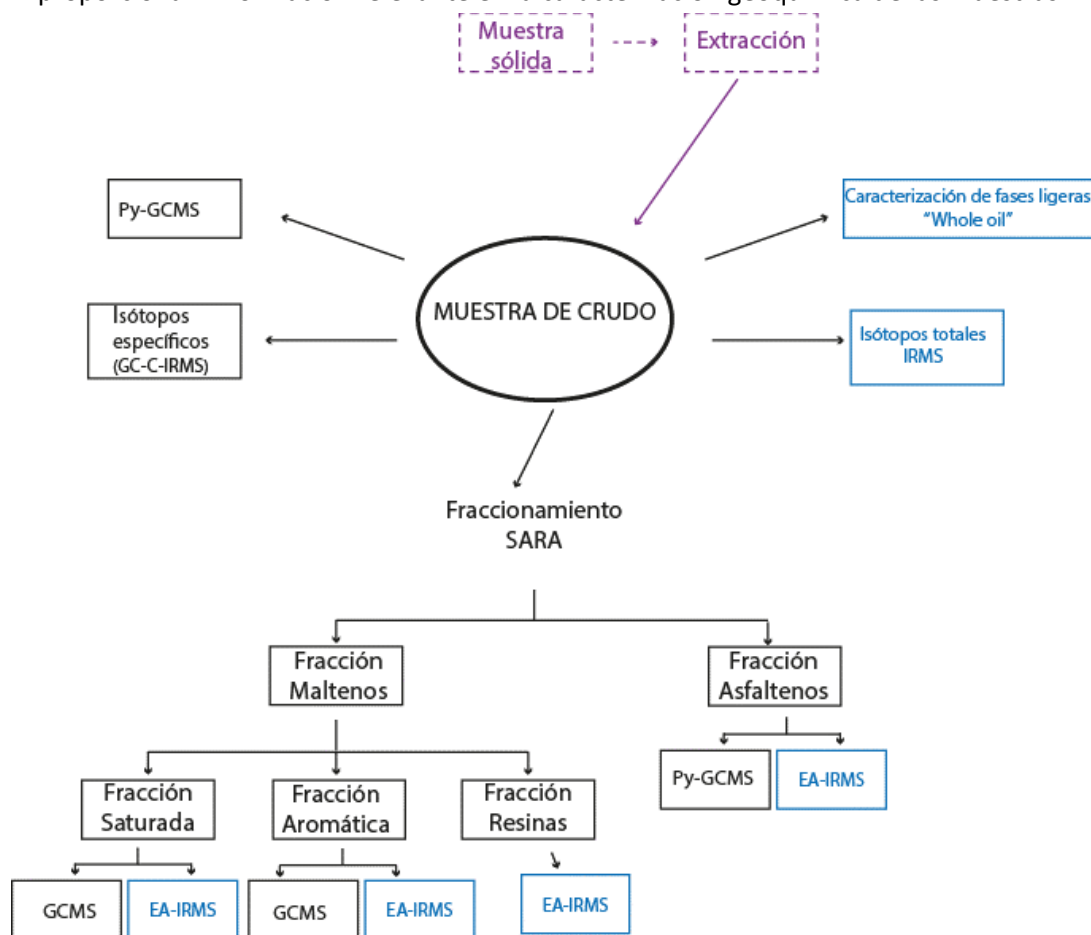
- Fraccionamiento mediante cromatografía líquida (metodología SARA).

Con el objetivo de estudiar los componentes de los extractos de cada muestra sólida y crudo se realizó un fraccionamiento de estos, siendo así más fácil la identificación de compuestos que analizando la muestra total (o extracto total). Para ello se realizó un fraccionamiento SARA en las muestras (y extractos), que consiste en obtener una serie de

fracciones en función de la polaridad de los compuestos. Se obtienen cuatro fracciones: saturados (SAT), aromáticos (ARO), resinas (RES) y asfaltenos (ASP). Primeramente, la muestra seca se disuelve en *n*-hexano y se hace pasar la muestra por filtros de membrana de politetrafluoroetileno (PTFE) de 0.45 µm. El vial y el filtro se lavan varias veces con *n*-hexano, de esta manera se separan los maltenos. El sólido negro que queda en el filtro y en el vial se disuelve en diclorometano para obtener la cuarta fracción (ASP). Por último, los maltenos se dividen entre sí por cromatografía líquida (LC) utilizando pipetas serológicas de vidrio (PYREX) y, como soportes cromatográficos, sílica gel y alúmina en relación aproximada 1:6 (Bennett y Larter, 2000; Carpentier et al., 2007; Li et al., 2015). La primera fracción (SAT) eluye con *n*-hexano, la segunda fracción (ARO) con una mezcla diclorometano y *n*-hexano (7:3, v/v), y finalmente las resinas (RES) se eluyen con diclorometano: metanol (1: 1, v/v).

Las fracciones de aromáticos (ARO) y saturados (SAT) se llevaron a análisis GC-MS con el propósito de realizar una caracterización química de las muestras en detalle.

Además, todas las fracciones fueron cuantificadas gravimétricamente para conocer los porcentajes de saturados (SAT), aromáticos (ARO), resinas (RES) y asfaltenos (ASP), que proporcionan información relevante en la caracterización geoquímica de las muestras.



\*Solo para muestras procedentes de yacimientos (no muestras de vertidos)

\*En muestras solidas hay que hacer una extracción previa

Figura II.1: Diagrama resumen de las técnicas analíticas que configuran el protocolo analítico

- GC-MS de las fracciones saturada y aromática obtenidas mediante LC.

Tras la gravimetría para cuantificar las fracciones presentes en las muestras procedentes de yacimientos de crudo, éstas se analizan mediante GC-MS (Marcano et al., 2011; Bennet et al., 2006). Las fracciones de aromáticos y saturados se inyectan en un GCMS\_QP2010 Plus (Shimadzu). Las columnas capilares usadas (60 m x 0.25 mm i.d. x 0.10  $\mu\text{m}$ ) son DB-5ms para ARO y DB-1ms para SAT, ambas de la casa comercial Agilent. La temperatura inicial del horno fue de 50°C (durante 2 minutos); la rampa de temperatura aplicada fue de 2.5°C/min hasta alcanzar 300°C, esta temperatura final se mantuvo 70 minutos. El espectrómetro de masas trabaja en modo de ionización electrónica (EI) a 70 eV. Este detector se calibra diariamente con perfluorotributilamina (PFTBA) mediante el procedimiento de ajuste “autotuning”, herramienta del software “GC-MS Solution”. El modo de adquisición de los cromatogramas fue barrido o “full-scan”, con un intervalo de adquisición entre 45 y 500  $m/z$ .

Por su parte, las muestras procedentes de vertidos se inyectaron en un equipo 7890A GC System (Agilent) acoplado a un espectrómetro 5975C Inert XL MSD. Las columnas capilares usadas (60 m x 0.25 mm i.d. x 0.10  $\mu\text{m}$ ) son DB-5ms para ARO y DB-1ms para SAT, ambas de la casa comercial Agilent. La temperatura inicial del horno fue de 40°C (que se mantuvo 5 minutos); la rampa de temperatura aplicada fue de 5°C/min hasta alcanzar 300°C, esta temperatura final se mantuvo 20 minutos. El espectrómetro de masas trabaja en modo de ionización electrónica (EI) a 70 eV y se calibra con perfluorotributilamina (PFTBA) mediante el procedimiento de ajuste “autotuning”. El modo de adquisición de los cromatogramas fue también barrido o “full-scan”, con un intervalo de adquisición entre 45 y 500  $m/z$ .

Los fragmentogramas empleados para estudiar la fracción de hidrocarburos saturados son los relativos a los iones  $m/z$  99 y 71 en muestras medioambientales (*n*-alcanos e isoprenoides), 191 (tricyclopiliprenanos y hopanos),  $m/z$  177 (25-norhopanos), 217 (esteranos regulares) y 412 (oleanano); mientras que para la fracción de aromáticos se monitorearon los iones  $m/z$  154 (bifenilo), 178 (fenantreno), 184 (dibenzotiofeno), 192 (fenantrenos metilados), 198 (metildibenzotiofenos) y 231 (esteroides triaromáticos). Todas las relaciones discutidas en los diferentes tipos de muestras se derivan de la integración manual de las áreas de los picos generados en los fragmentogramas respectivos mediante el software “GCMS Solution” (Agilent).

- Py-GC-MS de muestra total y de la fracción asfáltica.

La mayoría de los biomarcadores de un petróleo biodegradado se ven alterados. Sin embargo, durante la biodegradación de un petróleo, la fracción polar que contiene los asfaltenos permanece inalterada, según lo determinado por análisis gravimétricos y elementales (Rubistein et al., 1977). Se cree que los asfaltenos son materiales poliméricos heterogéneos que contienen proporciones variables de restos saturados y aromáticos. Por lo que al pirolizar la muestra se liberan los biomarcadores del crudo original inalterado.

Se realizaron pruebas a diferentes temperaturas para evaluar la temperatura óptima de liberación de los biomarcadores atrapados en la fracción ASP. Así, la pirólisis de las muestras

se realizó usando un sistema PY-2020iD de “Frontier Laboratories” a las temperaturas que se indicarán a continuación, acoplado a un equipo GCMS-QP2010 (Shimadzu). Los gases producidos en la pirólisis pasan directamente a la columna cromatográfica (DB-1ms: 60 m x 0.25 mm i.d. x 0.10  $\mu$ m). La temperatura inicial del horno fue 50°C, se programó de 50 a 300°C (a 5°C/min) manteniéndose 15 minutos a esta temperatura. El modo de adquisición de los cromatogramas fue barrido o “full-scan”, con un intervalo de adquisición entre 50 y 500 *m/z*.

Siguiendo un procedimiento similar al establecido por Lara-Gonzalo (2015b), en la pirólisis secuencial de una muestra, esta se introduce en el pirolizador obteniéndose los cromatogramas a la temperatura de 300°C durante 20 segundos; una vez acaba la adquisición del cromatograma de termodesorción, el producto se lleva a temperatura de pirólisis (610°C) obteniéndose el denominado pirocromatograma. La pirólisis secuencial fue usada por primera vez con estos fines por Whelan y colaboradores en 1980. Como se ha podido comprobar en la bibliografía, con temperaturas de hasta 300-350°C se habla obviamente de termodesorción más que de pirólisis; mientras que con temperaturas de hasta 800°C se trata de un proceso de descomposición térmica o pirólisis. A la fracción asfáltica se le aplicó directamente una pirólisis a 610°C con las mismas condiciones e instrumentación, pero sin el paso previo de la termodesorción; en este caso se utilizaron equipos diferentes pero con configuraciones muy similares de la Universidad de Oviedo, CSIC (IRNAS) de Sevilla y de la Montclair State University (EE.UU.).

En cuanto a las muestras de los yacimientos de crudo no convencional de Los Llanos (Colombia) y Ceuta (Venezuela) (A1 y A2 del capítulo 3 de esta tesis doctoral), los asfaltenos se analizaron mediante pirólisis “flash” combinada con cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas (Py-GC-MS). Estos análisis se llevaron a cabo por medio de un equipo Curie-point Pye-Unicam operado a 700°C durante 8 segundos. El cromatógrafo de gases es un equipo HP 5890 Series II acoplado a un espectrómetro de masas Agilent 5973N. Se utilizó helio como gas portador. La columna utilizada fue una columna HP-5 (60 m x 0.25 mm id x 0.10  $\mu$ m). La temperatura inicial del horno era 40°C (se mantuvo durante 2 minutos) y se aumentó a razón de 2.5°C/min para alcanzar 260°C (se mantuvo durante 16 minutos). El espectrómetro de masas fue operado en EI a 70 eV (Rubinstein et al., 1977b).

En el caso de las muestras procedentes del vertido de crudo en la costa asturiana de Aboño (Apartado B1, capítulo 3), los asfaltenos se analizaron utilizando un pirolizador de doble disparo PY-2020iD (Frontier Lab) acoplado a un equipo Shimadzu GCMS-QP2010 equipado con una columna DB-5ms (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m). La temperatura del horno se programó de 50°C a 310°C (a 5°C/min) con una rampa de calentamiento de 5°C/min; la temperatura final se mantuvo durante 20 minutos. La pirólisis se realizó durante 20 segundos a 610°C. El espectrómetro de masas fue operado en modo de “full scan” (45 a 500 *m/z*). Se añadió decadeuteropireno a las muestras de suelo como patrón interno (De Leeuw et al., 1986).

