



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
ÁREA ACADÉMICA DE CIENCIAS DE LA TIERRA Y
MATERIALES

***“Geoquímica Orgánica y Paleobotánica de
Helechos Paleozoicos de la
Formación Mazon Creek, Illinois, USA”***

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
LICENCIADA EN INGENIERIA EN GEOLOGIA AMBIENTAL

ELABORADA POR

EVELIN SULAY SOLIS LEYVA

DIRECTOR DE TESIS
DR. KINARDO FLORES CASTRO

CO-DIRECTOR
DR. EMILIO ESTRADA RUIZ

MINERAL DE LA REFORMA, HIDALGO 2026



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo
Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería
School of Engineering and Basic Sciences

Mineral de la Reforma, Hgo., a 16 de enero de 2026

Número de control: ICBI-D/062/2026

Asunto: Autorización de impresión.

MTRA. OJUKY DEL ROCÍO ISLAS MALDONADO
DIRECTORA DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR DE LA UAEH

Con Título Quinto, Capítulo II, Capítulo V, Artículo 51 Fracción IX del Estatuto General de nuestra Institución, por este medio, le comunico que el Jurado asignado a la egresada de la Licenciatura en Ingeniería en Geología Ambiental **Evelin Sulay Solis Leyva**, quien presenta el trabajo de titulación **"Geoquímica Orgánica y Paleobotánica de Helechos Paleozoicos de la Formación Mazon Creek, Illinois, USA."**, ha decidido, después de revisar fundamento en lo dispuesto en el Título Tercero, Capítulo I, Artículo 18 Fracción IV; dicho trabajo en la reunión de sinodales, **autorizar la impresión del mismo**, una vez realizadas las correcciones acordadas.

A continuación, firman de conformidad los integrantes del Jurado:

Presidente: Dr. J. Jesús Martín Torres Valencia

Secretario: Dr. Emilio Estrada Ruiz

Vocal: Dr. Kinardo Flores Castro

Suplente: Ing. Ysis Rebeca Vázquez Camacho

Sin otro particular por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente
"Amor, Orden y Progreso"

Mtro. Gabriel Vergara Rodríguez
Director del ICBI

GVR/MMM



Ciudad del Conocimiento, Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5 Colonia Carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México. C.P. 42184
Teléfono: 771 71 720 00 Ext. 40001
direccion_icbi@uaeh.edu.mx, vergara@uaeh.edu.mx

"Amor, Orden y Progreso"



2025



uaeh.edu.mx

Mineral de la Reforma, Hidalgo, 22 de enero de 2025
Asunto: CERTIFICADO DE ORIGINALIDAD

CERTIFICADO DE DIRECTORES DE TESIS

Los catedráticos abajo firmantes certificamos que la tesis titulada **“Geoquímica Orgánica y Paleobotánica de Helechos Paleozoicos de la Formación Mazon Creek, Illinois, USA”** presentada por **Evelin Sulay Solis Leyva**, ha sido realizada por ella durante el periodo Febrero 2023 a Diciembre 2025 bajo nuestra dirección; además informamos que este trabajo es original y no forma parte de otra tesis o trabajo previo.


Dr. Kinardo Flores Castro

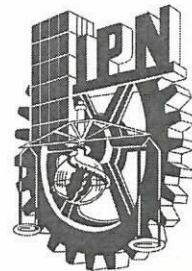
Profesor Investigador Titular C
Área Académica de Ciencias de la Tierra y Materiales
Laboratorio de Geoquímica
Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo





Dr. Emilio Estrada Ruiz

Profesor Investigador Titular C
Laboratorio de Ecología
Departamento de Zoología
Instituto Politécnico Nacional



Resultados preliminares de este trabajo han sido publicados en la memoria del

**XXXIV Congreso Nacional de Geoquímica, UABCS,
La Paz, Baja California Sur, México.**

Solis, E.S., Flores, K., Torres, J.M., Vega, I.L., Estrada, E. y Esquivel, C. 2024. "Geoquímica Orgánica de Biomarcadores en Helechos Pensilvánicos de la Formación Mazon Creek, Illinois, EUA". Actas INAGEQ 2024, v. 30. p. 26. ISSN-Latindex 2310-2799.

Y fue considerado por el H. Comité Evaluador como el **MEJOR TRABAJO** presentado a nivel Licenciatura en el evento académico especializado nacional realizado del 07 al 11 de octubre de 2024 en la Universidad Autónoma de Baja California Sur en la ciudad La Paz.

GEOQUÍMICA ORGÁNICA DE BIOMARCADORES EN HELECHOS PENNSILVÁNICOS DE LA FORMACIÓN MAZON CREEK, ILLINOIS, EUA

ORGANIC GEOCHEMISTRY BY BIOMARKERS IN PENNSYLVANIAN FERNS FROM THE MAZON CREEK FORMATION, ILLINOIS, USA

Evelin Sulay Solis Leyva^{*1}, Kinardo Flores Castro¹, Jesús Martín Torres Valencia², Ivonne Lisset Vega Valdez³, Emilio Estrada Ruiz³, Carlos Esquivel Macías¹

¹ Laboratorio de Geoquímica, Área Académica de Ciencias de la Tierra y Materiales, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Mineral de la Reforma, C.P. 42184. Hidalgo.

² Área Académica de Química. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Ciudad Universitaria, s/n, C.P. 42184. Mineral de la Reforma, Hidalgo.

³ Laboratorio de Ecología, Departamento de Zoología. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas - Instituto Politécnico Nacional. Unidad Profesional Lázaro Cárdenas. Prolongación de Carpio y Plan de Ayala, s/n. Col. Santo Tomás, Delegación Miguel Hidalgo. C.P. 11340. Ciudad de México.

*Correo electrónico: so334755@uaeh.edu.mx

Palabras clave: Helechos fósiles, Pensilvánico, Paleobotánica, Geoquímica, Biomarcadores.

Resumen

Al noreste de Illinois, en el Condado de Grundy, afloran secuencias sedimentarias con incipiente metamorfismo de periodo Paleozoico tardío, que incluyen una gran diversidad de organismos ampliamente descritos por su extraordinario nivel de preservación, lo que les confiere la denominación Lagerstätte. En estos sedimentos se han encontrado especies de Calamites y helechos arborescentes en concreciones calcáreo-arenosas, en pizarras y lutitas alternantes con depósitos de carbón pertenecientes a la Formación Mazon Creek, siendo una de las localidades fosilíferas más importantes del mundo. Las muestras geológicas procedentes de esta formación, motivo de estudio, corresponden con sedimentos siliciclásticos arcillo-limosos en matriz carbonatada (margas), incluidos en estratos delgados de color amarillento. Como resultado de las observaciones y estudios paleobotánicos realizados a las plantas fósiles preservadas en estas rocas, se identificaron helechos de los géneros fósiles Alethopteris, Macroneuropteris y Asterotheca. Con respecto a la caracterización geoquímica de la materia orgánica contenida en los sedimentos y restos de plantas correspondientes a diversos géneros de helechos fósiles, se aplicó una metodología de extracción de bitumen mediante reflujo continuo termorregulado utilizando disolventes orgánicos de baja a alta polaridad, para posteriormente ser concentrados los extractos por medio de un rotavapor. Los extractos generados por cada disolvente fueron caracterizados mediante la técnica analítica de Resonancia Magnética Nuclear 1H (RMN-1H, 400 MHz), resultando diversos compuestos orgánicos que corresponden con ácidos grasos saturados e insaturados, esteroides y polisacáridos. Se continúan las investigaciones por RMN-1H y cromatográficas (CGMs), para definir con mayor precisión los compuestos orgánicos y biomarcadores preservados en estas plantas extintas.



El Instituto Nacional de Geoquímica

La Universidad Autónoma de Baja California Sur

A través del

Departamento Académico de Ciencias de la Tierra

Otorgan el presente

Reconocimiento

a:

Evelin Tulay Solís Leyva

Por haber obtenido el **primer lugar** en la categoría de mejor ponencia oral a nivel licenciatura en el XXXIV Congreso Nacional de Geoquímica, con el trabajo titulado: **“Geoquímica orgánica de biomarcadores en helechos Pensilvánicos de la Formación Mazon Creek, Illinois, EUA.”**, celebrado del 07 al 11 de octubre de 2024 en La Paz, B.C.S., México.


Dr. Jesús Roberto Vidal Solano
Presidente del Instituto Nacional
de Geoquímica


Dra. Mara Yadira Cortés Martínez
Jefa del Departamento Académico de
Ciencias de la Tierra UABCS

Dr. José Antonio Pérez Venzor
Comité Organizador

Agradecimientos

Dr. Kinardo Flores Castro le agradezco su gran comprensión, por el apoyo incondicional en cada tarea de este trabajo y aún más por ayudarme a llegar al INAGEQ en el 2024, el triunfo de aquel congreso siempre lo compartiré con usted. Gracias por permitirme trabajar a su lado, por las palabras de apoyo en todo este proceso, por las enseñanzas y consejos, por no dejarme rendir y por siempre estar pendiente de mí.

Al **Mtro. Jorge Santiago Bautista** por su apoyo para el análisis de las muestras en el cromatógrafo en Chihuahua, por tomarse el tiempo de analizar las muestras en el equipo, a pesar de las dificultades al encontrarse con un equipo nuevo. Además, por ayudarme a identificar algunos compuestos y asesoría respecto a estos.

Al **Dr. Martín Torres Valencia** por enseñarme y ayudarme a conocer un poco más de la resonancia magnética, por la paciencia en todo el proceso y por su tiempo al analizar las muestras. Así como para la interpretación de los diferentes espectrogramas, al igual por su participación como sinodal en el examen de este trabajo.

Dr. Emilio Estrada Ruiz agradezco su colaboración en este trabajo como co-director; además del tiempo que se tomó para observar, describir e identificar los helechos fósiles. También le agradezco su colaboración no solo con este trabajo, sino con todos los trabajos en los que ha apoyado aun siendo de otra institución.

Dr. José Eduardo García Béjar encargado del cromatógrafo en el CIMAV-Chihuahua, le doy gracias por el tiempo para analizar los extractos.

Al **Dr. Omar Rosales González** por enseñarnos cómo funciona el microscopio Keyence, por las diferentes imágenes tomadas y la paciencia para obtener buenas imágenes de los fósiles.

Ing. Ysis Vázquez Camacho por ser sinodal en el examen, por su apoyo en diferentes actividades y consejos.

Y agradezco a todos mis profesores durante la carrera por sus enseñanzas.

Agradecimientos personales

A mi madre, la **Sra. María Leyva** le agradezco íntimamente cada uno de los esfuerzos que ha realizado para que yo pudiera llegar hasta aquí, por prepararme mis comidas para la semana. Una madre ejemplar y fuerte, alguien que hizo crecer tanto mis alas que no tengo miedo de ir y realizar cualquier cosa, por enseñarme a trabajar duro para conseguir lo que me proponga. Mamá eres una mujer increíble y este trabajo te lo dedico, porque gracias a ti lo he podido finalizar, por tu paciencia y apoyo incondicional, te amo mami.

Mi hermosa manita, la Lic. en Matemáticas aplicadas **Laura Solis**, gracias por desde pequeña tenerme la paciencia para enseñarme a leer y amar las matemáticas, hacerme entender que las fracciones son más fáciles que los decimales, y que siempre se pueden encontrar atajos para resolver más rápido un problema matemático. Por ser mi guía en muchos aspectos, tanto escolares como en la vida; gracias por echarme porras y fortalecer esas alas, por protegerme y cuidarme, y siempre apoyarme en mis decisiones, te quiero mucho.