Finalmente, para las muestras de diferentes orígenes (Capítulo 3 apartado B2) se probaron diferentes equipos y modos de pirólisis para obtener la información que aportaban cada una de ellas. Así, varias de estas muestras se analizaron mediante un

procedimiento antes referido usando un sistema PY-2020iD de “Frontier Laboratories” a la temperatura de desorción térmica 300°C durante 20 segundos; una vez acaba la adquisición del cromatograma de termodesorción, el producto se lleva a temperatura de pirólisis (610°C) obteniéndose el pirocromatograma. El pirolizador se encuentra acoplado a un equipo Shimadzu GCMS-QP2010. Los gases producidos en esta pirólisis pasan directamente a la columna cromatográfica (DB-1MS: 60 m x 0.25 mm i.d. x 0.10 µm). La temperatura inicial del horno fue de 50°C, se programó desde 50 a 300°C (a 5°C/min) manteniéndose 15 minutos a esta temperatura. El modo de adquisición de los cromatogramas fue barrido, con un intervalo de adquisición entre 50 y 500 *m/z*.

Otras muestras fueron analizadas mediante un pirolizador CDS 5150 acoplado a un equipo GC-MS Thermo Finnigan Focus DSQ. Las condiciones de pirólisis (termodesorción más pirólisis), cromatógrafo y espectrómetro de masas fueron las mismas que las explicadas anteriormente.

En este último caso, debido a que una de las muestras se encontraba en muy pequeña cantidad, otra de las condiciones que se probó fue hacer un análisis en un solo paso de pirólisis a 610°C durante 20 segundos, es decir, un experimento combinado de termodesorción más pirólisis. Para esto, se introdujo la muestra en un pirolizador CDS 2000 acoplado a un GC-MS Thermo Finnigan Focus DSQ equipado con una columna J&W DB-1MS (15 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 µm). Las condiciones del horno y el espectrómetro de masas fueron las mismas que las utilizadas anteriormente.

## 2.2. Técnicas complementarias.

Además del protocolo general ya descrito, en algunos de los trabajos se aplicaron otras técnicas de tipo complementario que se describen brevemente a continuación.

- Caracterización de fases ligeras en crudo total mediante GC-FID

El análisis “whole-oil GC” nos da información de todos los componentes de la muestra, aunque de especial interés son los compuestos más ligeros (menos de 15 átomos de carbono), los cuales están en parte desaparecidos en los cromatogramas de las fracciones de saturados y aromáticos ya que se pierden durante el tratamiento de la muestra. La información proporcionada por el cromatograma “whole oil” nos ayuda a caracterizar la muestra (Permanyer et al., 2011). El inconveniente de esta técnica es que no es aplicable en crudos viscosos ni en muestras sólidas (“tarmats” o “tarballs”), puesto que éstas ya han perdido prácticamente todos los compuestos volátiles.

En los casos en que se efectuó, la muestra de crudo líquida se inyecta directamente “on column” en un equipo J&W Agilent PONA, con una columna cromatográfica (50 m x 0.2 mm i.d.; 0.25 µm) y con helio como gas portador, acoplado a un instrumento Delta Chrom Series 9980 con detector de ionización de llama (GC-FID). Las condiciones operativas del cromatógrafo de gases son las siguientes: la temperatura se mantuvo a 35°C durante 15 minutos, incrementándose de 35 a 320°C con una rampa de calentamiento de 2°C/min, por

último, se mantiene la temperatura de 320°C durante 30 minutos. Los datos fueron adquiridos e interpretados usando en programa "GC ChemStation" de Agilent.

- Extracción de muestras sólidas.

Para poder hacer un fraccionamiento de las muestras sólidas (rocas madres, "tarmats" o "tarballs"), primero se debe obtener un extracto de la muestra. Para ello, primero se pesaron 2g de muestra de suelo en cartuchos de celulosa (ALBET) y se extrajo con una mezcla diclorometano: metanol (3:1, v/v) en un sistema Soxtherm (Gerhardt). Se probó la extracción de fases solidas con diferentes disolventes para obtener la mezcla que extrajese los hidrocarburos de las muestras solidas con mayor eficacia. Tras analizar los "whole oil" de diversas extracciones con diferentes disolventes, se concluyó que la mezcla diclorometano: metanol (3:1, v/v) era la que proporcionaba una mejor resolución de los picos cromatográficos. La extracción se realizó a 150°C en dos etapas, una primera ("hot extraction" de una 1 hora y una segunda ("rinse") de 1 hora y 30 minutos. El extracto obtenido se concentra usando rotovapor (Heidolph) y luego se lleva a sequedad, en un vial previamente pesado, bajo corriente de nitrógeno (Marcano, 2011; Lara-Gonzalo, 2015).

- Análisis isotópico de las fracciones SARA (IRMS)

El análisis isotópico del crudo total (IRMS) es una herramienta de correlación, pues comparando dos muestras de crudo (o extracto de roca madre) se puede interpretar si su contenido isotópico es similar o, si por el contrario, difieren a efectos de poder establecer correlaciones crudo-crudo o crudo-roca madre. La espectrometría de masas por relación de isótopos estables de las fracciones SARA proporciona una información más detallada.

Para el cálculo de la relación de isótopos estables del carbono, las muestras o fracciones SARA se inyectan en un analizador elemental modelo Finnigan 1112 acoplado a un espectrómetro de masas modelo Finnigan Mt Delta C. Se utilizaron los siguientes materiales de referencia: USGS-24 grafito, IAEA-CH6 sacarosa, IAEA-CH7 polietileno y NBS-22 aceite. La composición isotópica del azufre se determinó usando un equipo Carlo Erba NA 1500 acoplado a un espectrómetro de masas. La determinación de los ratios  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  y  $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$  para el cálculo de la desviación isotópica " $\delta$ ", en cada caso, se han basado en los materiales de referencia PDB -"fósil belemnita de la Formación Peedee en Carolina del Sur"- y CDT -"mineral troilita del Cañón del Diablo en Arizona"- (Márquez et al., 2016).

- Análisis isotópico de compuestos específicos (CSIA)

La técnica GC-IRMS permite conocer la proporción de los dos isótopos estables del carbono para un pico (compuesto) determinado. Esta técnica resulta muy útil para aclarar los procesos secundarios que se han producido en los yacimientos o reservorios de petróleo crudo. Los crudos que dan lugar a la aparición de "tarmats" no suelen ser "crudos sencillos" geoquímicamente hablando, sino que suelen haber sufrido distintos procesos secundarios que hacen más complicada su interpretación desde el punto de vista geoquímico.

Los análisis individuales de  $\delta^{13}\text{C}$  para *n*-alcanos se llevaron a cabo usando un cromatógrafo de gases (modelo TRACETM) acoplado a un espectrómetro de masas (casa comercial Advantage) con una interfase GC-isolink. La columna capilar utilizada fue una DB-5 (60 m × 0.25 mm i.d. × 0.10- $\mu\text{m}$ ). La temperatura inicial fue 60°C mantenida durante 1 minuto, siendo después incrementada a razón de 25°C/min hasta 150°C; en una segunda rampa, se incrementó a razón de 6°C/min hasta 320°C, temperatura final que se mantuvo 20 minutos. El gas portador fue helio. La temperatura del inyector en modo “splitless” (1 minuto) se estableció en 250°C con una temperatura de combustión de 1000°C. Se utilizó como estándar una mezcla isotópica certificada de *n*-alcanos en el rango entre 14 y 32 átomos de carbono (Hall et al., 2014; Harvey et al., 2015).

- GC-MS de la fracción polar sin derivatizar.

Con el fin de conocer su composición (especialmente relevante en estudios medioambientales), la fracción RES de algunas muestras de vertidos se inyectaron en un equipo 7890A (Agilent) acoplado a un espectrómetro de masas 5975C Inert XL MSD. La columna capilar utilizada fue una DB-5ms (60 m x 0.25 mm i.d. x 0.10  $\mu\text{m}$ ) de Agilent. La temperatura inicial del horno fue de 40°C (que se mantuvo 5 minutos), la rampa de temperatura aplicada fue de 5°C/min hasta alcanzar los 300°C, esta temperatura final se mantuvo durante 20 minutos. El espectrómetro de masas operó en modo de ionización electrónica (EI) a 70 eV y, también, se calibró con perfluorotributilamina (PFTBA) mediante el procedimiento de ajuste “autotuning”. El modo de adquisición de los cromatogramas fue también mediante barrido o “full-scan” con un intervalo de adquisición entre 45 y 500 *m/z* (Lara-Gonzalo, 2015). Esta técnica permitió identificar principalmente compuestos cetónicos (alcanonas).

### 2.3. Otras técnicas adicionales

Al margen de los análisis de hidrocarburos y fracciones pesadas propias de esta tesis doctoral y del protocolo puesto a prueba, puntualmente se han realizado otras determinaciones que se detallan seguidamente.

- Contenido de elementos mayoritarios C, H, N y S.

El contenido de C, H, N y S fue medido usando un instrumento de análisis elemental Truspec LECO, en el que se introducen las muestras sólidas en un horno de combustión de alta eficiencia y los diferentes elementos se miden mediante un detector FID.

Contenido en vanadio, níquel y hierro.

La concentración de estos metales se determinó mediante espectroscopia de emisión atómica con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-AES) usando un espectrómetro secuencial Perkin Elmer modelo Optima 3000 (Márquez et al., 2016). Para ello, con carácter previo, cada muestra de petróleo crudo fue sometida a una digestión ácida asistida por energía de microondas. Para tal ataque se tomaron aproximadamente 0,2 gramos de cada muestra y se

colocaron en viales de 100 mililitros. Posteriormente, se añadieron a estos viales 6 mililitros de HNO<sub>3</sub> al 70%, 2 mililitros de HCl al 37 % y 2 mililitros de HF al 48%. Luego, los viales fueron introducidos en un horno de microondas y se procedió a realizar el calentamiento, el cual se llevó a cabo en tres etapas: una primera consistente en un incremento desde la temperatura ambiente hasta 160°C en 9 minutos, con una potencia máxima de 1000 vatios; una segunda que supuso un aumento de temperatura desde 160 a 210°C en 4 minutos con la misma potencia máxima que en la etapa anterior; y una última a una temperatura constante de 210°C durante 25 minutos y con una potencia máxima de 700 vatios. Al finalizar el calentamiento, los viales se dejaron enfriar hasta temperatura ambiente y luego fueron abiertos a fin de añadir a cada una de las muestras 10 mililitros de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (disolución al 5 % p/v) y 1 mililitros de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30 %.

- Gravedad API

La empresa CEPESA facilitó, conjuntamente con las muestras de la Cuenca Los Llanos (Capítulo III, A1), los datos de gravedad API de las mismas. En cualquier caso, la metodología de análisis de la gravedad específica siguió el método estándar ASTM D287-92 (ASTM, 2006).

- Análisis petrográfico

Se realizó el análisis petrográfico de algunas muestras de testigos de perforación de las unidades C2 y C3 del campo Ceuta (Capítulo III, B2) que contenían “tarmats”. Secciones delgadas de doble pulido para estas muestras se prepararon siguiendo el procedimiento estándar y se examinaron con un microscopio petrográfico modelo Zeiss Axiophot. Además, se realizó un análisis textural detallado utilizando un microscopio electrónico de barrido Jeol JSM-7100F equipado con un espectrómetro de rayos X dispersivo (SEM-EDS). Por último, la petrología orgánica fue estudiada usando un microscopio de fluorescencia modelo Nikon UFX-DX Labophot equipado con una lámpara de Hg. Se observaron secciones pulidas utilizando una luz azul violeta con una longitud de onda de 395-440 nm (Sachsenhofer et al., 2006).

- Pirólisis Rock-Eval en modo reservorio

Un total de 81 muestras de los pozos VG-82, VG-28 y VG-19 de Ceuta (capítulo III, B2) de las unidades C2 y C3 fueron analizadas mediante Rock-Eval/TOC utilizando un instrumento de Vinci Technologies y siguiendo los procedimientos descritos por Carpentier et al. (2007). Los picos S1r, S2a y S2b representan hidrocarburos libres, hidrocarburos no volátiles pirolizables y los productos del craqueo térmico de asfaltenos más resinas o compuestos polares (Ghenima et al., 1991; Romero-Sarmiento et al., 2016). El carbono residual (RC) se obtiene después de la oxidación térmica de la materia orgánica residual (Trabelsi et al., 1993).