Alejandro Ramírez, te agradezco por ser un gran apoyo, por acompañarme cuando salía tarde hasta ese cerro, porque en el OK está bien, por siempre prestarme tu hombro para recargarme y tus brazos para sentirme segura y desahogarme del estrés o de los malos momentos; y ser mi compañero siempre en la universidad. Te agradezco por no dejarme sola, por enseñarme un sin fin de cosas para ser una mejor persona, por dejarme ser tal cual soy e impulsarme a lograr cada cosa que he querido hacer. Gracias por responder cada pregunta sobre cómo funciona algo, por tu paciencia, te amo mucho y seguro seguiremos construyendo una historia única.

A mi padre, el **Sr. Pablo Solis** por enseñarme a ser valiente y fuerte, por el apoyo que pudiste darme. Gracias por cuidarme y por traerme en cada regreso a clases con mis cosas, y esas visitas para comer una tortita juntos, papá e hijas.

A mi **tía Leo**, por facilitarme y apoyarme cuando lo necesite, por enseñarme a no conformarme y trabajar duro para conseguir algo mejor. Por la paciencia y cariño, sé que tu apoyo siempre lo tendré y que en mis logros siempre estarás presente para celebrarlos conmigo.

Mi sobrino **Betito** te agradezco por hacerme reír y cariño incondicional, por escucharme al enseñarte algo; y a mi pequeña **Luciérnaga**, sé que triunfaras gracias por tus felicitaciones y ser una señorita increíble.

A mi **tía Petra** por ser una segunda mamá para mí y cuidarme. A **Estrellita** por su cariño y porras, sigue siendo esa mujer increíble e inteligente, ¡ah! y también por enseñarme a escribir un poco de braille. También agradezco a mis primos **Oscar, José Luis y Juan Carlos y sus familias** por siempre acogermme, por ser un ejemplo, por el apoyo y ser unos seres increíbles que alegran mi vida siempre.

A mi mejor amiga **Yazmin**, la mejor cirujana dentista, por ser mi confidente desde hace muchos años, por su apoyo incondicional y cariño. Gracias también a tu mami y Liz por siempre recibirme y hacerme parte de esos momentos especiales.

Tío Javier Solis agradezco tus consejos y la oportunidad que me diste, gracias a tu familia y a las personas que conforman MON-TEC por el apoyo incondicional.

Gracias a toda mi familia, a mis abuelos, tíos y demás primos por siempre estar.

También quiero agradecerles a mis amigas **Fátima, Susely, Natalia, Selem y Dely** por su apoyo en la universidad y hasta ahora, en especial a **Karla** por ser una compañera en toda esta travesía y por ser mi cupido. A mi amigo **Brandon** por sus consejos y apoyo incondicional. **Erendida**, gracias por estar conmigo en ese congreso y por tus consejos; y a mis demás amigos que estuvieron y han estado conmigo.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	iii
ÍNDICE DE TABLAS	iv
ABREVIATURAS	iv
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
CAPÍTULO 1. GENERALIDADES	3
Introducción	3
Justificación	4
Objetivos.....	5
General.	5
Específicos.	5
CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES.....	6
Ubicación de los sitios.....	6
Helechos actuales	6
Helechos fósiles	6
Formación Mazon Creek	7
Biomarcadores	9
Resonancia Magnética Nuclear (RMN).....	9
Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas (CG-MS)	10
CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA.....	12
Preparación de muestras	12
Helechos actuales	12
Helechos fósiles	12
Sistema de Reflujo Termorregulado para la extracción de bitumen	14
Resonancia Magnética Nuclear (RMN ¹ H)	16
Cromatografía de Gases-Masas	17
Microscopio Digital Keyence	18
CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES	20
Botánica.....	20
Paleobotánica	21
Resonancia Magnética Nuclear (RMN ¹ H)	25

Cromatografía de Gases-Masas	33
CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES	37
BIBLIOGRAFÍA.....	39
ANEXO 1. CROMATOGRAMAS OBTENIDOS DE LA CG-MS.....	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa localización de Tlanchinol.	6
Figura 2. Mapa localización de Mazon Creek.	7
Figura 3. Ubicación de Mazon Creek durante el Carbonífero.	8
Figura 4. Preparación de Helechos actuales en el laboratorio.	12
Figura 5. Fotografías tomadas en el IPN para su identificación.	13
Figura 6. Fósiles de helechos que se cortaron.	14
Figura 7. Proceso en laboratorio para extracción.	16
Figura 8. Equipo de RMN ^1H en Laboratorio de Química UAEH.	17
Figura 9. Equipo de CG-MS en Laboratorio del CIMAV-Chihuahua.	18
Figura 10. Microscopio digital en UCL de la UAEH.	19
Figura 11. Helecho actual y distribución en América.	20
Figura 12. Fotos de helecho fósil <i>Alethopteris</i> .	22
Figura 13. Fotos de helecho fósil <i>Macroneuropteris</i> .	23
Figura 14. Fotos de helecho fósil <i>Astetotheca</i> .	25
Figura 15. Espectro normal del extracto del helecho fósil en C_6H_{14} .	26
Figura 16. Espectro ampliado del extracto del helecho fósil en C_6H_{14} .	26
Figura 17. Espectro ampliado de otro extracto del helecho fósil en C_6H_{14} .	27
Figura 18. Espectro ampliado del extracto del helecho fósil en CH_2Cl_2 .	27
Figura 19. Espectro ampliado de otro extracto del helecho fósil en CH_2Cl_2 .	28
Figura 20. Espectro ampliado del extracto del helecho fósil en $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$.	28
Figura 21. Espectro normal del extracto del helecho fósil en CH_4 .	29
Figura 22. Espectro ampliado de otro extracto del helecho fósil en CH_3OH .	29
Figura 23. Espectro normal del extracto del helecho actual en C_6H_{14} .	30
Figura 24. Espectro ampliado del extracto del helecho actual en CH_2Cl_2 .	31
Figura 25. Espectro ampliado del extracto del helecho actual en $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$.	31
Figura 26. Espectro 1 ampliado del extracto del helecho actual en CH_3OH .	32
Figura 27. Espectro 2 ampliado de extracto del helecho actual en CH_3OH .	32

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Extractos obtenidos en gramos (g) de cada disolvente.	25
Tabla 2. Compuestos obtenidos en las muestras del helecho fósil.	33
Tabla 3. Compuestos obtenidos en las muestras del helecho arborescente actual.	33

ABREVIATURAS

C ₄ H ₈ O ₂	Acetato de etilo
C ₆ H ₁₄	Hexano
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
CG-MS	Cromatografía de gases masas
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
CH ₃ OH	Metanol
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido
EUA/USA	Estados Unidos de América
IPN	Instituto Politécnico nacional
ppm	Parte por millón
ppb	Parte por billón
ppt	Parte por trillón
RMN ¹ H	Resonancia magnética nuclear ¹ H
TMS/(CH ₃) ₄ Si	Tetrametilsilano
UAEH	Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo
UCL	Unidad Central de Laboratorios

RESUMEN

Al noreste de Illinois, en el Condado de Grundy, Estados Unidos de América (USA), afloran secuencias sedimentarias con incipiente metamorfismo de edad carbonífera, que incluyen una gran diversidad de organismos ampliamente descritos por su extraordinario nivel de preservación, lo que les confiere la denominación Lagerstätte. En estos sedimentos se han encontrado especies de *Calamites* y helechos arborescentes en concreciones calcáreo-arenosas, en pizarras y lutitas alternantes con depósitos de carbón pertenecientes a la Formación Mazon Creek, siendo una de las localidades fosilíferas más importantes del mundo. Las muestras geológicas procedentes de esta formación, motivo de estudio, corresponden con sedimentos siliciclásticos arcillo-limosos en matriz carbonatada (margas), incluidos en estratos delgados de color ocre-amarillento. Como resultado de las observaciones y estudios paleobotánicos realizados a las plantas fósiles preservadas en estas rocas, se identificaron helechos de los géneros fósiles *Alethopteris*, *Macroneuropteris* y *Asterotheca*. Con respecto a la caracterización geoquímica de la materia orgánica contenida en los sedimentos y restos de plantas correspondientes a diversos géneros de helechos fósiles, se aplicó una metodología de extracción de bitumen mediante reflujo continuo termorregulado utilizando disolventes orgánicos de baja a alta polaridad, para posteriormente ser concentrados los extractos por medio de un rotavapor. Los extractos generados por cada disolvente fueron caracterizados mediante la técnica analítica de Resonancia Magnética Nuclear ^1H (RMN ^1H , 400 MHz), resultando diversos compuestos orgánicos que corresponden con ácidos grasos saturados e insaturados, esteroides y polisacáridos. Se evaluaron los resultados por RMN ^1H y cromatográficas (CG-MS), para definir con mayor precisión los compuestos orgánicos y biomarcadores preservados en estas plantas extintas.

Palabras clave: Helechos fósiles, Pensilvánico, Paleobotánica, Geoquímica Orgánica, Biomarcadores.

ABSTRACT

In northeastern Illinois, in Grundy County, USA, outcrops of sedimentary sequences with incipient Carboniferous metamorphism contain a great diversity of organisms extensively described due to their extraordinary level of preservation, giving them the name Lagerstätte. Calamite species and tree ferns have been found in these sediments within calcareous-sandy concretions, in slates and shales alternating with coal deposits belonging to the Mazon Creek Formation, one of the most important fossiliferous localities in the world. The geological samples from this formation, the subject of this study, correspond to siliciclastic clayey-silty sediments in a carbonate matrix (marls), embedded in thin, yellowish strata. As a result of palaeobotanical observations and studies of the fossil plants preserved in these rocks, ferns of the fossil genera *Alethopteris*, *Macroneuropteris* and *Asterotheca* were identified. Regarding the geochemical characterization of the organic matter contained in the sediments and plant remains of various fossil fern genera, a bitumen extraction methodology was applied using continuous, temperature-controlled reflux with organic solvents of varying polarity. The extracts were then concentrated using a rotary evaporator. The extracts generated by each solvent were characterized using ^1H Nuclear Magnetic Resonance (^1H NMR, 400 MHz), revealing various organic compounds including saturated and unsaturated fatty acids, sterols, and polysaccharides. The results were evaluated by ^1H NMR and chromatographic methods (GC-MS) to more precisely define the organic compounds and biomarkers preserved in these extinct plants.

Keywords: Fossil ferns, Pennsylvanian, Paleobotany, Organic Geochemistry, Biomarkers.

CAPÍTULO 1. GENERALIDADES

Introducción

El planeta Tierra ha estado sujeto a múltiples evoluciones que ha permitido desarrollar vida en él, también los seres vivos que han vivido a lo largo del tiempo han tenido que evolucionar. Gracias a procesos geoquímicos y diferentes factores del ambiente, varios de estos seres vivos han podido describirse gracias a la impresión que han dejado, mejor conocidos como fósiles.

Se han desarrollado diferentes técnicas para poder recrear escenarios de los paleoambientes donde se encontraban los fósiles, hay sitios donde solo se han encontrado algunos restos de estos seres en diferentes estratos, edades y grado de preservación; sin embargo, existen algunos sitios donde se pueden encontrar numerosos ejemplares fósiles de la misma edad con un grado de preservación superior regidas por condiciones fisicoquímicas y biológicas óptimas para que se depositaran los sedimentos y para la transformación de la materia orgánica sedimentaria en la cuenca, en la que quedaron atrapados una gran diversidad de organismos estos sitios, a los que se les conocen como Lagerstattë. Este término de origen alemán se puede definir como el sitio donde se encuentran restos orgánicos excepcionalmente bien conservados y preservados, uno de los procesos tafonómicos que ayudan en la formación de estos sitios son condiciones anóxicas, también una sedimentación rápida que permite enterrar organismos vivos, entre otros (Behrensmeyer, 2021). Específicamente, el Lagerstattë Mazon Creek en Illinois (EUA) es un sitio donde se han podido recuperar gran diversidad de fósiles gracias a la exploración minera que hubo por la gran cantidad de carbón que ahí se encontraba y muchos ejemplares fósiles, que pertenecen a colecciones, fueron recuperadas en esas minas, tanto de animales como de plantas (Clements et al., 2019).