#### **2.4. Tratamiento estadístico y control de calidad.**

Todas las muestras se pesaron en balanzas de precisión de cuatro o cinco decimales, mientras los disolventes utilizados fueron de calidad analítica (Merck).

Debido a la dificultad para efectuar una clasificación de las muestras de petróleo crudo de la Cuenca Los Llanos, y con el objetivo de establecer correlaciones crudo-crudo entre las mismas, se realizó un análisis estadístico multivariante tipo “cluster” basándose en 12 variables (Pr/Ph, 26/25T, 24/23T, 21/23T, Ts/Tm, 29/30H, DBT/P, %27ST, %29ST, ratio de diasteranos, 31R/30H, ST/H,  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{13}\text{C}_{\text{ARO}}$ ). El análisis “cluster” ha sido realizado siguiendo el método de Ward (Everitt, 1993). Se utilizó el programa SPSS 22.0 para Windows.

### 3. BIBLIOGRAFÍA

Alzaga, R., Montuori, P., Ortiz, L., Bayona, J.M., Albaigés, J., (2004). Fast solid-phase extraction\_gas chromatography\_mass spectrometry procedure for oil fingerprinting: Application to the Prestige oil spill. *J. Chromatogr. A.* 1025, 133-138.

Atlas, R.M., Hazen, T.C., (2011). Oil biodegradation and bioremediation: A tale of the two worst spills in U.S. history. *Environ. Sci. Technol.* 45, 6709\_6715.

ASTM, (2006). Standard Test Method for API Gravity of Crude Petroleum and Petroleum Products (Hydrometer Method). West Conshohocken: ASTM International

Bennett, B., Larter, S., (2000). Quantitative separation of aliphatic and aromatic hydrocarbons using silver ion-silica solid-phase extraction. *Analytical Chemistry*, 72(5), 1039-1044.

Bennett, B., Fustic, M., Farrimond, P., Huang, H., Larter, S.R. (2006). 25-Norhopanes: Formation during biodegradation of petroleum in the subsurface. *Organic Geochemistry* 37, 787-797.

Carpentier, B., Arab, H., Pluchery, E., Chautru, J.M., (2007). Tar mat and residual oil distribution in a giant oil field offshore Abu Dhabi. *J. Petroleum Sci. Eng.* 58, 472e490.

De Leeuw, J.W., De Leer, E.W.B., Damste, J.S.S., Schuyf, P.J.W., (1986). Screening of anthropogenic compounds in polluted sediments and soils by flash evaporation/pyrolysis gas chromatography-mass spectrometry. *Anal. Chem.* 58, 1852-1857.

Everitt, B.S., (1993). Cluster Analysis. In: Edward Arnold ed. *Multivariate statistics*. Oxford University Press, London, pp. 42-50.

Gallego, J. R., González-Rojas, E., Peláez, A. I., Sánchez, J., García-Martínez, M. J., Ortiz, J. E., Llamas, J. F. (2006). Natural attenuation and bioremediation of prestige fuel oil along the atlantic coast of Galicia (Spain). *Organic Geochemistry*, 37(12), 1869-1884. 10.1016/j.orggeochem.2006.07.022

Gallego, J.R., A. Lara-Gonzalo, E. Rodríguez-Valdés, G. Márquez, M. Escobar, (2013). Natural attenuation of heavy fuel oil components along oiled shores. 26th International Meeting on Organic Geochemistry; Tenerife (Spain).

Ghenima, R., Espitalié, J., Barsony, I., Trabelsi, K., Gribaa, R., Attia, C., Berbero, L., Volpi, B., (1991). Organic Geochemical Study of a Tar Mat Deposit in a Triassic Sandy Reservoir. Extended Abstract on the 3rd EAPG Conference. May 26e30, Florence, Italy.

Hall, P. A., McKirdy, D. M., Grice, K., Edwards, D. S. (2014). Australasian asphaltite strandings: Their origin reviewed in light of the effects of weathering and biodegradation on their biomarker and isotopic profiles. *Marine and Petroleum Geology* 57.572-593

Harvey, S. D., Jarman, K. H., Moran, J.J., Sorensen, C.M., Wright B. W. (2012). Characterization of diesel fuel by chemical separation combined with capillary gas chromatography (GC) isotope ratio mass spectrometry (IRMS). *Talanta*, 99, 262–269.

Kaufman, R.L., Kabir, C.S., Abdul-Rahman, B., Quttainah, R., Dashti, H., Pederson, J.M. (2000). Characterizing the Greater Burgan field with geochemical and other field data. *SPE Reserv. Eval. Eng.* 3, 118-126.

Lara-Gonzalo, A., Kruge, M.A., Lores, I., Gutierrez, B., Gallego, J.R. (2015<sup>a</sup>). Pyrolysis GCMS for the rapid environmental forensic screening of contaminated brownfield soil. *Org. Geochem* 87, 9e20.

Lara-Gonzalo, A. (2015b). Análisis forense ambiental de la contaminación multicomponente en un terreno industrial abandonado. Tesis doctoral. Universidad de Oviedo

Li, N., Huang, H., Jiang, W., Wuc, T., Sun, J. (2015). Biodegradation of 25-norhopanes in a Liaohé Basin (NE China) oil reservoir. *Organic Geochemistry* 78, 33–43.

Marcano, N.I. (2011). Isotopic and Molecular Studies of Biodegraded Oils and the Development of Chemical Proxies for Monitoring In Situ Upgrading of Bitumen. Tesis doctoral.

Márquez, G., Escobar, M., Lorenzo, E., Duno, L., Esquinas, N., Gallego, J.R. (2016). Intra- and inter-field compositional changes of oils from the Misoa B4 reservoir in the Ceuta Southeast Area (Lake Maracaibo, Venezuela). *Fuel* 167. 118–134.

Permanyer, A., Márquez, G., Gallego, J.R. (2013). Compositional variability in oils and formation waters from the Ayoluengo and Hontomín fields (Burgos, Spain). Implications for assessing biodegradation and reservoir compartmentalization. *Organic Geochemistry* 54. 125–139

Trabelsi, K., Ghenima, R., Espitalie, J. (1993). June 7e11, Stavanger, Norway. In: Tar Mat Detection in Oil Main Reservoirs by Modified Pyrolysis Methods. Extended Abstract on the 5th EAPG Conference.

Rubinstein, I., Strausz, O.P., Spyckerelle C., Crawford R. J. and Westlake D. W. S. (1977a). The origin of the oil sand formations of Alberta: a chemical and a microbiological simulation study. *Geochim. Cosmochim. Acta* 41, 1341-1353.

Rubinstein, I., Spyckerelle, C., Strausz, O.P. (1977b). Pyrolysis of asphaltenes: a source of geochemical information. *Geochemica and Cosmochemica Acta*, 47, 1-6

Romero-Sarmiento, M.F., Pillot, D., Letort, G., Lamoureux-Var, V., Beaumont, V., Huc, A.-Y., Garcia, B. (2016). New Rock-Eval method for characterization of unconventional shale resource systems. *Oil Gas Sci. Technology-Revue d'IFP Energies Nouvelles* 71, 37-45.

Sachsenhofer, R.F., Gratzner, R., Tschelaut, W., Bechtel, A. (2006). Characterisation of non-producible oil in Eocene reservoir sandstones (bad hall nord field, alpine Foreland Basin, Austria). *Mar. Pet. Geol.* 23, 1-15.

Whelan, J.K., Hunt, J.M., Huc, A.Y. (1980). Applications of thermal distillation—pyrolysis to petroleum source rock studies and marine POLLUTION. *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, 2, 79-96.

### **3: Resultados y discusión**



## Resultados y discusión

Los artículos y capítulo de libro que forman parte del apartado “Resultados y discusión”, han sido retirados de la tesis debido a restricciones relativas a derechos de autor. En sustitución de los documentos ofrecemos la siguiente información: referencia bibliográfica, enlace a la revista, y resumen.

- Esquinas Gómez, N., Márquez Martínez, G., Permanyer, A., Rodríguez Gallego, J.L.: “Geochemical evaluation of crude oils from the Caracara and Tiple areas, Eastern Llanos Basin, Colombia: palaeobiodegradation and oil mixing. *Journal of Petroleum Geology*. Vol. 41, n. 2, págs.. 113-134, (2018). DOI: 10.1111/jpg.12696

Acceso al texto completo: <https://doi.org/10.1111/jpg.12696>

### RESUMEN:

This study presents an organic geochemical characterization of heavy and liquid oils from Cretaceous and Cenozoic reservoir rocks in the Tiple and Caracara blocks in the eastern Llanos Basin, Colombia. Samples of heavy oil were recovered from the Upper Eocene Mirador Formation and the C7 interval of the Oligocene – Miocene Carbonera Formation; the liquid oils came from these intervals and from the Cretaceous Guadalupe, Une and Gachetá Formations. The heavy oil and most of the liquid oils probably originated from multiple source rocks or source facies, and showed evidence of biodegradation as suggested by the coexistence of n-alkanes and 25-norhopanes. The results indicate a close genetic relationship between the samples in the Carbonera (C7 interval), Mirador and Guadalupe Formation reservoirs. These petroleums are interpreted to result from at least two separate oil charges. An early charge (Oligocene to Early Miocene) was derived from marine carbonate and transitional siliciclastic Cretaceous source rocks as indicated by biomarker analysis using GC/MS. This initial oil charge was biodegraded in the reservoir, and was mixed with a later charge (or charges) of fresh oil during the Late Miocene to Pliocene. A relatively high proportion of the unaltered oil charge was recorded for heavy oil samples from the Melero-1 well in the Tiple block, and is inferred to originate from Cenozoic carbonaceous shale or coaly source rocks. Geochemical parameters suggest that oils from the Gachetá and Une Formations are similar and that they originated from a source different to that of the other oil samples. These two oils do not correlate well with extracts from transitional siliciclastic source rock from the Upper Cretaceous Gachetá Formation in the Ramiriqui-1 well, located in the LLA 22 block to the north. By contrast, one or more organofacies of the Gachetá Formation may have generated the heavy oil and most of the liquid oil samples. The results suggest that the heavy oils may have formed as a result of biodegradation at the palaeo oil-water contact, although deasphalting cannot entirely be dismissed.

- Márquez Martínez, G., Escobar, M., Esquinas Gómez, N., Duno, L., Martín Martín, J.D., Permanyer, A.: "Characterization of tar-like material and producible oil in Misoa C2 and C3 reservoir sands of the Area 2 South (Ceuta Field, Venezuela)". *Marine and Petroleum Geology*. Vol. 82, págs. 118-133, (2017). DOI: 10.1016/j.marpetgeo.2017.02.006

Enlace al texto completo: <https://doi.org/10.1016/j.marpetgeo.2017.02.006>

#### **RESUMEN:**

Here we characterized asphaltic oil occurrences in the Misoa C2 and C3 reservoirs within Area 2 South of the Ceuta Field (Lake Maracaibo Basin, NW Venezuela). To perform the geochemical and petrological characterization of the C2 and C3 sub-units, which cover an interval in which tar-like material was detected, we analyzed core (18) and cutting (123) samples using the Rock-Eval 6 technique in reservoir mode. Samples were studied under fluorescence light and scanning electron microscopy (SEM), showing the presence of two charges of oils and the relationships within silica cements and clay minerals. To evaluate vertical inter-reservoir communication and lateral intra-reservoir continuity, we also studied 12 oil samples from wells in Area 2 South. Biomarkers and isotopic signatures were examined using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and isotope ratio mass spectrometry (IRMS). The results suggest that oil and core extracts belongs to a single family derived from two pulses of hydrocarbon generation from the La Luna source rock, which was deposited in a marine reducing environment. The oil samples are a mixture of a paleobiodegraded oil charge and a later fresh, more mature oil recharge. The geochemical analyses also evidence that the formation of heavy oil tar zones can be related to biodegradation and in-reservoir oil mixing, though other formation mechanisms for the tar are also feasible. Finally, the GC fingerprints of the oils are indicative of lateral reservoir continuities across the F-1 and F-2 faults and vertical communication between the Misoa C2 and C3 sub-units in Area 2 South, suggesting that tar occurrences do not act as permeability barriers within the two reservoirs studied.

- Esquinas Gómez, N., Rodríguez Valdés, E., Márquez Martínez, G., Rodríguez Gallego, J.L.: "Diagnostic ratios for the rapid evaluation of natural attenuation of heavy fuel oil pollution along shores". *Chemosphere*. Vol. 184, págs. 1089-1098, (2017). DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.06.087

Enlace al texto completo: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.06.087>

#### **RESUMEN:**

Marine oil spills are typically followed by complex clean-up and monitoring operations of the shorelines affected. In this regard, determination of the changes in the chemical composition of the spilled product is crucial for evaluation purposes. The "GC-MS fingerprint" approach requires the identification of several key parameters in order to differentiate between weathering processes. In this context, we performed a 900-day

study (eight sampling campaigns) of natural attenuation on a rocky shore affected by a heavy fuel oil spill. The residues coating the rocks were studied by extraction, separation and evaluation of SARA fractions, followed by GC-MS analysis for saturates and aromatics. The results identified a group of diagnostic ratios with irregular capabilities to differentiate between volatilization, photodegradation, and biodegradation (using *n*-alkanes, isoprenoids and PAHs), while a second group of primarily stable ratios (using dibenzothiophenes, tricyclics and hopanes) was also obtained. Notably, this is the first time that some of these ratios have been used for marine spill monitoring purposes. The ratios were applied not only to evaluate weathering at the study site, but also to obtain a comparison with the degradation of floating oil slicks—a demonstration that weathering of the latter was quicker than that of oil on the shore rocks. Additionally, Pyrolysis-GC-MS analysis of the asphaltene fraction of residues coating the rocks revealed moderate changes in the composition of this initially recalcitrant fraction. These changes were consistent with those found in the proportion of resins and asphaltene fractions over time.

- Kruge, M.A., Rodríguez Gallego, J.L., Lara Gonzalo, A., Esquinas Gómez, N.: "Environmental Forensics Study of Crude Oil and Petroleum Product Spills in Coastal and Oilfield Settings: Combined Insights From Conventional GC-MS, Thermodesorption-GC-MS, and Pyrolysis-GC –MS". En: Scott Stout Zhendi Wang, editors. *"Oil Spill Environmental Forensics Case Studies"*. Elsevier, 2017. p. 131-155

**A1. Artículo 1:**

Geochemical evaluation of crude oils from the Caracara and Tiple areas, Eastern Llanos Basin, Colombia: palaeobiodegradation and oil mixing.

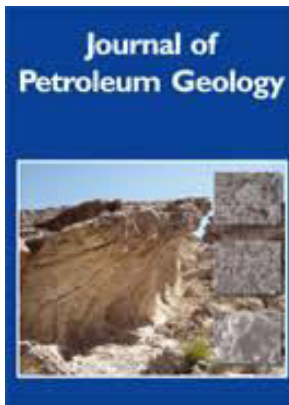
**N. Esquinas<sup>a,c</sup>, G. Márquez<sup>a</sup>, A. Permanyer<sup>b</sup> and J.R. Gallego<sup>c</sup>**

<sup>a</sup> Center for Research in Sustainable Chemistry, Universidad de Huelva, 21007 Huelva, Spain.

<sup>b</sup> Depart. of Mineralogy, Petrology and Applied Geology, Universitat de Barcelona, 08028 Barcelona, Spain.

<sup>c</sup> Department of Exploration and Mining Prospecting, Universidad de Oviedo, 33600 Mieres, Asturias, Spain.

**Published in:** Journal of Petroleum Geology



**Editor:** Christopher Tiratsoo

**Publishing company:** Scientific Press

**Año:** 2018

**ISSN:** 1747-5457

**Categoría:** Geosciences Multidisciplinary

**Journal rank:** 124/188

**Factor de impacto (2016):** 1.341

**Cuartil:** Q3

## 0. Justificación

Este primer manuscrito se realizó a partir de un conjunto de muestras procedentes de la Cuenca Los Llanos (Colombia) y proporcionadas por la empresa CEPSA. Se caracterizaron varios crudos pesados, “tarmats” y extractos de roca madre (haciendo hincapié en las fracciones pesadas) con el fin de interpretar la historia y evolución de la cuenca petrolífera y así descifrar posibles causas de la formación de “tarmats” (tapones de asfalto). Este fin coincide con el **objetivo 3** de la presente tesis doctoral: “Aplicación del protocolo analítico para la caracterización de fracciones pesadas de crudos y sus derivados en el estudio de yacimientos de crudo no convencional (petróleos pesados)”.

### 0.1. Resumen

Los tarmats en la Cuenca Los Llanos se encuentran en las formaciones Mirador y Carbonera C7 a diferentes profundidades y en diferentes campos petroleros.

Con la finalidad de caracterizar estos tapones asfálticos, trece muestras de crudo y diecisiete muestras de “tarmats” (ripios y núcleos) de las unidades Gachetá, Une, Guadalupe, Mirador y algunos intervalos de Carbonera C7 fueron tomados en varios pozos dentro de los bloques Tiple y Caracara. Con el fin de establecer posibles correlaciones, se analizaron también una serie de muestras de roca madre de la formación Gachetá tomadas en el pozo Ramiriqui-1.

El protocolo analítico de caracterización de fracciones pesadas se aplicó, de modo que:

1. Se caracterizaron las fases ligeras de los crudos mediante “**Crudo total**” GC-FID.
2. Las muestras de “tarmats” (núcleos y ripios) y de roca madre fueron **extraídas** con una mezcla diclorometano: metanol (3:1, v/v) en un sistema Soxtherm (Gerhardt).
3. Para las muestras de crudo y extractos de “tarmats” se realizó el **análisis isotópico inespecífico** (IRMS) del carbono.
4. **Fraccionamiento** mediante cromatografía líquida (metodología **SARA**) de todas los crudos y extractos en componentes saturados, aromáticos, resinas y asfaltenos, así como la gravimetría de sus fracciones
5. **GC-MS de las fracciones saturada y aromática** para todas las muestras. Las ratios de biomarcadores obtenidos de estos análisis han sido la principal herramienta para clasificar las muestras en términos de origen y madurez.
6. Los **asfaltenos** se analizaron mediante **pirólisis** flash combinada con cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masas (Py/GC-MS) en modo de “full scan”. Se trabajó a dos temperaturas, 260°C durante 16 minutos y después a 700°C. La información obtenida no fue concluyente, solo corroboraba los resultados obtenidos mediante GC-MS.
7. **EA-IRMS** de las fracciones SARA y análisis isótopos de compuestos específicos (**GC-IRMS**) útiles en el establecimiento de correlaciones. Se realizó además un análisis de isótopos de carbono para un conjunto específico de *n*-alcanos (C<sub>15</sub>-C<sub>33</sub>), los más abundantes en las muestras de “tarmats”. Además del análisis isotópico del carbono para cada una de las fracciones SARA de los crudos y extractos.

Más allá del protocolo analítico establecido para la caracterización de las muestras, se realizaron algunos trabajos complementarios:

8. Para las muestras de crudo y extractos de “tarmats” se realizó el **análisis isotópico** (IRMS) del **azufre**.

9. La empresa CEPESA nos proporcionó datos de concentración de V y Ni, así como de la **gravidad API**.
10. Con el propósito de establecer correlaciones entre las diferentes muestras, se realizó un análisis estadístico clúster basado en 12 variables (Pr/Ph, 26/25T, 24/23T, 21/23T, Ts/Tm, 29/30H, DBT/P, %27ST, %29ST, ratio de diasteranos, 31R/30H, ST/H,  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{13}\text{C}_{\text{ARO}}$ ). El análisis clúster ha sido realizado siguiendo el método de Ward (Everitt, 1993). Se utilizó SPSS 22.0 para Windows.

Los resultados han revelado la complejidad de los petróleos de esta región, dado que tanto los crudos como los “tarmats” están compuestos a partir de varias cargas de petróleo, además del hecho de que la biodegradación afecta a la mayoría de las muestras. Así, se han establecido 4 grupos diferentes de muestras basándose en el origen y proporción de las cargas de petróleo que las originaron. Los “tarmats” y/o crudos clasificados en los grupos I, II y IV, procedentes de los intervalos Mirador y C7-M, presentan una primera carga paleobiodegradada (probablemente margosa). Una segunda carga biodegradada (transicional) es común en los grupos I y II, distinguiéndose ambos grupos por las diferentes proporciones entre los dos pulsos mencionados. El grupo IV, sin embargo, presenta una segunda carga derivada de una roca carbonosa y que es mayoritaria. Por contra, los crudos del grupo III, procedentes de Gachetá y Une, son muy diferentes al resto, teniendo un origen dispar y de carácter transicional (deltaico). Las muestras de roca madre procedentes de Ramiriqui presentaron un cierto grado de correlación con la segunda carga de petróleo en los grupos I y II.

#### **DATOS GEOQUIMICOS GENERALES**

Los porcentajes calculados mediante la gravimetría después del fraccionamiento SARA permiten establecer una primera distinción entre los crudos provenientes de las unidades Mirador y C7 (saturados, aromáticos y polares en los rangos 36-45%, 33-40% y 18-27%) y los crudos procedentes de las formaciones Une y Gachetá (porcentajes mayores en aromáticos, 46-47%, y más bajos en polares, aproximadamente 9%).

Con respecto a los “tarmats”, los datos SARA también permiten una primera distinción. La mayoría de tales muestras presentan una composición similar (SAT $\approx$ 28%, ARO $\approx$ 23% y POL<50%); mientras que los maltenos y polares de las muestras del pozo Melero-1, Formación Mirador, presentan porcentajes diferentes (31-40% y 60-69%, respectivamente).

#### **RESULTADOS ISOTÓPICOS DE CARBONO**

Los valores del parámetro  $\delta^{13}\text{C}$  para los petróleos crudos indican ciertas diferencias en los crudos de Gachetá y Une (grupo III) y el resto (grupos I y II). Asimismo, el análisis isotópico específico de *n*-alcanos más abundantes ofrece también una ligera diferencia entre los “tarmats” procedentes del pozo Melero-1 (grupo IV) y el resto.

#### **PROCESOS DE ALTERACION DEL RESERVORIO**

El estudio de los cromatogramas TIC de saturados para la mayoría de los crudos (excepto los dos del grupo I), los cuales presentan compuestos muy ligeros que indican ausencia de biodegradación, revela una gran UCM indicativa de biodegradación. La disminución del contenido en saturados en las muestras de “tarmats” también es un indicio de biodegradación. Otra evidencia de biodegradación es la presencia de 25-norhopanos. Una de las causas de la formación de “tarmats” es la biodegradación en el contacto agua-petróleo.

La coexistencia de 25-norhopanos y parafinas permite sugerir que hay una mezcla de, al menos, dos pulsos de petróleo. La posible mezcla de un petróleo crudo ligero con otro pesado en el yacimiento puede ser otro motivo de generación de “tarmats”, en el proceso denominado desasfaltación.

### **ROCA MADRE Y CONDICIONES DE DEPÓSITO**

Para la mayoría de los crudos y “tarmats”, las ratios moleculares afectadas por la biodegradación (DBT/P, Pr/*n*-C<sub>17</sub> y Ph/*n*-C<sub>18</sub>, entre otras) sugieren una roca siliciclástica o un origen mixto (segunda carga de los grupos I y II). Sin embargo, los biomarcadores resistentes a la biodegradación (tríciclopiliprenanos, esteranos y diasteranos) indican una roca madre de origen marino carbonático/margoso (primera carga de los grupos I, II y IV). Los datos de pirólisis corroboraron que inicialmente se produjeron dos pulsos, uno de origen marino carbonático y otro de origen transicional siliciclástico, habiendo sido ambos severamente paleobiodegradados debido a que las temperaturas del yacimiento estaban todavía por debajo de 80°C, por lo que ese “primer fluido biodegradado” es en realidad una mezcla de dos cargas.

En el caso de los “tarmats” procedentes del pozo Melero-1 (grupo IV), los biomarcadores resistentes a la biodegradación indican la misma naturaleza para el primer pulso; sin embargo, algunas evidencias sugieren una carga de origen carbonoso: predominancia de *n*-C<sub>29</sub>, *n*-C<sub>31</sub> y *n*-C<sub>33</sub>, ratio Pr/Ph, distribución de los tricíclopiliprenanos, etc.

Finalizando con las muestras de petróleos crudo procedentes de Gachetá y Une, todos los parámetros derivados de los biomarcadores sugieren que estas muestras están compuestas por una sola carga de petróleo de origen transicional (deltaico).

### **DETERMINACIÓN DE LA MADUREZ TÉRMICA**

Los índices calculados a partir de biomarcadores resistentes a la biodegradación (%20S, %ββ y esteroides triaromáticos) indican unos valores de la madurez térmica correspondientes al inicio de la ventana de petróleo (aproximadamente 0.75%) para todas las muestras.