La geoquímica estudia la interacción de los elementos químicos en el planeta Tierra y tiene diferentes ramas como la geoquímica orgánica o biogeoquímica donde se han desarrollado técnicas analíticas para poder recuperar e identificar compuestos de materia orgánica en rocas, conocidos como biomarcadores, los cuales son de gran utilidad para reconstruir el ambiente, puesto que son resistentes a la biodegradación proporcionando información incluso de su disposición y procesos diagenéticos (Méndez Díaz, 2018).

Los fósiles de helechos, motivo de estudio de esta tesis, tienen una gran preservación lo cual permitirá estudiarlos mediante métodos paleobotánicos y procedimientos geoquímicos, que permitirán descubrir un poco del paleoambiente donde se encontraban mediante el bitumen que se le extraiga.

Justificación

Los fósiles con una preservación excepcional como los de Mazon Creek, han dado pauta a diferentes investigaciones y logrado grandes descubrimientos que han intentado definir el ambiente. Sin embargo, además de conocer bien la diversidad del lugar por las impresiones únicas, también en ellas se quedaron restos químicos que permiten conocer detalladamente características del ambiente en el que se encontraban, al preservarse algunos compuestos que producían para lograr la supervivencia y adaptabilidad en el lugar.

Gracias a la innovación y tecnología se han podido extraer estos “restos” mejor conocidos como biomarcadores, que proporcionan una valiosa información acerca del lugar donde se encontraban y así como también del organismo que pasó a fosilizarse; al igual podría ayudar a buscar si alguna de estas especies ha evolucionado y se encuentra relacionado a nuestra actualidad (marco evolutivo).

A la fecha no se han realizado estudios a detalle con respecto a la aplicación de herramientas de geoquímica orgánica en los sedimentos que contienen plantas paleozoicas de dicha formación, motivo de estudio, por lo que este se considera original y precursor.

Objetivos

General.

Implementar técnicas de geoquímica para recuperar e identificar los compuestos orgánicos (biomarcadores), preservados en helechos fósiles y así determinar si existe alguna similitud evolutiva con ejemplares modernos.

Específicos.

- Realizar una caracterización paleobotánica para definir los géneros fósiles, así como la caracterización botánica del ejemplar moderno.
- Aplicar métodos analíticos para recuperar y concentrar la fracción soluble de la materia orgánica sedimentaria (bitumen).
- Caracterizar los compuestos orgánicos preservados en el material fósil mediante RMN ^1H y cromatográficas (CG-MS), para identificar los compuestos orgánicos.

CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES

Ubicación de los sitios

Helechos actuales

Los helechos actuales se recolectaron en el municipio de Tlanchinol, que se encuentra al norte del Estado de Hidalgo en colindancia con los municipios de San Felipe Orizatlán, Huejutla de Reyes, Huazalingo, Calnali y Lolotla, y con el estado de San Luis Potosí (Figura 1). Es parte de la Sierra Madre Oriental, su clima va de semicálido a templado con lluvias todo el año. En cuanto a su vegetación prevalece en su gran mayoría bosque, abarca un poco de selva, pastizal y también se lleva a cabo la agricultura (INEGI, 2010).

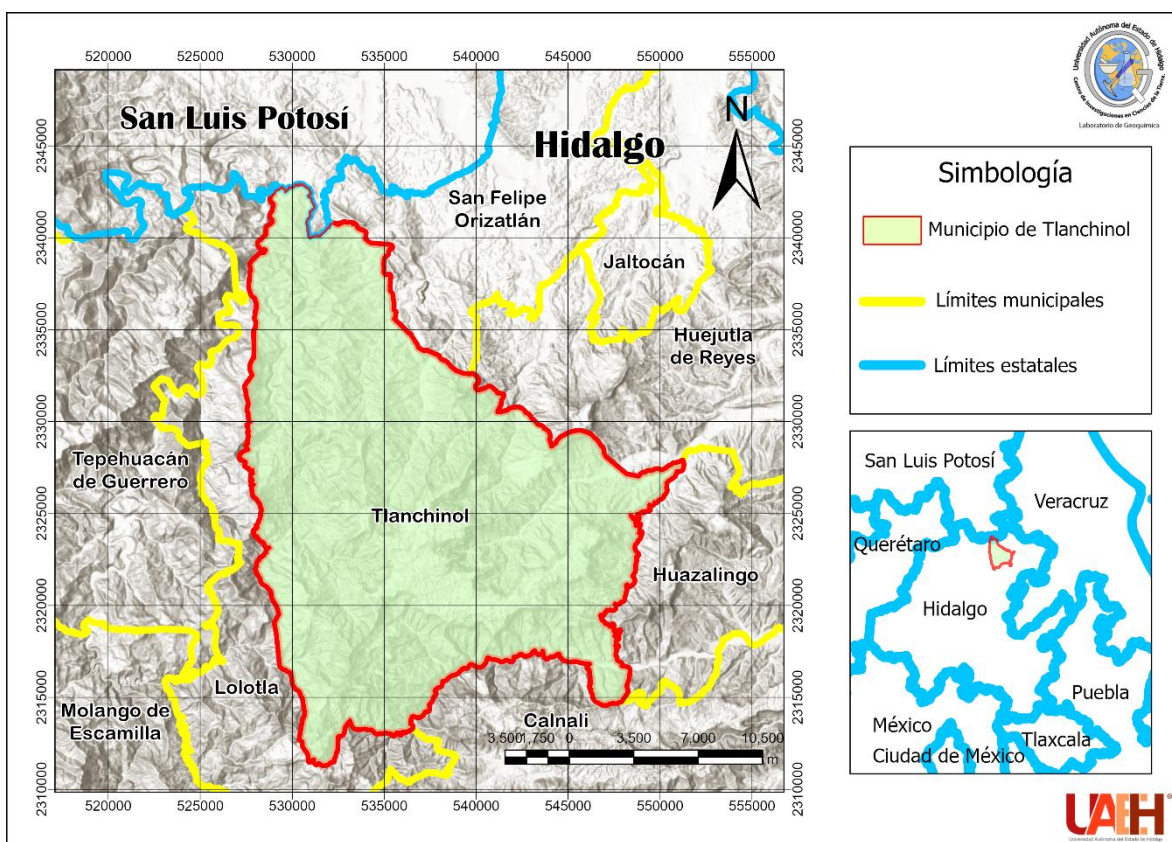


Figura 1. Mapa localización de Tlanchinol.

Helechos fósiles

Los helechos fósiles fueron recolectados por la investigadora de la Universidad de San Luis Misuri Darla Herbpst, en el estado de Illinois, Estados Unidos de América (USA) en la Formación Mazon Creek (Figura 2), estas muestras

fueron donadas al Dr. Carlos Esquivel Macías para investigación, en este caso para un estudio paleobotánico y geoquímico. Para el primer estudio se le pidió la colaboración académica del Dr. Emilio Estrada Ruiz, experto en esta disciplina y, para el estudio geoquímico de los sedimentos y materia orgánica el Dr. Kinardo Flores Castro, responsable del Laboratorio de Geoquímica.

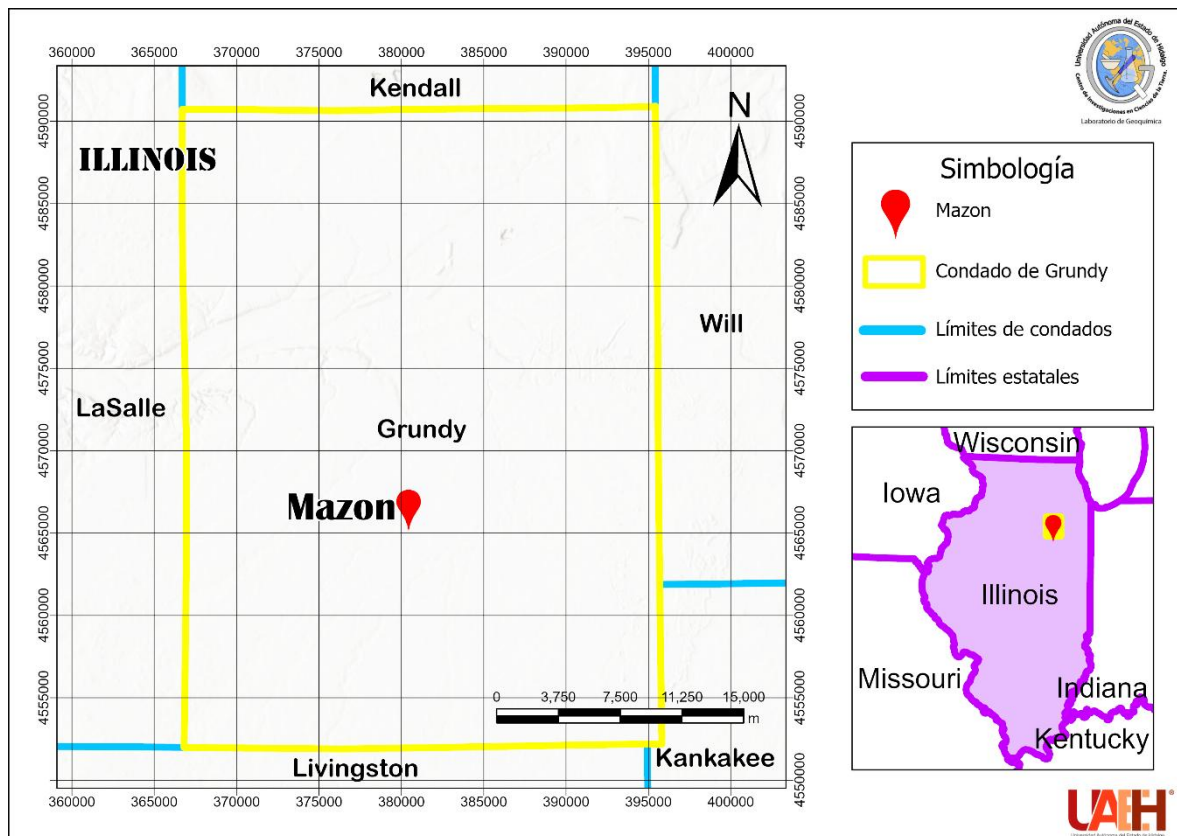


Figura 2. Mapa localización de Mazon Creek.

Formación Mazon Creek

Tiene una edad del Pensilvánico Medio (~306-311 Ma), forma parte del piso Moscoviense, y en su mayoría la diversidad de fósiles se presenta en concreciones de siderita, un mineral de carbonato de hierro que se encuentran en la lutita de Francis Creek que está por encima del manto de carbón Colchester (No.2).

Mazon Creek se encontraba cerca del Paleo-Ecuador durante el Carbonífero siendo parte de lo que sería Pangea, se dieron varias glaciaciones y periodos de calentamiento intermitente lo que provoco oscilaciones del nivel del mar (Figura 3). Francis Creek se depositó en el margen noreste de la cuenca de Illinois. El miembro

del Colchester Coal (No.2) representa un extenso bosque pantanoso que se encontraba cerca de la paleocosta, que creció en un clima cálido, húmedo y lluvioso; debido a una transgresión marina se inundó y ahogó parte del bosque, de manera contemporánea se estaba formando la Orogenia Alleghanian, lo que alteró las condiciones atmosféricas y esto ocasiono que aumentarán las precipitaciones, lo que causo que el afluente de los ríos creciera y depositarán en el mar poco profundo recién formado. Por lo que se cree que Francis Creek se depositó por las inundaciones ocasionadas por las fuertes precipitaciones, dando como resultado un miembro de 25 m de espesor de lodos y limos, aunque Mazon Creek se encuentra solo en los 3-8 m de la base de este (Clements et al., 2019).

Se ha dividido Mazon Creek en dos faunas, Braidwood de agua dulce y Essex de una fauna marina salobre. La fauna marina Essex está dominada por cnidarios, artrópodos, poliquetos, lobopodios, peces, condriktios, lamprea, mixinos, cefalópodos y el *Tullimonstrum*. Mientras que Braidwood lo que predomina es la flora de “colas de caballo”, lycopodios y helechos arborescentes (Clements et al., 2019).

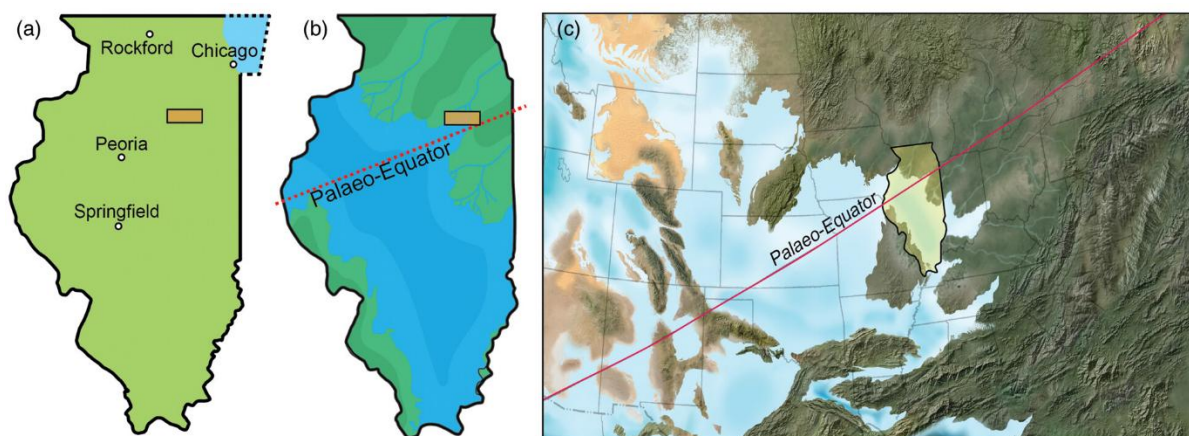


Figura 3. Ubicación de Mazon Creek durante el Carbonífero.

a) Localidad de Mazon Creek (recuadro naranja) en relación con las principales ciudades y pueblos de Illinois. b) Illinois durante el Pensilvánico que muestra el mar epicontinental y las masas de tierra aproximadas en relación con Mazon Creek Lagerstattë (recuadro naranja). c) Illinois y estados circundantes de EUA (contorno gris) durante el Carbonífero tardío. Tomada de Clements et al., 2019.

Biomarcadores

Son fósiles moleculares, es decir, son compuestos orgánicos complejos de carbono, hidrógeno y otros elementos; son útiles debido a sus estructuras complejas con las cuales se pueden determinar su origen. Las características de mayor importancia son estructuras compuestas de subunidades repetidas, lo que indica que son precursores de componentes de organismos vivos; son comunes en ciertos organismos y sus estructuras también son químicamente estables durante la sedimentación. La conservación de la materia orgánica es de alto interés, los biomarcadores prevalecen debido a que estructura permanece intacta durante los procesos de sedimentación y diagénesis, ya que muchos de estos son resistentes a la biodegradación (Peters et al., 2004).

Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

Es una herramienta espectroscópica utilizada en diversas áreas de la química, como herramienta cuantitativa determina con precisión la concentración de un analito de acuerdo con las señales del espectro de ^1H o ^{13}C . El espectro de ^1H permite identificar la huella o perfil metabólico orgánicos.

Un núcleo atómico activo en RMN responde de alguna forma a la presencia de un campo magnéticos externo, magnetización nuclear. El espín nuclear es una propiedad cuántica relacionada con el momento angular del núcleo; en la RMN es indispensable que este espín sea diferente a 0, ya que cuando esto sucede los protones y neutrones que están dentro del núcleo generan una especie de circulación de carga eléctrica que genera un dipolo magnético como el caso de ^1H , pero igual dentro del equipo se debe contar con un campo magnético intenso que ayude a generar distintos estado energéticos, que permita “perturbar” el núcleo atómico.

El campo magnético externo aplicado al núcleo ejerce una fuerza que lo afecta resultando un movimiento circular llamado precesión. Al ser constante el

campo magnético y la irradiación de los núcleos magnéticamente activos con un pulso de radiofrecuencias de la misma magnitud que la frecuencia de precesión provocará que los espines nucleares sean excitados y salgan de equilibrio, y pasen a un estado de energía mayor. Cuando los núcleos regresan a un estado de equilibrio, generan una respuesta oscilatoria, que un espectrómetro detecta como una señal de decaimiento, la cual tiene un proceso matemático basado en una Transformación de Fourier para convertir la señal en un dominio del tiempo (segundos) a un gráfico de frecuencias (Hertz) (García González et al., 2022).

Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas (CG-MS)

Es una técnica analítica que separa, identifica y cuantifica sustancias volátiles y semivolátiles (García Barradas, 2025).

En la cromatografía de gases la muestra se inyecta en la fase móvil, los componentes pasan a través de la fase estacionaria que se encuentra fijada en una columna, está dentro de un horno con programación de temperatura. La velocidad de migración de cada componente será en función de su distribución entre la fase móvil y estacionaria; cada soluto en la muestra tiene diferente afinidad hacia la fase estacionaria lo que permite la separación, los compuestos fuertemente retenidos por esta fase se moverán lentamente en la fase móvil, mientras que los débilmente retenidos lo harán rápidamente, esta diferencia de movilidad permite la separación en bandas que pueden ser analizadas cualitativa y cuantitativamente mediante el empleo de los detectores seleccionados.

Mientras que la espectrometría de masas es una técnica que permite identificar moléculas ya que proporciona su espectro y estructura, medir la concentración de sustancias, detecta concentraciones de ppm o ppb e incluso de ppt o ppq. Dentro del espectrómetro de masas se ioniza la muestra, se aceleran y se conducen hacia el sistema colector mediante campos eléctricos y magnéticos; la velocidad que alcance dependerá de su masa, produce el espectro de masas lo que permite su identificación.

Al acoplar estas dos técnicas permite separar e identificar los componentes de una sustancia, para ambas se necesita una cantidad pequeña de muestra. Se inyecta la mezcla en el cromatógrafo de gases, se separa en la columna y pasa al espectrómetro que también registra la corriente iónica que permite conocer su concentración, cada componente se registra como un pico cromatográfico y se identifica mediante su espectro de masas (Gutiérrez & Droguet, 2002).

CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA

Preparación de muestras

Helechos actuales

El helecho recolectado en el municipio de Tlanchinol fue realizado *in situ*, una parte fue puesta a disposición del maestro Manuel González Ledesma, experto investigador en botánico, adscrito al Área Académica de Biología de la UAEH para su identificación, mientras que la otra parte de las muestras se pusieron a secar para poder realizar el procedimiento de extracción. Se colocaron posteriormente en un matraz balón de un litro en contacto con hexano como primer disolvente y se dejaron en reposo en maceración, para pasarla después a reflujo continuo termorregulado, que se describe en el siguiente subtema.



Figura 4. Preparación de Helechos actuales en el laboratorio.

Helechos fósiles

Se transportaron con extrema precaución a las inmediaciones del Instituto Politécnico Nacional, donde Ivonne Lisset Vega Valdez y el Dr. Emilio Estrada Ruiz

los observaron en un microscopio de alta resolución para determinar sus características morfológicas y determinar su familia y género.

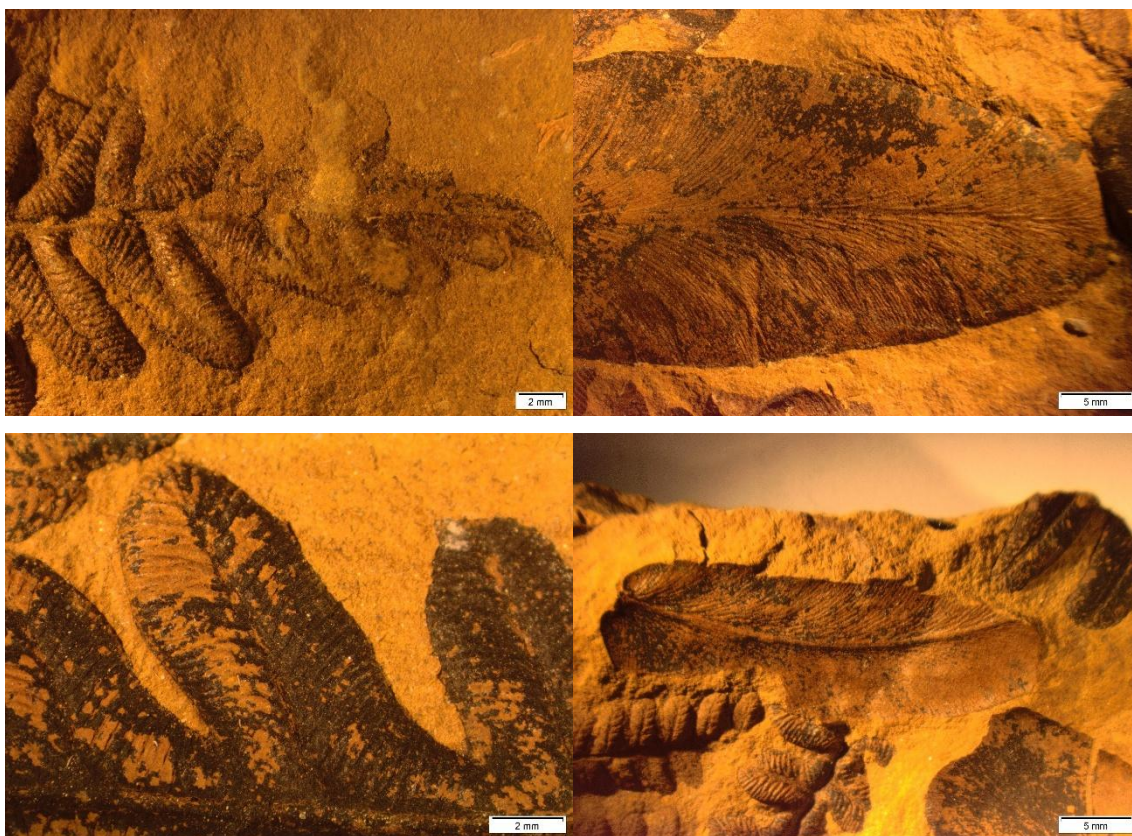


Figura 5. Fotografías tomadas en el IPN para su identificación.

Posteriormente, se regresaron a las instalaciones del Laboratorio de Geoquímica del Área Académica de Ciencias de la Tierra y Materiales, para el procedimiento de extracción de bitumen. Se cortaron ciertas porciones para poder realizar el procedimiento de extracción donde se encontraban ciertas partes de los helechos, así como de la matriz donde aparentemente no había resto de helechos. Los trozos obtenidos se molieron en un mortero mecánico hasta lograr un polvo fino, posteriormente se colocaron en aluminio previamente pesado y nuevamente se pesaron con la muestra; esto permite definir la cantidad de disolvente correcta, ya que se pone una porción 1 a 3 (gr/ml) de disolventes para el proceso de extracción.



Figura 6. Fósiles de helechos que se cortaron.