Los índices de metilfenantrenos, entre otros, podrían indicar la madurez térmica del fluido no biodegradado, apuntando a valores un poco más allá del pico de la ventana de petróleo (aproximadamente 1%, excepto en el caso de las muestras de Melero); sin embargo, debe resaltarse estos parámetros no son confiables a la hora de indicar valores de madurez térmica temprana en muestras de origen marino. Por contra, para las muestras procedentes de Melero (grupo IV), todos los índices señalan una madurez térmica correspondiente al inicio de la ventana de petróleo (aproximadamente 0.66%), puesto que la materia orgánica precursora de, al menos, parte de la carga inalterada es de tipo terrígeno.

Para las muestras procedentes de Une y Gachetá (grupo III), cuya madurez térmica temprana es indicada por los índices calculados a partir de biomarcadores resistentes a la biodegradación, los índices MPI-1 y DNR-1 también presentan valores aparentemente anormales. Esto puede ser debido a algún fenómeno de lavado del crudo por aguas.

### **CORRELACIONES**

El análisis estadístico clúster basado en 12 variables permite separar las muestras, como se mencionó anteriormente, en cuatro grupos claramente diferenciados.

**A2. Artículo 2:**

Characterization of tar-like material and producible oil in Misoa C2 and C3 reservoir sands of the Area 2 South (Ceuta Field, Venezuela).

**G. Márquez<sup>a</sup>, M. Escobar<sup>b,c</sup>, N. Esquinas<sup>a</sup>, L. Duno<sup>d</sup>, J.D. Martín-Martín<sup>e</sup>, A. Permanyer<sup>e</sup>**

<sup>a</sup> Departamento de Ingeniería Minera y Energética, Universidad de Huelva, La Rábida, Huelva 21819, Spain

<sup>b</sup> CARBOZULIA, Avenida 2 No. 55-185, Casa Mene Grande, Maracaibo 4002 A, Venezuela

<sup>c</sup> Postgrado de Geología Petrolera, Facultad de Ingeniería, Universidad del Zulia, Maracaibo 10482, Venezuela

<sup>d</sup> PDVSA, Calle 77, Edificio PDVSA 5 de Julio, Maracaibo 4002, Venezuela

<sup>e</sup> Departament de Mineralogia, Petrologia i Geologia Aplicada, Universitat de Barcelona, Barcelona 08028, Spain

**Publicado en:** Marine and Petroleum Geology



**Editor:** Massimo Zecchin, Max Qinhong Hu

**Publishing company:** Elsevier

**Año:** 2017

**ISSN:** 0264-8172

**Categoría:** Geosciences Multidisciplinary

**Journal rank:** 43/188

**Factor de impacto (2016):** 2.88

**Cuartil:** Q1

## 0. Justificación

Este trabajo se realizó a partir de una serie de muestras de las subunidades Misoa C2 y C3 del área Sur 2 de la Cuenca del Lago Maracaibo (Venezuela). Se caracterizaron varios crudos pesados y “tarmats” (haciendo hincapié en las fracciones pesadas) con el fin de interpretar la evolución de dicha cuenca petrolífera para así descifrar posibles causas de la formación de “tarmats” (tapones de asfalto). Este fin coincide con el **objetivo 2** de esta tesis doctoral: “Aplicación del protocolo analítico para la caracterización de fracciones pesadas de crudos y sus derivados en el estudio de yacimientos de crudo no convencional (petróleos pesados)”.

### 0.1. Resumen

En la zona Sur 2 del campo Ceuta (Cuenca del Lago Maracaibo) se encuentran “tarmats” en los yacimientos de Misoa C2 y C3 a diferentes profundidades.

Con el fin de caracterizar el yacimiento y elucidar las razones por las que proliferan en él “tarmats” y crudos pesados, se analizaron 12 petróleo crudos de 12 pozos diferentes y 18 núcleos procedentes del pozo VG-19 procedentes de las subunidades Misoa C2 y C3. Además, para las correlaciones crudo-roca madre se contó con datos reportados anteriormente de la roca madre por excelencia del Lago Maracaibo, Formación La Luna.

El protocolo analítico de caracterización de fracciones pesadas se aplicó, de modo que:

1. Se caracterizaron las fases ligeras de los crudos mediante “**Crudo total**” GC-FID.
2. Las muestras de “tarmats” (núcleos y ripios) y de roca madre fueron **extraídas** con una mezcla diclorometano: metanol (3:1, v/v) en un sistema Soxtherm (Gerhardt).
3. Para las muestras de crudo y extractos de “tarmats” se realizó el **análisis isotópico inespecífico** (IRMS) del carbono.
4. **Fraccionamiento** mediante cromatografía líquida (metodología **SARA**) de todos los crudos y extractos en componentes saturados, aromáticos, resinas y asfaltenos, así como la gravimetría de sus fracciones
5. **GC-MS de las fracciones saturada y aromática** para todas las muestras. Los ratios de biomarcadores obtenidos de estos análisis han sido la principal herramienta para clasificar las muestras en términos de origen y madurez.
6. Los **asfaltenos** se analizaron mediante **pirólisis** flash combinada con cromatografía de gases acoplada con espectrometría de masas (Py/GC-MS) en modo de “full scan”. Se trabajó a dos temperaturas, 260°C durante 16 minutos y después a 700°C. Estos análisis han servido para completar datos acerca de la madurez térmica en relación con biomarcadores muy afectados por biodegradación.
7. **EA-IRMS** de las fracciones SARA útiles en el establecimiento de correlaciones.

Además del protocolo analítico establecido para la caracterización de las muestras, se realizaron algunos trabajos complementarios:

8. Análisis petrográfico de 18 muestras de núcleos procedentes de las unidades C2 y C3 que contienen “tarmats” (pozo VG-19) se estudiaron mediante microscopía petrográfica, realizando un análisis textural detallado usando un microscopio electrónico de barrido y, por último, la petrología orgánica fue analizada usando microscopía petrográfica de fluorescencia.

9. Un total de 81 muestras de los pozos VG-82, VG-28, VG-15 y VG-19, procedentes de las subunidades de arena C2 y C3 a diferentes profundidades, fueron analizadas mediante pirólisis Rock-Eval en modo reservorio.

Los resultados sugieren que todos los crudos y extractos muestreados pertenecen a una única familia genética; siendo aquellos una mezcla de dos pulsos de petróleo procedentes de una misma roca madre (La Luna), la cual se relaciona con un ambiente marino anóxico bajo condiciones reductoras. Los crudos son una mezcla de una primera carga de petróleo crudo paleobiodegradado y una recarga posterior de crudo inalterado y más maduro térmicamente. Los análisis geoquímicos evidencian también que la formación de “tarmats” se debe a una severa biodegradación y a la mezcla de cargas en el yacimiento, aunque otros mecanismos de formación de “tarmats” no son descartables. Los resultados también sugieren que los “tarmats” no actúan como una barrera efectiva de permeabilidad horizontal ni vertical.

### **PETROGRAFÍA**

El análisis de lámina delgada indicó que las rocas estudiadas son areniscas de grano fino a grano medio ricas en cuarzo. La porosidad intergranular está rellena de bitumen y caolinita. El asfalto forma largas ocurrencias que se alinean en paralelo con la laminación. El análisis de fluorescencia permitió diferenciar dos tipos de bitumen.

### **DATOS ROCK-EVAL 6**

Los porcentajes de polares aparecen en el rango 5-83%, no presentando ninguna variación sistemática con la profundidad. Esto podría señalar la presencia de horizontes de crudo pesado o extrapesado que se alternan con horizontes petroleros convencionales en los dos yacimientos estudiados. Los porcentajes de polares revelan que existen algunos parches de “tarmat” delgados dentro de las arenas C2 y C3 en el Bloque I del área de estudio. Por el contrario, se observó en la parte central (Bloque II; pozo VG-15) y meridional (Bloque III; pozo VG-28) del Área 2 Sur, la presencia de zonas con “tarmats” de petróleo pesado en las subunidades Misoa C2 y C3 cubriendo un amplio rango de profundidades. Sin embargo, solo una muestra procedente del pozo VG-19 presentó la posible presencia de “tarmat”. También se comprueba que los “tarmats” no presentan una amplia extensión lateral.

Los valores de Rock-Eval Tmax para las muestras de roca del yacimiento indican una baja madurez térmica. Además, La distribución total de carbono orgánico (TOC) indica una disminución de la cantidad de materia orgánica hacia el norte.

### **DATOS GEOQUÍMICOS GENERALES**

La composición SARA para los extractos de las muestras de núcleos presentaron un contenido de SAT en el rango 26-58%, ARO por debajo del 36%, RES en el rango 7-27% y ASP del 2% al 38%. Las muestras de petróleo crudo mostraron composiciones similares: SAT entre 38% y 44%, ARO entre 38% y 43%, RES entre 12% y 18%, y ASP por debajo del 6%. Se aprecian correlaciones lineales negativas entre los contenidos de asfaltenos y las fracciones de maltenos, así como una correlación lineal positiva entre los porcentajes de asfaltenos y resinas, lo que sugiere que la alta proporción de componentes polares puede deberse a la eliminación de compuestos aromáticos y saturados por biodegradación y lavado por agua.

La relación V/Ni y las concentraciones de Ni indican que la roca madre de las muestras estudiadas se depositó en un ambiente marino carbonático bajo condiciones reductoras.

### RESULTADOS ISOTÓPICOS

Todas las muestras presentaron valores isotópicos de  $\delta^{13}\text{C}$  similares, por lo tanto, las muestras podrían atribuirse a una edad geológica similar y a la misma roca madre (La Luna).

### ROCA MADRE Y CONDICIONES DE DEPÓSITO

La roca madre (La Luna) de los petróleos encontrados en el área Sur 2 de la Cuenca del Lago Maracaibo es una roca carbonática que se formó en un ambiente reductor (anóxico).

Los perfiles de *n*-alcanos y las ratios Ph/Pr ( $<1$ ), así como  $\text{Pr}/n\text{-C}_{17} < 0,5$  y  $\text{Ph}/n\text{-C}_{18} > 0,3$ , sugieren una roca madre marina depositada bajo condiciones anóxicas.

El estudio de los triterpanos y esteranos también indica que la roca madre generadora de los crudos analizados es marino carbonática y se depositó en un ambiente marino reductor: las relaciones entre los triciclopiliprenanos  $\text{C}_{24}/\text{C}_{23}$ ,  $\text{C}_{22}/\text{C}_{21}$  y  $\text{C}_{26}/\text{C}_{25}$  inferiores a 1, además de unas ratios  $\text{C}_{29}/\text{C}_{30}$  hopano aproximadas a 1, unas relaciones de hopanos  $\text{C}_{31}\text{R}/\text{C}_{30} > 0,3$ , Ts/Tm menores que 1, una abundancia relativa de esteranos regulares siguiendo el orden  $\text{C}_{27} > \text{C}_{28} > \text{C}_{29}$  y una baja proporción de diasteranos.

Por otro lado, el estudio de la abundancia relativa de los metildibenzotiofenos (MDBT) muestra un perfil de tipo  $4 > 2 + 3 \approx 1$ , que no coincide con el perfil típico de litología carbonática ( $4 > 2 + 3 < 1$ ), lo cual se debe probablemente a que se ha producido un incremento paralelo de la ratio 4-/1-MDBT con el aumento de la madurez térmica. Otras explicaciones adicionales para este hecho incluyen un cambio lateral de facies o un lavado por agua selectivo de los diferentes isómeros.

### DETERMINACIÓN DE LA MADUREZ TÉRMICA

El cálculo de los índices basados en los biomarcadores para todas las muestras indica una madurez térmica inferior al pico de la ventana del petróleo: valores del índice de preferencia de carbono (CPI) próximos a 1, además de los valores obtenidos de los parámetros %20S (55-60%), % $\beta\beta$  (58-64%), %22S ( $\approx 60\%$ ), TA (0.47-0.52) y MPI-1 ( $\approx 0.83$ ).

### PROCESOS DE ALTERACION DEL RESERVORIO

El estudio de los cromatogramas TIC de saturados revela la presencia de una prominente mezcla de compuestos no resueltos o "joroba" (UCM) que habitualmente sugiere una severa biodegradación. Otras evidencias como el predominio de compuestos aromáticos sobre los saturados o la significativa presencia de 25-norhopanos también indican la presencia de biodegradación. Una de las causas de la formación de "tarmats" es la biodegradación en el contacto agua-petróleo.