Sistema de Reflujo Termorregulado para la extracción de bitumen

Para realizar este procedimiento las muestras se colocaron en matraces Florencia de 1L con diferentes disolventes de diferente polaridad desde hexano, diclorometano, acetato de etilo y metanol todos de grado HPLC; y cada uno se fue colocando en el procedimiento que consiste en poner el matraz con el disolvente y la muestra, en una mantilla de calentamiento y al mismo tiempo se conecta a un tubo refrigerante donde se hace circular un anticongelante bombeado constantemente, lo que permite que el vapor se condense y vuelva a su estado líquido en reflujo continuo. También la parte expuesta del matraz se tapa con algodón y aluminio, lo que ayuda a mantener la temperatura y evitar la luz directa, permitiendo así obtener la mayor cantidad de bitumen, evitando también su fotodegradación. Cada disolvente se dejó aproximadamente 48 horas conectado, luego se dejó enfriar a temperatura ambiente, para posteriormente poder filtrarlo por gravedad. A la muestra pulverizada se le agregaba el otro disolvente de mayor

polaridad que la anterior para continuar con la extracción y, el extracto se extrajo y concentró mediante un rotavapor, para obtener así una muestra significativa de bitumen que se guardó en un vial previamente pesado e identificado, con ayuda de una pipeta Pasteur desechable, se dejó secar la muestra a temperatura ambiente tapada con un algodón y en un lugar donde no recibiera la luz; y posteriormente se volvió a pesar la muestra obtenida una vez evaporado el disolvente restante.

De igual manera con el helecho actual, en maceración, se le agregaron los mismos disolventes y se pusieron en el sistema de reflujo continuo termorregulado para recuperar su bitumen, claro al ser una planta como tal la cantidad de extracto obtenida fue mayor.





Figura 7. Proceso en laboratorio para extracción.

a) Equipo de extracción termorregulada; b) Pipeta con escarcha por el flujo frío; c) Muestra conectada que ya había alcanzado el punto de ebullición; d) Filtración por gravedad; e) Muestra en rotavapor para retirar el disolvente; y f) Se traspa extracto a vial.

Resonancia Magnética Nuclear (RMN ^1H)

Los extractos obtenidos ya secos se analizaron en el espectrómetro Bruker, modelo *AscendTM* 400 MHz que se encuentra en el Centro de Investigaciones Químicas de la UAEH con asesoría del Dr. Jesús Martín Torres Valencia, experto en la técnica.

Para poder analizar la muestra se le colocó un disolvente deuterado para que no interfiera con el resultado, o bien ya que si la señal se eliminara podría perderse información. Por ello se utilizó cloroformo deuterado (CDCl_3) en los extractos de hexano, diclorometano y acetato de etilo, mientras que los extractos de metanol se les colocó dimetilsulfóxido ($\text{DMSO}-d_6$), igual un compuesto deuterado.

Posteriormente con ayuda del software *MestReNova* se visualizaron los espectros de RMN ^1H ; en ambos casos teniendo en cuenta como referencia de señal remanente del cloroformo y metanol deuterado.



Figura 8. Equipo de RMN ^1H en Laboratorio de Química UAEH.

Cromatografía de Gases-Masas

También los extractos obtenidos se analizaron con cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas para determinar compuestos específicos. El cromatógrafo de gases - masa (CG-MS) utilizado es de la marca Shimadzu, modelo QP2010 SE con asesoría del Dr. José Eduardo García Béjar, responsable del Laboratorio de Cromatografía del Centro de Investigaciones en Materiales Avanzados (CIMAV-Chihuahua), con ayuda del M. en C. Jorge Alberto Santiago Bautista.



Figura 9. Equipo de GC-MS en Laboratorio del CIMAV-Chihuahua.

Microscopio Digital Keyence

Los helechos fósiles también se observaron en el microscopio digital Keyence Serie EA-300, modelo VHX-S770E/S750E operado por el Dr. Omar Rosales González en la Unidad Central de Laboratorios de la UAEH. Donde se puede observar de manera muy particular los helechos, el microscopio tiene tecnología de punta que permite escanear y visualizar la superficie del fósil en 3D con ayuda de su software; para obtener imágenes de muy alta resolución.



Figura 10. Microscopio digital en UCL de la UAEH.

CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

Botánica

El helecho actual se determinó que es:

***Alsophila firma* (Baker) D.S. Conant, 1983**

Reino: **Plantae**

División: **Tracheophyta**

Clase: **Polypodipsida**

Orden: **Cyatheales**

Familia: **Cyatheaceae**

Genero: ***Alsophila***

Especie: ***firma***

Descripción: Es un helecho arborescente que habita en los bosques templados; se encuentran en Hidalgo, Chiapas, Estado de México, Gurrero, entre otros estados de México y a lo largo de Centroamérica (CONABIO, 2024).

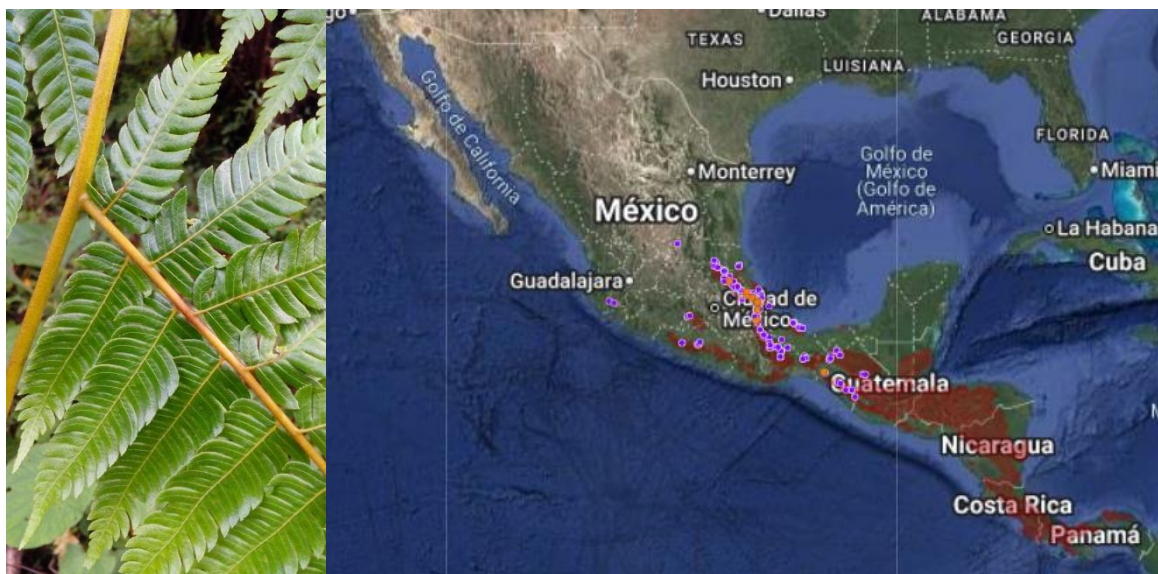


Figura 11. Helecho actual y distribución en América.
Tomada de (CONABIO, 2024).

Paleobotánica

En cuanto a los helechos fósiles analizados en inmediaciones del IPN, se definieron que eran tres tipos de helechos y de diferentes familias, de igual manera se determinó el género de cada uno de ellos descritos a continuación:

Familia: **Alethopteridaceae**

Género: ***Alethopteris***

Fueron descritos como fragmentos de pinas estériles. Frondas al menos bipinnadas; pinas de último orden triangulares y un poco agudas, ápice de la pina constituido por una pínula apical redondeada alargada con bordes laterales y ápice agudo, y fusionada basalmente con el primer par de pínulas laterales. Por lo general, el raquis llega hasta dos tercios de la pínula apical. Pínulas alternadas, más largas que anchas, las porciones apicales son fusionadas unas con otras por la base, base decurrente, de bordes rectos, ápices de las más cortas. Se encuentran redondeados obtusos a agudos. La lámina de las pínulas generalmente es bastante gruesa pínulas. Mientras que su venación caracterizada por una vena media bien marcada que no llega hasta el ápice de la pínula, fuertemente decurrente y numerosas venas laterales decurrentes no anastomosadas que encuentran con el margen de la pínula y las venas laterales se bifurcan a intervalos irregulares.

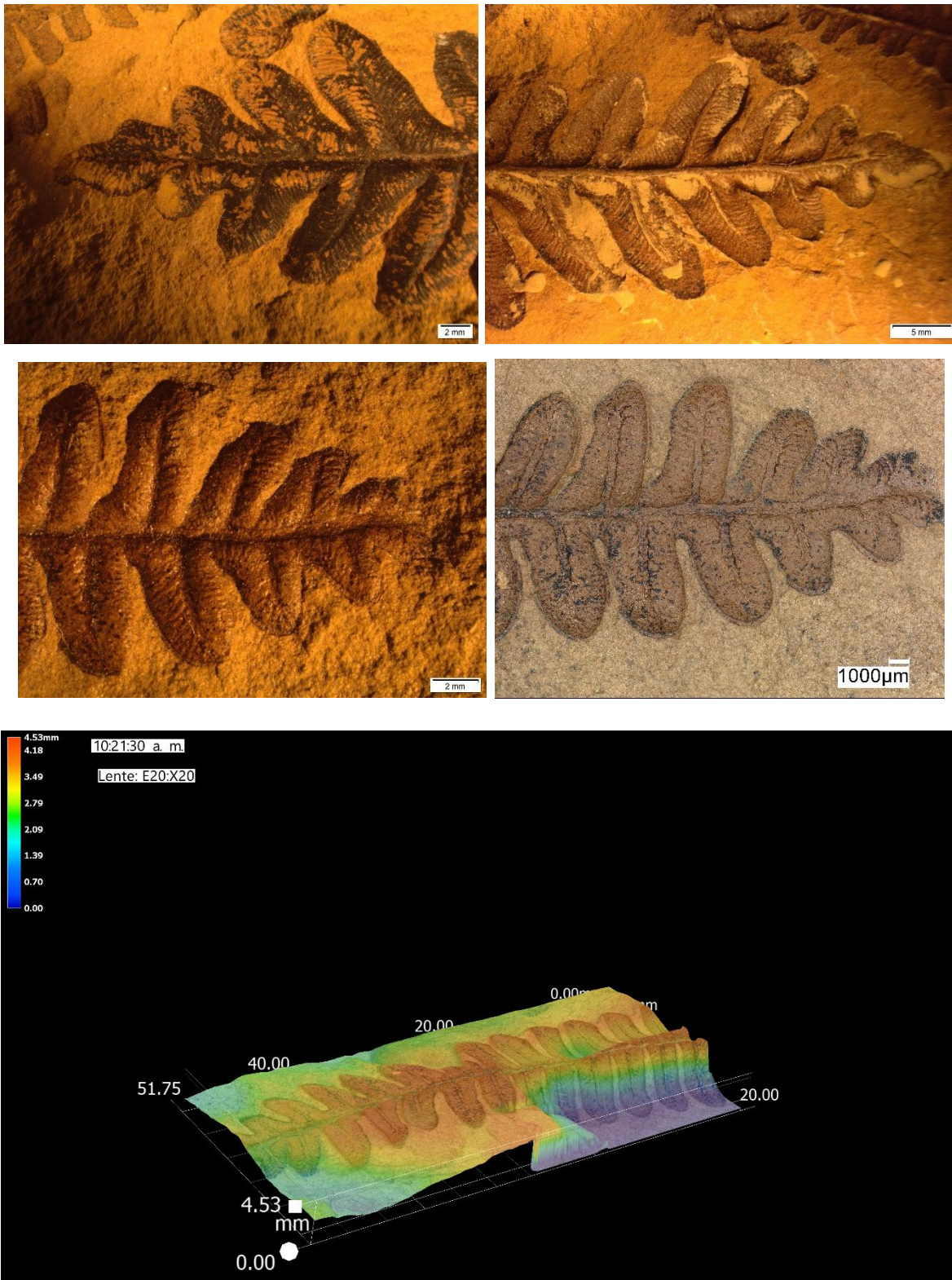


Figura 12. Fotos de helecho fósil *Alethopteris*.
La última foto muestra el desnivel de la superficie del fósil.

Familia: **Neurodontopteridaceae**

Género: ***Macroneuropteris***

Son fragmentos de pínulas estériles. Largas, de forma lingüiforme, sub falcada o sub triangular. Ápice ligeramente redondeado a agudo. La base es cordada y el margen es entero. La vena media es prominente y se extiende a lo largo de la pínula, pero no llega al ápice y su venación densa. Las venas secundarias se bifurcan de 3 a 5 veces y se arquean hasta alcanzar el margen.

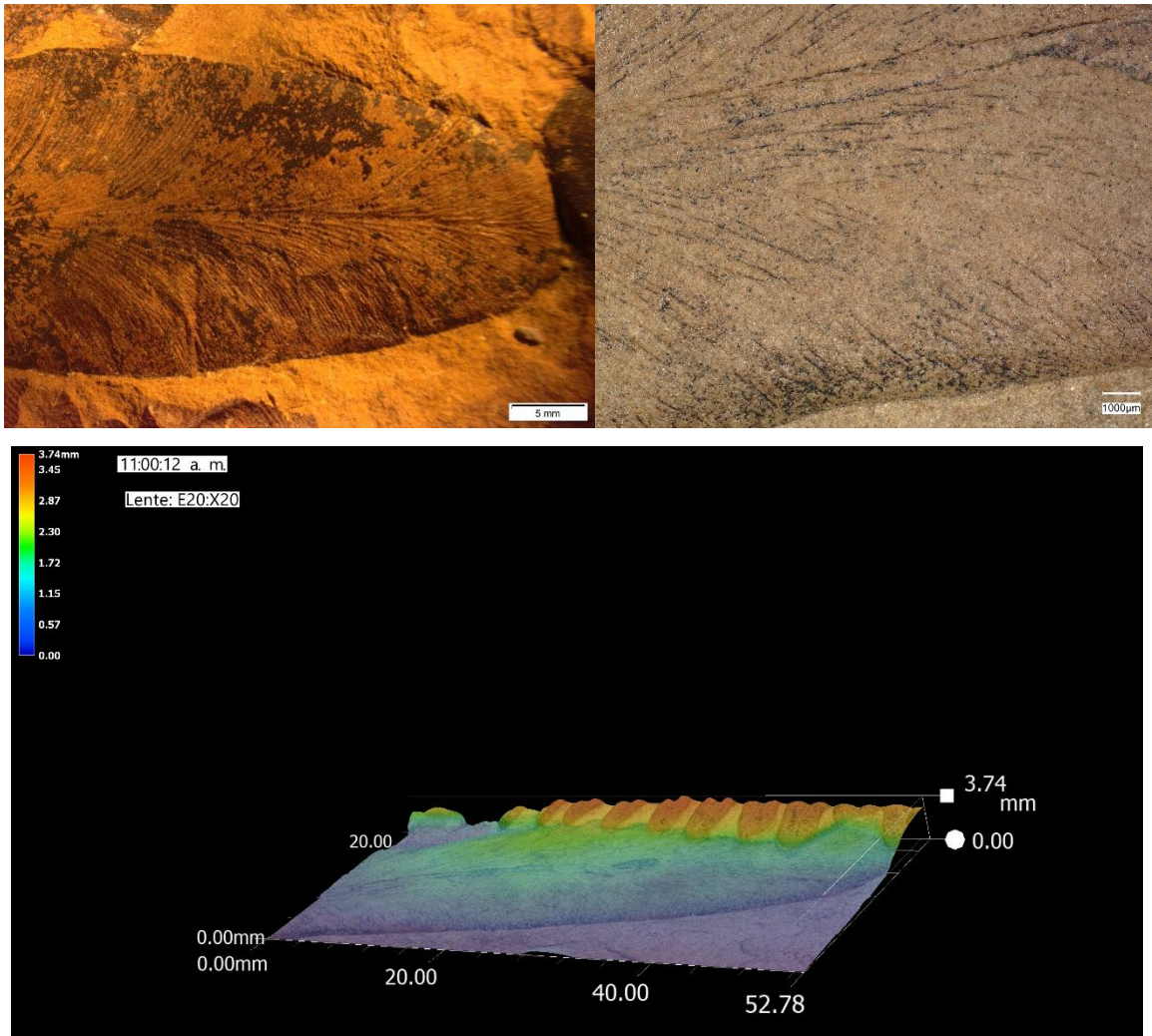


Figura 13. Fotos de helecho fósil ***Macroneuropteris***.
La última foto muestra el desnivel de la superficie del fósil.

Familia: **Marattiaceae**

Género: ***Astetotheca***

Se observaron fragmentos de pinas estériles y frondas bipinnadas. Pinas de último orden triangulares y un poco agudas. Ápice de la pina constituido por una pínula apical redondeada o un poco alargada con bordes laterales rectos, y basalmente fusionada al primer par de pínulas laterales. El segundo par de pínulas en dirección a la base son independientes. Por lo general, el raquis llega hasta el ápice de la pínula apical.

Pínulas más largas que anchas, sub opuestas; bordes laterales enteros y rectos. Bases generalmente rectas y separadas de las contiguas: interespacio muy pequeño de anchura constante entre pínulas próximas. Ocasionalmente las bases son confluentes, sobre todo entre pínulas sub apicales. Ápices de las pínulas redondeados obtusos, sólo a veces un poco agudos vena media no decurrente, de curso recto hasta el ápice de la pínula, ramificándose en dos venas laterales gruesas que llegan al borde de la pínula y venas laterales rectas que se bifurcan.





Figura 14. Fotos de helecho fósil *Astetotheca*.

Resonancia Magnética Nuclear (RMN ^1H)

Los extractos obtenidos del sistema de reflujo termorregulado de helechos fósiles fueron menores que de los helechos actuales como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 1. Extractos obtenidos en gramos (g) de cada disolvente.

Muestra	Hexano C_6H_{14}	Diclorometano CH_2Cl_2	Acetato de etilo $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$	Metanol CH_3OH
Helecho arborescente moderno	111.9	95.6	0.0578	1013.1
Helecho fósil	7.5	17.9	0.0085	21.4

Al analizarlos mediante RMN ^1H , se obtuvieron diferentes grupos funcionales, también se pueden observar las señales remanentes de los compuestos deuterados y la señal del compuesto estándar de referencia interna utilizado para calibrar el desplazamiento químico, tetrametilsilano (TMS) $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$.

En los extractos de muestras del helecho fósil en hexano se encontraron compuestos grasos, trazas de posibles esteroides e hidrocarburos; además de impurezas de los disolventes utilizados en la extracción, estas señales igual se encontraron en los espectros de diclorometano y acetato de etilo.

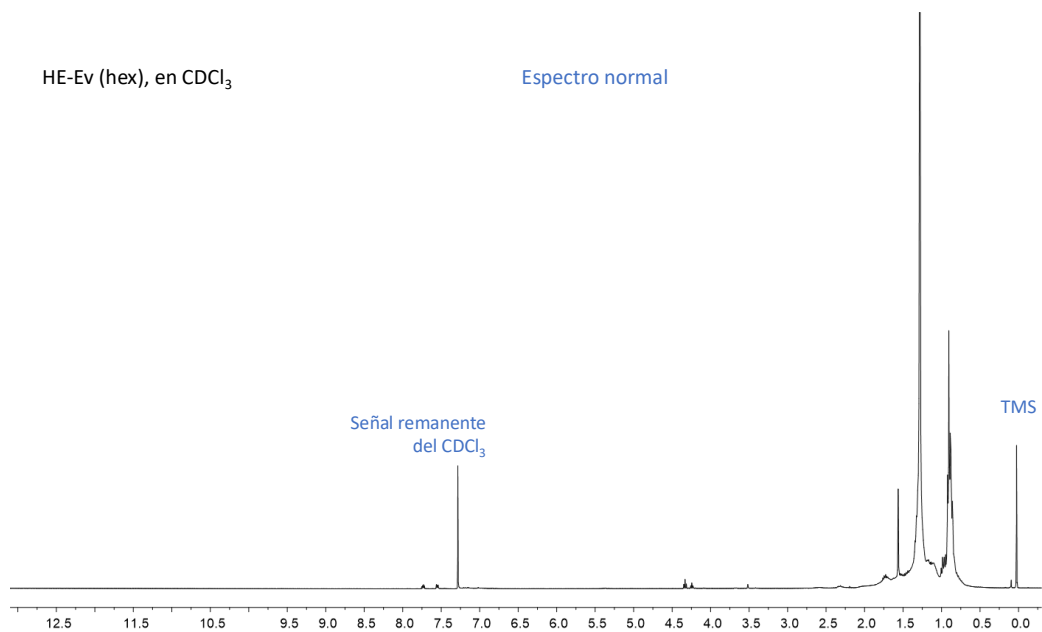


Figura 15. Espectro normal del extracto del helecho fósil en C_6H_{14} .

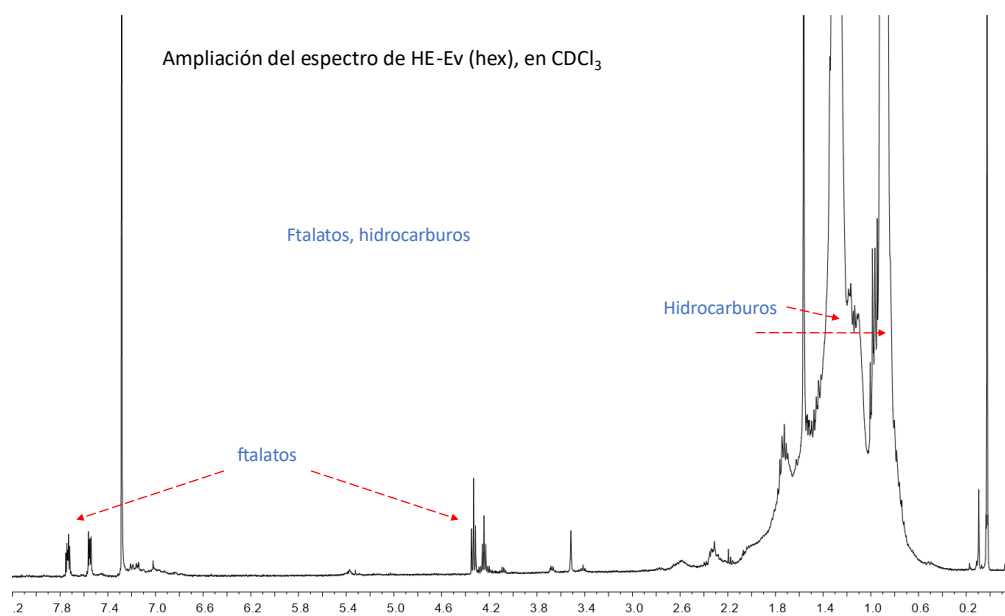


Figura 16. Espectro ampliado del extracto del helecho fósil en C_6H_{14} .