La coexistencia de 25-norhopanos y parafinas permite sugerir que hay una mezcla de, al menos, dos pulsos de petróleo. La posible mezcla de un petróleo crudo ligero con otro pesado en el yacimiento puede ser otro motivo de generación de "tarmats" (desasfaltación).

La formación de "tarmats" en los espacios de porosidad de los dos horizontes productores de petróleo estudiados se relaciona con la biodegradación y los posteriores cambios en la composición del petróleo crudo derivados de dicho proceso secundario. La ocurrencia de múltiples parches asfálticos sugiere que estos podrían haber sido formados por

la desestabilización del petróleo crudo debido, en parte, al desasfaltado por la disminución controlada de la presión o la fijación de los asfaltenos precipitados sobre la caolinita.

### **EVALUACIÓN DE LA CONECTIVIDAD EN EL RESERVORIO**

Con el fin de realizar correlaciones crudo-crudo, se compararon los cromatogramas de crudo total. Para ello, se seleccionaron 16 picos en la región entre  $n\text{-C}_5$  y  $n\text{-C}_9$ , relacionándolos dos a dos. Estas relaciones fueron representadas en diagramas tipo estrella, los cuales revelaron grandes similitudes entre todos los petróleos crudos procedentes del Área 2 Sur, indicando la existencia de una única familia de muestras.



**B1. Artículo 3:**

Diagnostic ratios for the rapid evaluation of natural attenuation of heavy fuel oil pollution along shores

**Noemi Esquinas**<sup>a,b</sup>, **Eduardo Rodríguez-Valdés**<sup>a</sup>, **Gonzalo Márquez**<sup>b</sup>,  
**José Luis R. Gallego**<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Environmental Technology, Biotechnology & Geochemistry Group and INDUROT, University of Oviedo, C/Gonzalo Gut. S/N, 33600 Mieres, Asturias, Spain

<sup>b</sup> Center for Research in Sustainable Chemistry - CIQSO, University of Huelva, Campus El Carmen, 21007 Huelva, Spain

**Published in:** Chemosphere



**Chemosphere**



**Editor:** Jacob de Boer, Shane Snyder

**Publishing company:** Elsevier

**Año:** 2017

**ISSN:** 0045-6535

**Categoría:** Environmental Sciences

**Journal rank:** 32/229

**Factor de impacto (2016):** 4,208

**Cuartil:** Q1

## 0. Justificación

Este trabajo se realizó a partir de una serie de muestras recogidas en la costa asturiana con posterioridad a un vertido de fuelóleo producido en el verano de 2012. Se caracterizaron series de “tarballs” (haciendo hincapié en las fracciones pesadas) por medio de ocho campañas de muestreo con el objetivo de estudiar la evolución del vertido y monitorizar la atenuación natural. Esta finalidad coincide con el **objetivo 2** de la presente tesis doctoral: “Aplicación del protocolo en la problemática ambiental relacionada con el vertido de productos petroleros pesados”.

### 0.1. Resumen

Durante la mañana del 26 de junio de 2012, la costa de Asturias (España) se vio afectada por un derrame de fuelóleo proveniente de una instalación industrial (central térmica) adyacente al mar. Como consecuencia, varias playas de arena y parte del litoral rocoso fueron contaminados a lo largo de 15 Km de costa.

Con el fin de obtener muestras representativas del vertido, y así aplicar el protocolo analítico para caracterizarlo de la mejor manera posible, cinco zonas de estudio fueron seleccionadas en la parte rocosa de la costa más afectada por el vertido. Como ya se ha mencionado, se realizaron ocho campañas de muestreo (0, 15, 60, 180, 240, 360, 540, 720 y 900 días después del vertido, respectivamente). Asimismo, el día 15 después del episodio contaminante, un segundo conjunto de cinco muestras del mismo vertido fue recogido a 100 km al este, después de que el fuelóleo derramado llegase a la costa tras desplazarse flotando en forma emulsionada (mousse) durante 2 semanas, por causa de las corrientes marinas.

El protocolo analítico de caracterización de fracciones pesadas fue aplicado tal que:

1. **Los análisis “Crudo total”** GC-FID **no tienen sentido** en estas muestras que, evidentemente, ya han perdido los compuestos más volátiles.
2. Las muestras tipo “tarballs” fueron **extraídas** con diclorometano en un baño de ultrasonidos durante 15 minutos.
3. **No se realizó ningún análisis isotópico inespecífico** (IRMS) del carbono, ya que se conoce la fuente del vertido.
4. **Fraccionamiento** mediante cromatografía líquida (metodología **SARA**) de todas las muestras en las fracciones de saturados, aromáticos, resinas y asfaltenos, así como la gravimetría de dichas fracciones.
5. **GC-MS de las fracciones saturada y aromática** para todas las muestras. Los ratios de biomarcadores obtenidos de estos análisis han sido la principal herramienta para estudiar el “fingerprinting” de las muestras y evaluar la atenuación natural.
6. Los **asfaltenos** se analizaron usando un pirolizador de doble disparo y cromatografía de gases con un espectrómetro de masas (Py/GC-MS) en modo de “full scan”. Se trabajó a dos temperaturas, 310°C durante 20 minutos, y después la pirolisis durante 20 segundos a 610°C. Estos análisis han servido para obtener información acerca de la fotodegradación de las muestras.

Además del protocolo analítico establecido para la caracterización de las muestras, se realizaron algunos trabajos complementarios:

7. El **contenido de C, H, N y S** fue medido usando un instrumento Truspec LECO.
8. El **contenido en vanadio, níquel y hierro** se determinó mediante espectroscopia de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES) usando un espectrómetro secuencial Perkin Elmer Optima 3000.
9. **Relaciones diagnósticas:** las relaciones de varios compuestos individuales o grupos de compuestos se compararon con el fin de definir relaciones de diagnóstico.

#### FUEL ORIGINAL

Se analizó el producto que afectó la costa inmediatamente después del derrame (muestras el día 0), obteniendo unos porcentajes para C, H, N y S de 83.23, 9.86, 0.78 y 2.25%, respectivamente, así como unos contenidos de Ni, V y Fe de 48, 121 y 27 ppm. Con estos datos y los resultados cromatográficos se puede decir que se trataba de un "heavy fueloil nº 2", rico en aromáticos y heteroátomos. El cromatograma iónico total (TIC) inicial presenta una distribución bimodal, sugiriendo una mezcla comercial de un producto más pesado con otro más ligero. El producto inicial no contenía compuestos más ligeros que  $n$ -C<sub>10</sub>.

#### EVOLUCION GENERAL

Mediante el análisis SARA se observó que las fracciones saturadas y aromáticas fueron rápidamente afectadas en los primeros meses y, más lentamente, en los meses sucesivos. Resinas y asfaltenos mostraron un incremento en sus proporciones relativas. Sin embargo, entre seis meses y un año después del vertido, los asfaltenos vieron reducida su proporción.

El "fingerprinting" de  $n$ -alcanos mostró una pérdida de los  $n$ -alcanos ligeros y medios, por lo que aumenta la abundancia relativa de isoprenoides y alcanos ramificados. Después de un año, los  $n$ -alcanos pesados persisten, pero estando afectados por procesos de degradación. En el caso de los aromáticos se aprecia que la pérdida de naftaleno y alquil-naftalenos fue rápida, mientras que la afección de aromáticos más pesados es más lenta. En los cromatogramas iónicos totales de aromáticos y saturados se aprecia un crecimiento gradual de la mezcla de compuestos no resueltos (UCM).

#### VOLATILIZACIÓN Y BIODEGRADACIÓN DE SATURADOS

El valor de la ratio de volatilización,  $i$ -C<sub>14</sub>/Ph, decrece rápidamente en los primeros meses después del vertido (verano), disminuyendo de nuevo con fuerza en el segundo verano y, finalmente, alcanza una reducción del 100% en el tercer verano. Por otro lado, se observa en el cromatograma TIC que la evaporación elimina los compuestos de menos peso molecular.

Observando la biodegradación de los  $n$ -alcanos, existe una progresión geométrica clásica de la actividad microbiana, revelando así procesos biológicos en los primeros tres meses después del derrame. A posteriori el proceso se ralentiza, hasta la completa biodegradación de  $n$ -C<sub>17</sub> y  $n$ -C<sub>18</sub> durante el tercer verano. La alteración de  $n$ -alcanos pesados (ceras) fue muy reducida hasta que la biodegradación de los  $n$ -alcanos más ligeros estuvo prácticamente completada.

#### VOLATILIZACIÓN, BIODEGRADACIÓN Y FOTOOXIDACION DE AROMÁTICOS

Las ratio entre PAHs con diferente número de anillos fue calculada con el fin de estimar la volatilización. En particular, la ratio entre naftaleno (dos anillos y alta volatilidad) y benzo[a]pireno (5 anillos y despreciable volatilidad), sugiere un rápido agotamiento del naftaleno; por lo tanto, esta relación fue coherente con la de la evolución del índice i-C14/Ph.

Para evaluar la biodegradación, se hizo uso del cociente entre fenantreno (3 anillos y biodegradabilidad medio-baja) y benzo(a)pireno (muy baja biodegradabilidad); para este índice, los cambios en la relación a lo largo del tiempo fueron similares a los de las relaciones de diagnóstico de biodegradación para los saturados, aunque en el caso de este índice no puede descartarse la influencia de fotodegradación. La ratio entre el fenantreno y sus alquil-derivados (más recalcitrantes) indicó que los PAHs se agotaron más rápidamente que los alquil-PAHs.

La variación en las ratios MPR (ratio de metilfenantrenos) y DMPR (ratio de dimetilfenantrenos) sugiere modificaciones en la proporción de los isómeros como resultado del envejecimiento. La distinción entre los efectos de fotodegradación y biodegradación solo sería posible en condiciones de laboratorio controladas.

La ratio MDBT (metildifenotiofenos) no presenta variaciones en el periodo de tiempo estudiado; pero se sabe que, en vertidos similares, las relaciones entre metildibenzotiofenos se han usado como indicador de procesos de meteorización a largo plazo.

#### RATIOS DIAGNOSTICOS ESTABLES

Los ratios estables son necesarias a fin de verificar la fiabilidad de las medidas de muestreo y las analíticas realizadas a lo largo del tiempo (es decir, para fines de identificación y "fingerprinting"), así como para detectar las tendencias de la biodegradación a largo plazo. Se utilizaron las ratios M30/H30 (moretano a hopano), H31/H33 (homohopanos), TR23/TR24 (triticlopiliprenanos, más estables en el tiempo), Ts/Tm, y las relaciones TA (triaromáticos).

#### SENSIBILIDAD A LA PERMANENCIA EN MANCHAS FLOTANTES

Procesos tales como la fotodegradación y la volatilización son favorecidos por una larga permanencia de los productos emulsionados en la superficie del agua.

La degradación de alcanos fue en general mayor en la capa flotante de fuelóleo, mientras que sólo las relaciones estables a corto plazo, tales como Pr/Ph, presentaron un comportamiento muy parecido. Se observó un patrón similar para los compuestos aromáticos, teniendo en cuenta además que las ratios N/BaP y Phe/BaP podrían estar afectados por procesos de disolución acuosa que pueden afectar especialmente al naftaleno y al fenantreno.

#### EVOLUCIÓN DE LOS ASFALTENOS

Algunos autores han indicado que compuestos saturados y aromáticos pueden aparecer como resultado del proceso de foto-biooxidación de los asfaltenos y del incremento de la fracción de resinas por la fotoxidación de aromáticos.

En consecuencia, a fin de evaluar la evolución de los asfaltenos, se realizó un análisis Py/GC-MS. En general, a muy corto plazo, los asfaltenos presentaron ligeros cambios, lo que sugirió su carácter recalcitrante, noción apoyada por los datos de fraccionamiento SARA

(disminución relativa de saturados y aromáticos y aumento significativo de resinas y asfaltenos). Sin embargo, después de más de dos años se detectaron algunos cambios.

Se pueden observar ligeras diferencias en los cromatogramas en modo SIM de la fracción de aromáticos a 0 y 900 días, relevando así modificaciones en la proporción de los isómeros, posiblemente como resultado de procesos de fotobiodegradación que afectan a los componentes aromáticos de los asfaltenos. Por ejemplo, el patrón de metildibenzotiofenos ( $m/z$  198) se modificó (fotooxidación), destacando también la disminución de las proporciones relativas de los homólogos 2 y 3-metilfenantreno frente a sus isómeros (también posiblemente por causa de la fotooxidación).