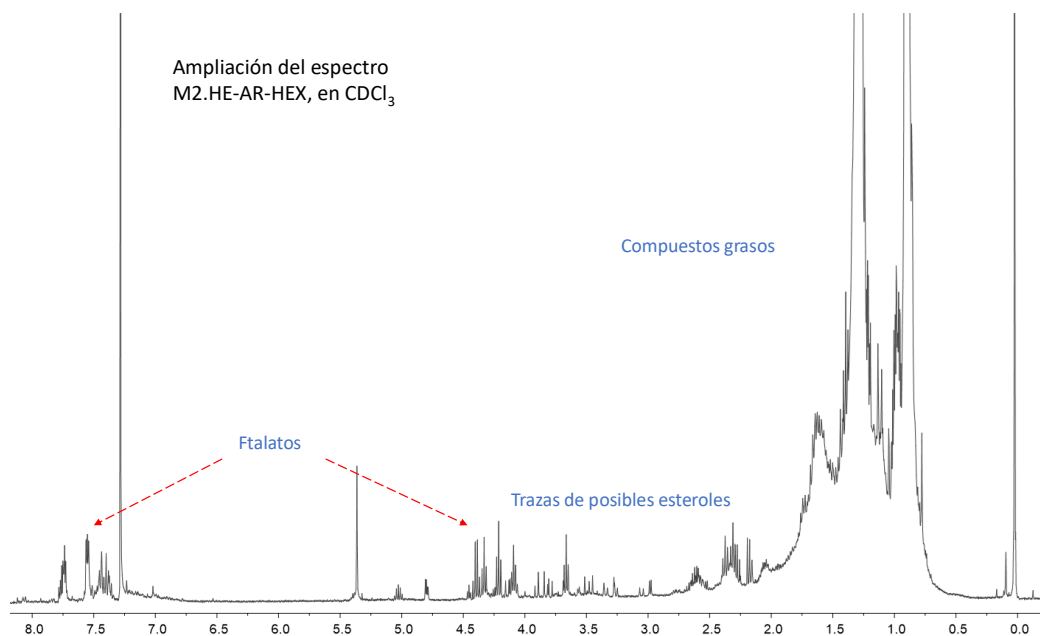


Figura 17. Espectro ampliado de otro extracto del helecho fósil en C_6H_{14} .

Mientras tanto los extractos en diclorometano además de compuestos grasos y metilos de esteroides, una de las señales más interesantes fueron la de triterpenos o diterpenos con enlaces dobles (alqueno) y OH, los cuales pueden ser de gran interés para la investigación.

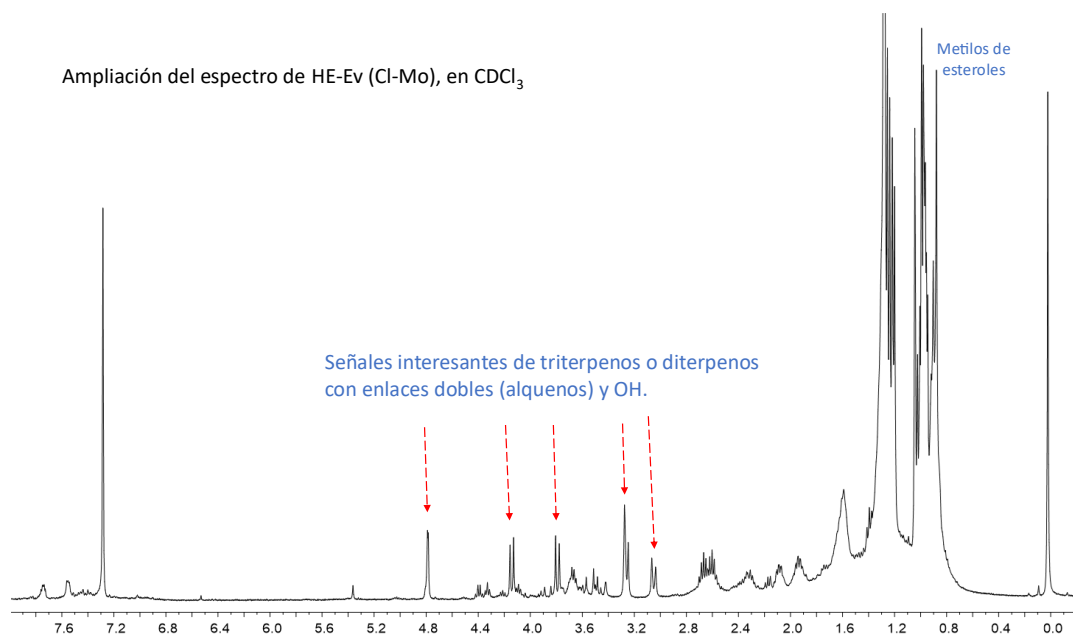


Figura 18. Espectro ampliado del extracto del helecho fósil en CH_2Cl_2 .

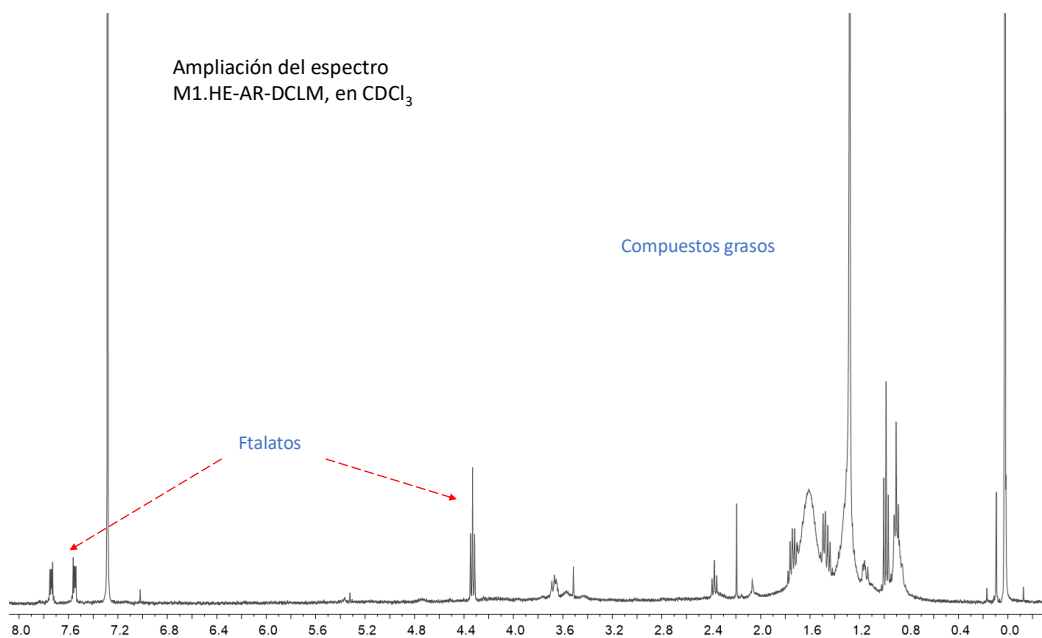


Figura 19. Espectro ampliado de otro extracto del helecho fósil en CH_2Cl_2 .

En los extractos obtenidos de acetato de etilo se encontraron grupos de compuestos grasos, hidrocarburos y posibles esteroides.

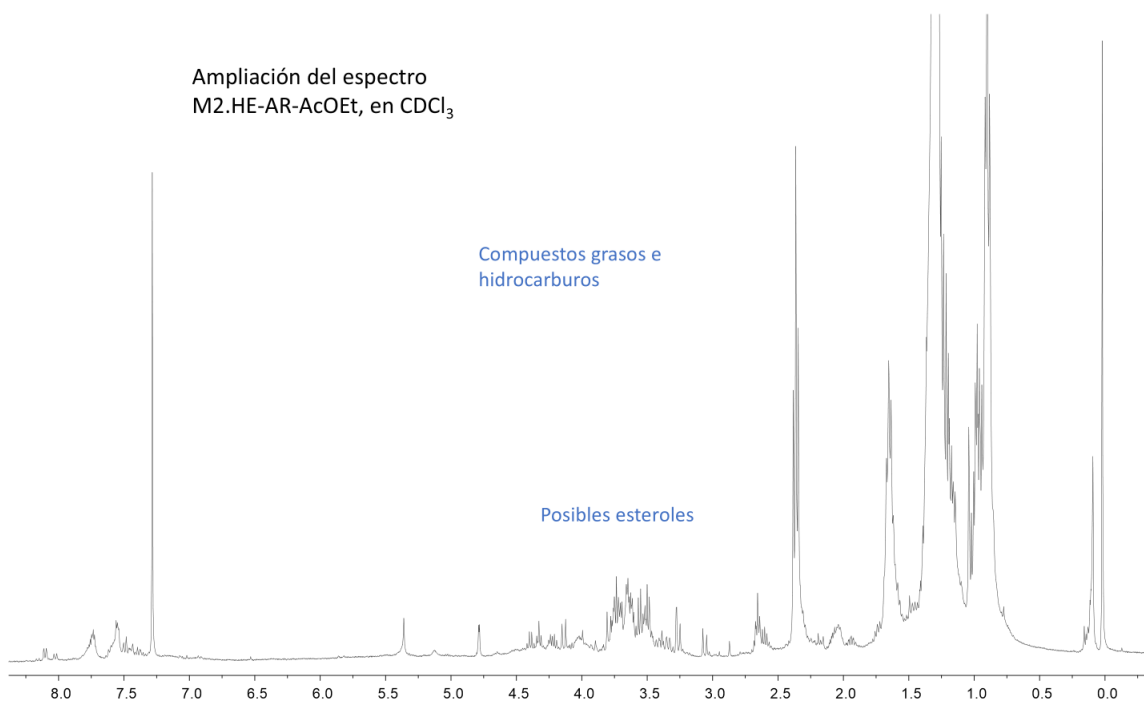


Figura 20. Espectro ampliado del extracto del helecho fósil en $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$.

Y respecto al extracto que se obtuvo del metanol, se pudieron observar señales de compuestos aromáticos e hidrocarburos.

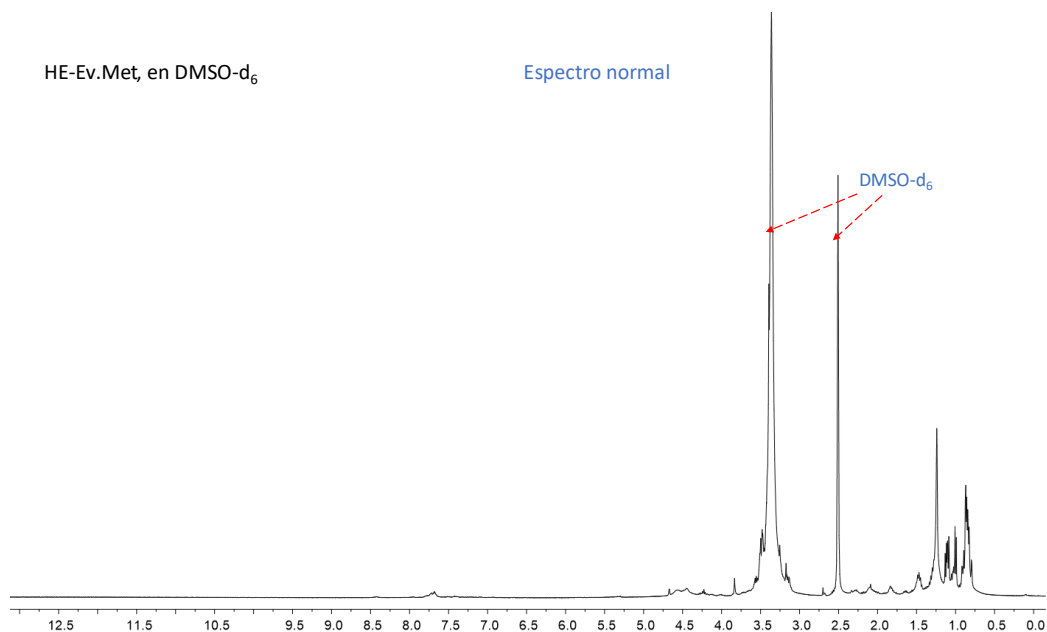


Figura 21. Espectro normal del extracto del helecho fósil en CH₄.