En conclusión, el contenido de asfaltenos y su tipología no se conserva durante los procesos de meteorización, como también se demuestra en otros estudios recientes.



**B1. Capítulo de libro:****OIL SPILL ENVIRONMENTAL FORENSICS CASE STUDIES****Capítulo 7:**

Environmental Forensics Study of Crude Oil and Petroleum Product Spills in Coastal and Oilfield Settings: Combined Insights From Conventional GC-MS, Thermodesorption-GC-MS, and Pyrolysis-GC-MS

**Michael A. Kruge<sup>1</sup>, José Luis R. Gallego<sup>2</sup>, Azucena Lara-Gonzalo<sup>2</sup> and Noemi Esquinas<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Montclair State University, Montclair, NJ, United States

<sup>2</sup>University of Oviedo, Mieres, España



**Editor:** SCOTT A. STOUT, Ph.D. and  
ZHENDI WANG, Ph.D.

**Publishing company:** Elsevier

**eBook ISBN:** 9780128044353

**Paperback ISBN:** 9780128044346

**Fecha de publicación:** 22 de Octubre 2017

**Número de páginas:** 860

**Categoría:** Environmental Science

## 0. Justificación

Este último trabajo se realizó a partir de varias muestras recogidas en Asturias, Galicia, Kuwait, Angola y Alabama (EEUU). Se trata de 5 vertidos distintos que presentaban unas características diferentes a los productos iniciales, así como diferentes variaciones con el tiempo de exposición ambiental después del vertido. Estas muestras se caracterizaron (haciendo hincapié en las fracciones pesadas) con el fin de poner a prueba el protocolo referido en el **objetivo 1** de esta tesis doctoral, así como de probar diversas técnicas de pirólisis teniendo en cuenta la rapidez de los respectivos análisis, cuestión muy importante a la hora de evaluar este tipo de vertidos. Este trabajo se relaciona también con el **objetivo 3** de esta tesis doctoral: “Aplicación del protocolo en la problemática ambiental relacionada con el vertido de productos pesados”.

### 0.1. Resumen

Se seleccionaron un grupo de 5 muestras obtenidas en 4 zonas geográficas muy alejadas entre sí con el fin de estudiar tanto vertidos conocidos como episodios desconocidos, en los que además, las características de los residuos recuperados fuesen diferentes y el nivel de meteorización también fuese distinto. Tres de las muestras fueron tomadas en costas afectadas por un vertido marino (Aboño, fuelóleo pesado; Galicia, fuelóleo pesado, y Macondo (EEUU), producto ligero); mientras las otras dos se tomaron en campos petrolíferos “on-shore” afectados por vertidos producidos accidentalmente (Angola y Kuwait).

El protocolo analítico de caracterización de fracciones pesadas fue aplicado del siguiente modo:

1. **Los análisis “Crudo total” GC-FID no tienen sentido** en estas muestras que, evidentemente, ya han perdido los compuestos más volátiles.
2. Las muestras de Macondo y las raspaduras de restos en rocas para los vertidos Aboño y Galicia fueron **extraídas** con diclorometano en un baño de ultrasonidos durante 15 minutos; las muestras procedentes de Kuwait y Angola, en cambio, **se extrajeron** con DCM:MeOH (3:1) en un sistema soxtherm (Gerhardt). Los extractos se concentraron usando un rotavapor.
3. **No se realizó ningún análisis isotópico inespecífico (IRMS)** del carbono, ya que se conoce la fuente del vertido.
4. **Fraccionamiento** mediante cromatografía líquida (metodología **SARA**) de todas las muestras en las fracciones de saturados, aromáticos, resinas y asfaltenos, así como la gravimetría de dichas fracciones.
5. **GC-MS de las fracciones saturada y aromática** para todas las muestras. Los ratios de biomarcadores obtenidos de estos análisis han sido la principal herramienta para estudiar el “fingerprintig” de las muestras y evaluar la atenuación natural.
6. Los **asfaltenos** se analizaron usando un pirolizador de doble disparo y cromatografía de gases con un espectrómetro de masas (Py/GC-MS) en modo de “full scan”. Por otro lado, se llevó a cabo una **termodesorción + pirólisis de la muestra sin fraccionar** (“double shot” que aporta dos cromatogramas).
- 7.

Los análisis complementarios que se realizan en este trabajo son:

8. **GC-MS de los compuestos polares** sin derivatizar. Esta técnica permitió identificar compuestos cetónicos (alcanonas) y otros no detectados mediante otras analíticas.
9. **Desorción térmica** o pirólisis de doble disparo, ya mencionada junto a la pirólisis.

## RESULTADOS PARA CADA UNA DE LAS MUESTRAS

### Kuwait

En principio cabía esperar que los cromatogramas tras la desorción térmica sean equivalentes a los obtenidos a partir de las fracciones saturada y aromática. Esto es lo que ocurre con esta muestra, por lo tanto, en el TIC tras la termodesorción se observa simplemente una marcada joroba (UCM) en el rango  $C_{15}$ - $C_{40}$ , así como claras evidencias de la presencia de hopanos, *n*-alcanos inferiores, fitano y alquildibenzotiofenos, pero en diferentes proporciones respecto a las fracciones SARA. La termodesorción permite evaluar el nivel de biodegradación.

El residuo de la termodesorción se piroliza, resultando una serie de dobletes *n*-alcano y *n*-alqu-1-eno en el rango  $C_7$ - $C_{27}$ , característicos de los productos de pirólisis de materiales ricos en alifáticos. El pirolizado de la fracción de asfaltenos del extracto se asemeja mucho al del residuo (con pares prominentes de *n*-alqu-1-eno/*n*-alcano y benzotiofenos. Esto sugiere que gran parte del material restante, tras la termodesorción, obviamente es de tipo asfáltico.

### Aboño

En la muestra de Aboño se observa las mismas características, los cromatogramas tras la desorción son equivalentes a los obtenidos en las fracciones saturada y aromática, permitiendo identificar el grado de biodegradación. Por otra parte, tanto el pirolizado del residuo de la desorción térmica como el pirolizado de asfaltenos presentan un predominio de hidrocarburos alifáticos (*n*-alcanos y alquenos de cadena corta y mediana), con cantidades secundarias de compuestos aromáticos tales como metilnaftalenos y benzotiofeno.

### Galicia (Prestige)

Tras la termodesorción, la muestra produjo *n*-alcanos de cadena larga y hopanos coincidentes con aquellos observados en la fracción saturada, así como una prominente mezcla de compuestos no resueltos (UCM) que tiene un máximo coincidente con *n*- $C_{30}$ , prototípica de un producto muy degradado. Aparecen además ácidos grasos en el rango  $C_{16}$ - $C_{18}$  en el material termodesorbido, que deben provenir de residuos de un fertilizante oleofílico utilizado para favorecer la biodegradación. Tanto el residuo pirolizado tras de la termodesorción como los asfaltenos pirolizados son predominantemente alifáticos.

### Angola

La muestra presenta un contenido significativamente mayor de la fracción saturada. Los componentes térmicamente desorbidos se asemejan mucho a los de la fracción saturada dominante, que presenta a su vez una distribución similar de *n*-alcanos, isoprenoides y hopanos normales. También se observa que la muestra está ligeramente biodegradada.

Para la realización de la pirólisis, se conservó muy poco residuo tras la termodesorción. Los picos más prominentes se interpretan como correspondientes a los oligómeros de isobutileno resultantes de la pirólisis del poliisobutileno. Este polímero se emplea en la limpieza de derrames de petróleo. Sin embargo, este producto no ha sido encontrado en el pirolizado de

asfaltenos, siendo en este último caso el único pico importante aquel relativo al estireno (procedente de algún contacto de la muestra con el poliestireno).

### **Macondo (EE. UU.)**

La muestra de Macondo, que se recogió a las pocas semanas del vertido, se encuentra relativamente fresca. Predominan los componentes saturados. En esta muestra, al ser muy escasa, se realizó una combinación de termodesorción y pirólisis a 600°C. Se observa un cromatograma muy similar al presentado por la fracción saturada, así como una ausencia de los dobletes alcano/alqueno lineal característicos de la pirólisis de materiales ricos en alifáticos, lo que indica que la mayor parte de los hidrocarburos y compuestos acompañantes ya aparecen en la desorción.

## **PRINCIPALES GRUPOS COMPOSICIONALES**

Además de la descripción general realizada para cada muestra, también se efectuó un estudio comparativo de algunas familias de hidrocarburos, cuyos resultados más destacados se exponen seguidamente.

### **Hidrocarburos alifáticos**

Se compara los fragmentogramas  $m/z$  71 correspondientes a la fracción saturada y al producto tras la termodesorción, los cuales presentan una elevada similitud. En el caso de Angola la distribución es prácticamente idéntica. Para el caso de Macondo los  $n$ -alcanos de cadena más larga ( $>C_{33}$ ) se detectan más eficazmente mediante la técnica de inyección que mediante termodesorción. La distribución de  $n$ -alcanos se corresponde pico a pico. Los cromatogramas de la muestra de Kuwait presentan el mismo rango de  $n$ -alcanos, pero con una distribución diferente. Además, el fitano parece ser relativamente más abundante en todos los productos de la termodesorción. Para la muestra de Aboño, los alcanos lineales de longitud media parecen ser más abundantes en los materiales térmicamente desorbidos. Utilizando ambas metodologías, el número de  $n$ -alcanos se extiende hasta  $C_{36}$ . En la muestra procedente del buque Prestige, ambas técnicas revelan una preponderancia de  $n$ -alcanos de cadena larga. Los ácidos grasos observados en la traza TIC de termodesorción también son evidentes aquí.

### **Hopanos y esteranos**

Los fragmentogramas  $m/z$  191 de la fracción saturada y del producto tras la termodesorción son muy similares en el caso de la muestra Angola. Para la muestra de Macondo, pese a notarse que el hopano es el triterpano predominante en los dos fragmentogramas, no se observan otros detalles en el caso de la muestra termodesorbida. Los datos de esta muestra fueron obtenidos después de un solo calentamiento a 610°C, lo cual indica que se perdió un cierto grado de calidad a fin de obtener las ventajas proporcionadas por un procedimiento de detección rápida. En la muestra procedente de Kuwait, la distribución de hopanos en el material térmicamente desorbido es bastante similar, pero presentando además una serie de benzohopanos previamente observados en la fracción aromática. Para el caso de la muestra de Aboño, la mayoría de las proporciones se mantienen en el material desorbido a pesar de que los homohopanos están mal resueltos, probablemente debido a unas concentraciones insuficientes. En contraste, para la muestra de Galicia, los resultados tras la termodesorción son favorables cuando se comparan con los propios de la fracción saturada.

En cuanto a los esteranos, los regulares son relativamente más abundantes para la muestra de Angola tras el fraccionamiento que tras la termodesorción, presentando un perfil  $C_{29} > C_{27} > C_{28}$ . En el caso de Macondo, predomina el diasterano  $C_{27}$ ; pese a que el procedimiento de separación rápido resuelve mal los esteranos, la abundancia de los diasteranos  $C_{27}$  resulta evidente. En el caso de la muestra de Kuwait, tanto la fracción de saturados como el material termodesorbido presentan un perfil  $C_{29} > C_{27} > C_{28}$  con una abundancia de diasteranos relativamente menor. Por último, las muestras de Aboño y Galicia (Prestige) presentan unas distribuciones similares de esteranos, con una modesta predominancia del compuesto  $C_{29}$  sobre su homólogo  $C_{27}$  y unas cantidades relativamente moderadas del homólogo  $C_{28}$ . Otros esteranos en el material termodesorbido son casi tan abundantes como los normales.

#### **PACs (fenanatrenos y dibenzotiofenos en aromáticos y productos desorbidos térmicamente)**

Se toma como ejemplo la distribución de fenantreno y alquilfenanatenos en el producto de Kuwait. Los resultados de la fracción aromática y tras la termodesorción del “crudo total” exhiben grandes similitudes. Pequeñas variaciones en los tiempos de retención relativos de varios isómeros produjeron alguna variación en la separación. Los C4-alquilfenanatenos isómeros más complejos muestran las mayores diferencias. Análogamente, para el caso de las distribuciones de dibenzotiofeno y C1 a C4-alquildibenzotiofenos, los resultados obtenidos a partir de la fracción aromática y tras la termodesorción son similares tanto a nivel general como a nivel de detalle. No obstante, las variaciones en las distribuciones de los picos aumentan a medida que se ve incrementado el grado de alquilación.

#### **PACs en los pirolizados**

Los productos más degradados han perdido sus compuestos poliaromáticos (PACs) más ligeros (si los tenían originalmente), pero aparecen de nuevo durante la pirólisis a 610°C tanto para los residuos tras la termodesorción como para los asfaltenos. Entre los C1 a C3-alquilnaftalenos, los metilnaftalenos son relativamente más abundantes, tanto en el residuo post-termodesorción como en el caso de los asfaltenos pirolizados. Los resultados son similares entre sí tanto a nivel general como para los isómeros observados individualmente.

Las distribuciones de los fenanatenos son también similares en ambos productos, aunque hay más variaciones en las proporciones de los isómeros particulares. Las diferencias entre los productos de pirólisis y termodesorción son más pronunciadas. Una diferencia clave es la presencia de antraceno y sus derivados alquilados en los productos de pirólisis.

Existe una clara similitud entre las distribuciones de alquilbenzotiofenos del residuo y los productos de pirólisis de asfaltenos. Los compuestos sulfúreos de tres anillos en ambos pirolizados también son muy similares y, en particular, la distribución de isómeros individuales.

#### **Alcanonas**

Además del análisis GC-MS comúnmente empleado para estudiar las fracciones saturada y aromática, se investigaron las fracciones polares. Estas medidas condujeron al reconocimiento, en aquellas muestras particularmente enriquecidas en alifáticos (Angola y Macondo), de una serie compleja de alcanonas lineales de cadena larga (y sus isómeros) y la notable presencia de “jorobas” (UCM). Estas cetonas se forman durante la meteorización del vertido y es muy evidente que los productos ricos en saturados son más propensos a la formación de estas cetonas como consecuencia de los procesos de envejecimiento.

## **4. Conclusiones**



## CAPÍTULO IV: CONCLUSIONES.

### 1. EFICACIA DEL PROTOCOLO ANALÍTICO

El protocolo propuesto ha permitido estudiar los mecanismos de formación de los “tarmats” objeto de estudio en los yacimientos considerados. En el caso de las muestras de vertidos costeros, el protocolo ha posibilitado realizar un seguimiento de la evolución de la atenuación natural de vertidos de crudo y sus derivados en el medio ambiente. En conjunto, por lo tanto, se puede afirmar que los objetivos planteados en esta tesis han sido alcanzados de forma razonable. No obstante, se plantean en los siguientes puntos una discusión y elaboración de conclusiones específicas más detallada para enriquecer el trabajo realizado. En primer lugar, se enuncian las conclusiones particulares que aportaron cada uno de los pasos del protocolo propuesto.

#### 1. Caracterización de fases ligeras de los crudos mediante “**Crudo total**” GC-FID.

El análisis de GC-FID de “crudo total” para las muestras procedentes de yacimientos, mediante la comparación de compuestos volátiles, permitió identificar procesos como, por ejemplo, el lavado por aguas (Los Llanos), mezclas de diferentes pulsos, así como conectividad inter-reservorio (Ceuta). En el caso de los vertidos, esta técnica y otras alternativas que existirían para los compuestos volátiles no siempre suelen ser de utilidad por la rápida pérdida de compuestos volátiles que se produce tras los derrames.

#### 2. **Extracción** de muestras sólidas.

Las muestras de roca madre y núcleos se extrajeron en su mayoría con diclorometano en un sistema Soxtherm (Gerhardt). Sin embargo, la aplicación del protocolo demostró que para las muestras de Los Llanos se obtenían extracciones con mejor resolución en los picos cromatográficos utilizando una mezcla diclorometano: metanol (3:1, v/v).

Por otro lado, fue suficiente la utilización de diclorometano en un equipo de ultrasonidos, para la extracción de muestras procedentes de vertidos.

#### 3. **Análisis isotópico inespecífico (IRMS)** del carbono.

El análisis isotópico inespecífico del carbono permite correlacionar edades de roca diferentes, permitiendo comprobar un origen común en todas las muestras de crudos y “tarmat” procedentes de yacimientos. En el seguimiento de vertidos no parece necesaria su utilización dado que el resto de procedimientos aportan información suficiente.

#### 4. **Fraccionamiento** mediante cromatografía líquida (metodología **SARA**)

La aplicación del procedimiento SARA en todas las muestras de crudo y extractos, mostró que la mezcla de disolventes utilizada en este protocolo analítico permite un fraccionamiento adecuado de las cuatro fracciones, así como la determinación gravimétrica de las mismas.

#### 5. **GC-MS de las fracciones saturada y aromática** para todas las muestras.

Las ratios de biomarcadores obtenidos en esta parte del protocolo han sido la principal herramienta para clasificar las muestras en términos de origen y madurez de los petróleos en los yacimientos. Así mismo, en muestras procedentes de vertidos, las

ratios de biomarcadores obtenidos de estos análisis han sido la principal herramienta para estudiar el "fingerprintig" de las muestras y evaluar la atenuación natural. Se trata por tanto de la herramienta clave para ambos ámbitos de trabajo.

Por otra parte, puntualmente, la cromatografía de la fracción polar más ligera (resinas) se ha demostrado que puede aportar información de interés.

#### 6. Pirólisis de **asfaltenos**.

Tanto en las muestras de Los Llanos como de Ceuta la información obtenida mediante esta técnica no fue concluyente, sin embargo, permite corroborar los resultados obtenidos mediante GC-MS.

Por otro lado, en el caso de muestras procedentes de vertidos, el análisis de asfaltenos con el paso del tiempo permite ver que la foto-biodegradación de éstos modifica las proporciones de los isómeros. Realizando una pirólisis de la muestra sin fraccionar se pudo comprobar que el cromatograma de producto de la termodesorción es capaz de identificar la mayoría de los compuestos que se habían identificado mediante el análisis convencional de las fracciones saturada y aromática, aunque en algunos casos con menos sensibilidad y menor resolución. De la misma manera, el cromatograma de la pirólisis del residuo de la termodesorción es similar al de la pirólisis de asfaltenos. Esta combinación de técnicas puede por tanto ser muy adecuada para el seguimiento de vertidos.

#### 7. **EA-IRMS** de las fracciones SARA y análisis isótopos de compuestos específicos (**GC-IRMS**)

El análisis EA-IRMS de las fracciones SARA y GC-IRMS de los isótopos específicos (alcanos) resultó útil para el establecimiento de correlaciones en los casos del estudio de Tarmats (Los Llanos y Ceuta). Para los estudios de vertidos no se empleó, dado su elevado coste y al hecho de que se consideró innecesario porque su aplicación en la medida de la biodegradación es compleja y su otra potencial utilidad (identificación del vertido) no era necesaria en los casos de estudio concretos que se han desarrollado.

## 2. CONCLUSIONES ACERCA DE LA CARACTERIZACIÓN DE YACIMIENTOS

Además de las conclusiones de los trabajos ya detalladas en los propios manuscritos, se han podido extraer algunas más específicas, directamente relacionadas con el protocolo analítico de los dos estudios efectuados sobre yacimientos de petróleo.

### 2.1. **Petróleos procedentes de las áreas Tiple y Caracara, Cuenca Los Llanos, Colombia**

Los resultados de la aplicación del protocolo analítico mostraron la complejidad del sistema petrolero en las áreas Tiple y Caracara en la Cuenca Los Llanos. Mediante la aplicación del mismo, se identificaron las muestras afectadas por biodegradación y se agruparon cuatro tipos diferentes de muestras.

En concreto, la mayoría de las muestras de petróleo crudo y "tarmats" presentan un predominio de un fluido paleobiodegradado, aunque también se han detectado varias cargas de crudo adicionales en varios de los grupos ya mencionados.

Los resultados sugieren también que la formación de "tarmats" está relacionada con la biodegradación en paleo-contactos agua-petróleo y otras discontinuidades geológicas, aunque no debe descartarse completamente la influencia de procesos de deasfaltación.

## **2.2. Petróleos procedentes de los yacimientos Misoa C2 y C3 del Área 2 Sur (Venezuela)**

Tras la aplicación del protocolo analítico propuesto, se ha demostrado la existencia de numerosos parches asfálticos en las subunidades a estudio, los cuales podrían ser debidos a la biodegradación y, también, a la mezcla de dos cargas de petróleo en tales reservorios. Sin embargo, deben tenerse en cuenta otros procesos como la desasfaltación, a consecuencia de la disminución de presión que se produce durante la migración o la adsorción de asfaltenos sobre arcillas; mecanismos que en este caso podrían explicar en parte la formación de "tarmats".

Los resultados agregados obtenidos con las técnicas analíticas del protocolo indican que todos los "tarmats" pertenecen a la misma familia y que fueron originados a partir de la misma roca madre calcárea depositada en un ambiente marino anóxico. Además, la información obtenida sugiere una continuidad lateral y vertical entre los dos reservorios estudiados.

En este trabajo específico, los resultados de los estudios petrográficos complementaron muy bien al protocolo planteado en esta tesis.

También, como complemento al protocolo utilizado, la información obtenida a partir de la pirólisis Rock Eval en modo reservorio permite concluir la presencia de zonas de "tarmats" en los dos yacimientos estudiados a varias profundidades.

## **3. CONCLUSIONES ACERCA DEL ANÁLISIS DE CARACTERIZACIÓN DE VERTIDOS MARINOS Y TERRESTRE.**

Al igual que en el punto anterior, aparte de las conclusiones de los trabajos ya detalladas en los manuscritos, se han podido extraer otras relacionadas con el protocolo analítico de los dos estudios efectuados sobre vertidos.

### **3.1. Caracterización y evaluación rápida de un vertido costero: ratios diagnósticas**

Los métodos de extracción y análisis de "tar balls" han permitido concluir que el principal factor de atenuación natural del vertido bajo estudio se relaciona con los ciclos climáticos estacionales; en concreto, al final de cada verano se observó una considerable ralentización de la biodegradación y, asimismo, una interrupción de la volatilización.

Para la fracción saturada los cromatogramas obtenidos con columnas de 60 m a partir del fraccionamiento SARA permiten concluir que las relaciones entre alcanos lineales e isoprenoides son buenos indicadores de biodegradación en los primeros meses/años después del vertido. Por otro lado, aunque de manera no totalmente concluyente, puede afirmarse que las ratios entre isoprenoides con diferente presión de vapor pueden ser usadas para estimar la disminución de compuestos relativamente volátiles.

Para la fracción aromática, se probaron relaciones entre PAHs que fueron útiles para una aproximación cualitativa; sin embargo, no permitieron una distinción clara entre biodegradación, volatilización, fotodegradación o procesos de disolución.

En resumen, pese a que el objetivo de la aplicación de relaciones diagnósticas que nos permitan discernir entre los diferentes tipos de meteorización no ha sido totalmente conseguido, el conjunto de datos obtenidos mediante la aplicación del protocolo analítico, así como la obtención de conclusiones en condiciones de escala real, resulta muy valioso para futuros vertidos de las mismas características.

### **3.2. Estudio de vertidos marinos y terrestres: combinación de varias técnicas analíticas**

El estudio de un conjunto de muestras de productos vertidos meteorizados muy distintas entre sí, y por tanto genéticamente no relacionadas, ha revelado una serie de parámetros moleculares clave para estudiar las características de vertidos y la evolución del proceso de meteorización. Además, la aplicación de los análisis GC-MS a las fracciones polares (resinas directamente o asfaltenos previa pirolisis) permite identificar familias de compuestos habitualmente no estudiados (alcanonas, polímeros, etc.).

Se comprobó también la eficacia de la técnica TD/GC-MS aplicada a las muestras de vertido como herramienta para su caracterización. Se ha demostrado que este método posibilita una determinación precisa de la mayoría de los componentes esenciales estudiados mediante el análisis convencional de las fracciones saturada y aromática, aunque en algunos casos con menos sensibilidad y menor resolución.

La pirólisis secuencial del residuo de post-termodesorción y la pirolisis de asfaltenos arrojaron resultados similares, lo que indica que es muy probable que el residuo de la desorción térmica esté constituido principalmente por asfaltenos. Así, la combinación de una termodesorción con una pirolisis posterior supone una sistemática de análisis muy sencilla y rápida con resultados completos.

Por último, tanto la termodesorción como la pirólisis permiten reconocer sustancias que estarían asociadas con trabajos de limpieza de los vertidos, y que no fueron identificadas mediante los análisis convencionales.