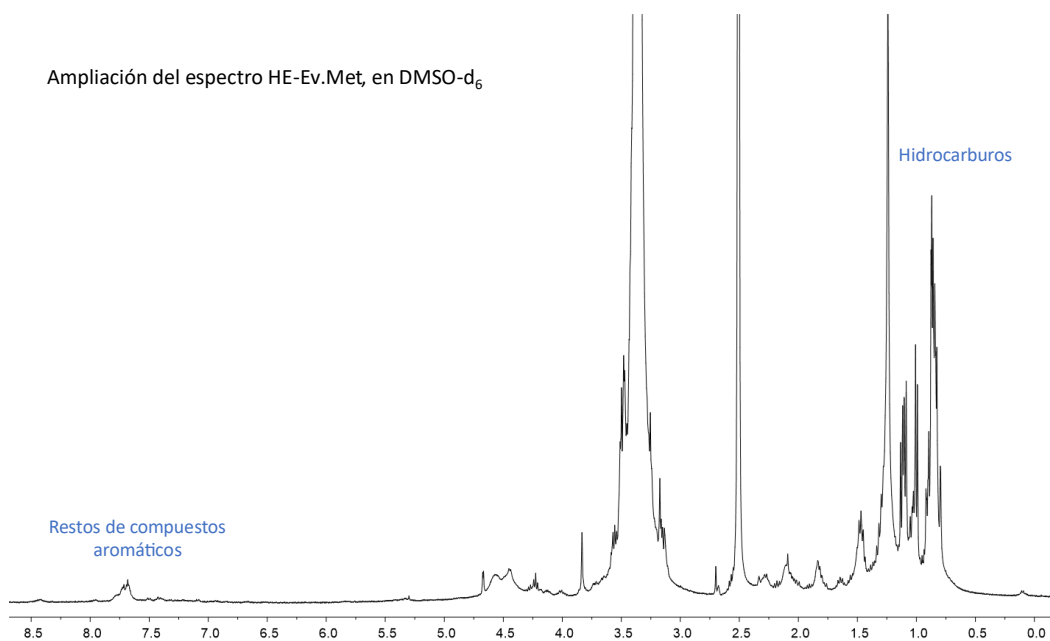


Figura 22. Espectro ampliado de otro extracto del helecho fósil en CH₃OH.

Por otro lado, en cuanto a los extractos del helecho arborescente actual, se observaron más señales de diferentes grupos funcionales y no se presentaron señales de ftalatos. En la muestra de hexano se observaron muestras de metilos de esteroides, ácidos grasos insaturados, esteroides y el protón H-3 esteroides. En los extractos obtenidos con el diclorometano y de acetato de etilo igual hay señales de compuestos aromáticos, esteroides y ácidos grasos insaturados, además en el espectro de acetato de etilo encontraron señales de protones base OH (esteroides), por ejemplo, podría ser uno de los más comunes como el β -sitosterol.

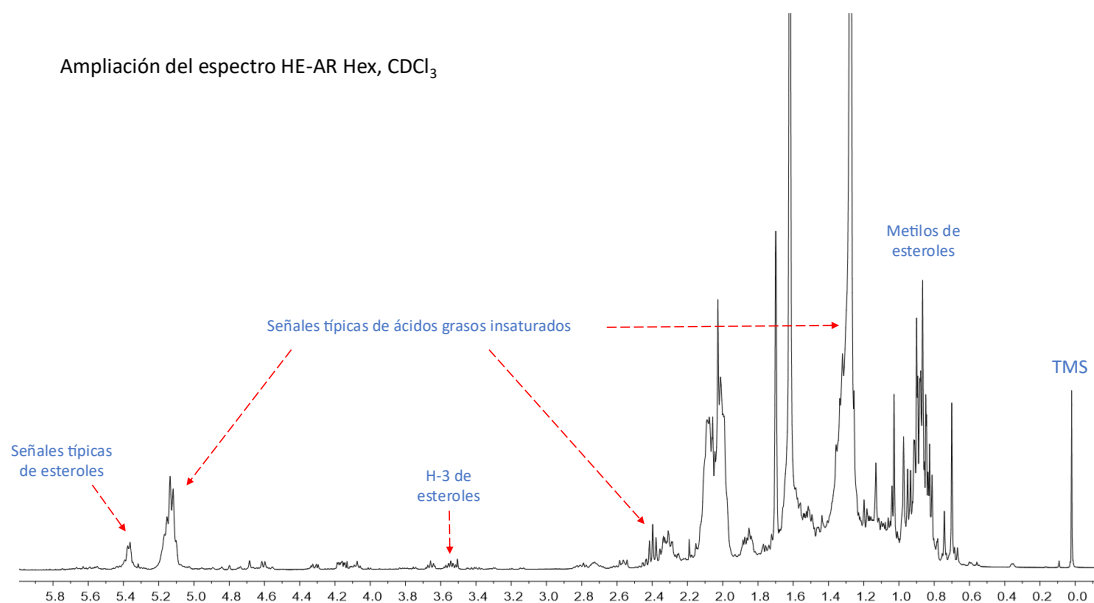


Figura 23. Espectro normal del extracto del helecho actual en C_6H_{14} .

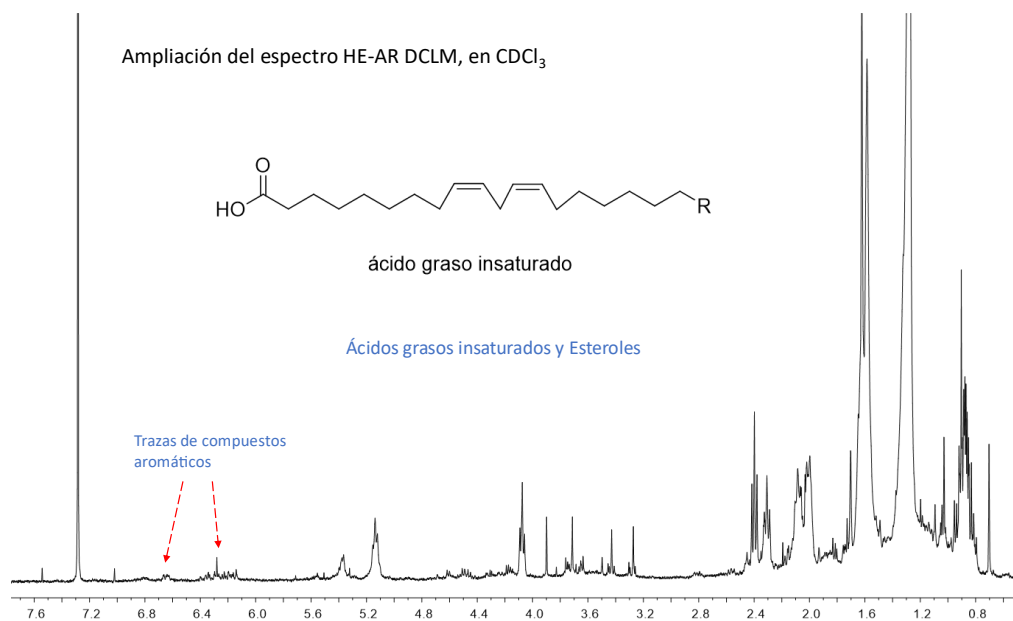


Figura 24. Espectro ampliado del extracto del hebrecho actual en CH_2Cl_2 .

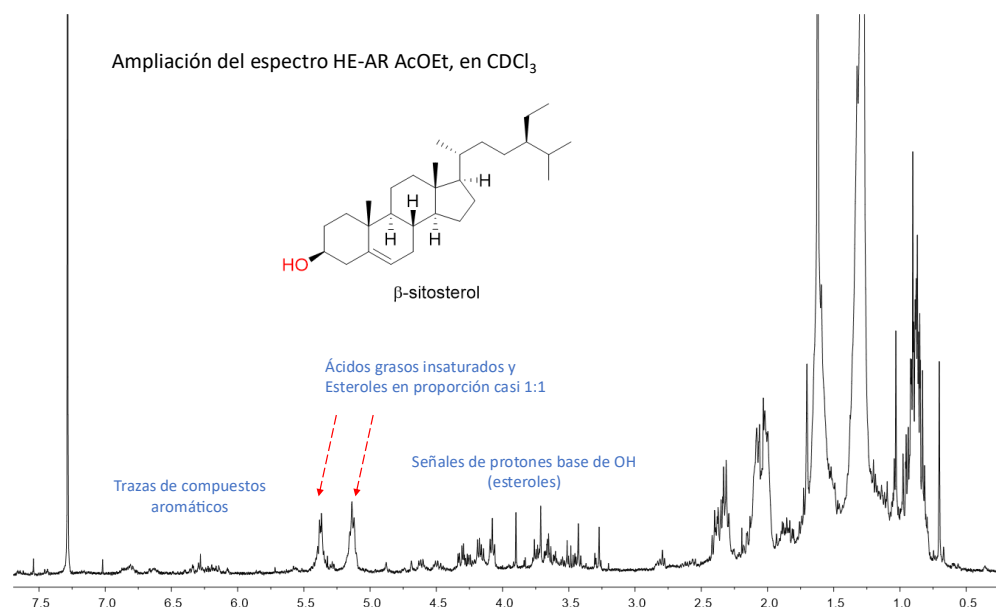


Figura 25. Espectro ampliado del extracto del hebrecho actual en $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$.

Finalmente, en el extracto del helecho actual en metanol se trazaron señales de compuestos aromáticos, polifenoles, polisacáridos, OH de fenoles y alcoholes grasos.

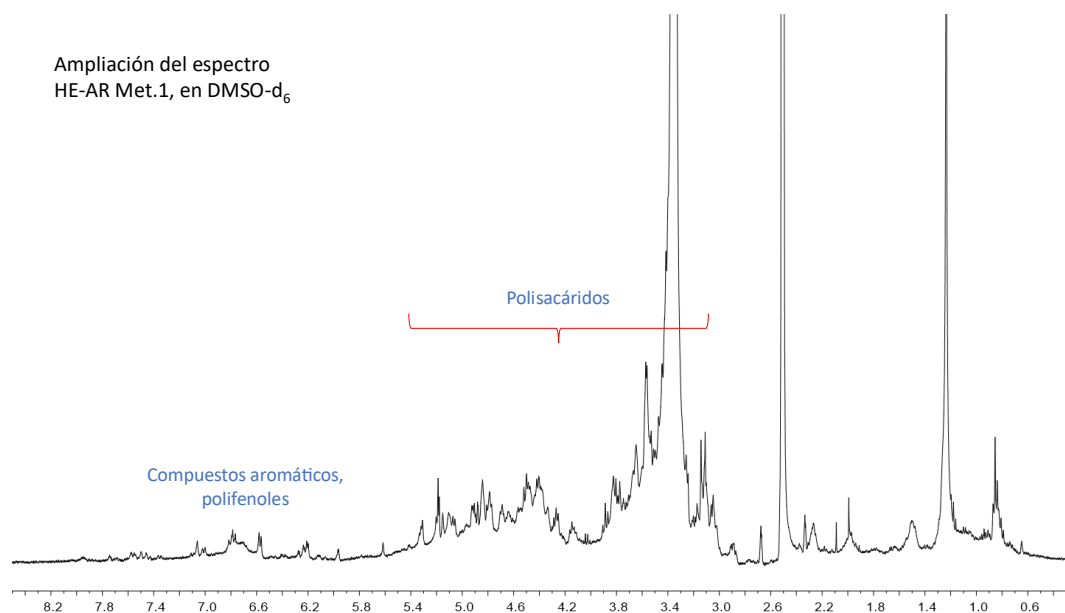


Figura 26. Espectro 1 ampliado del extracto del helecho actual en CH₃OH.

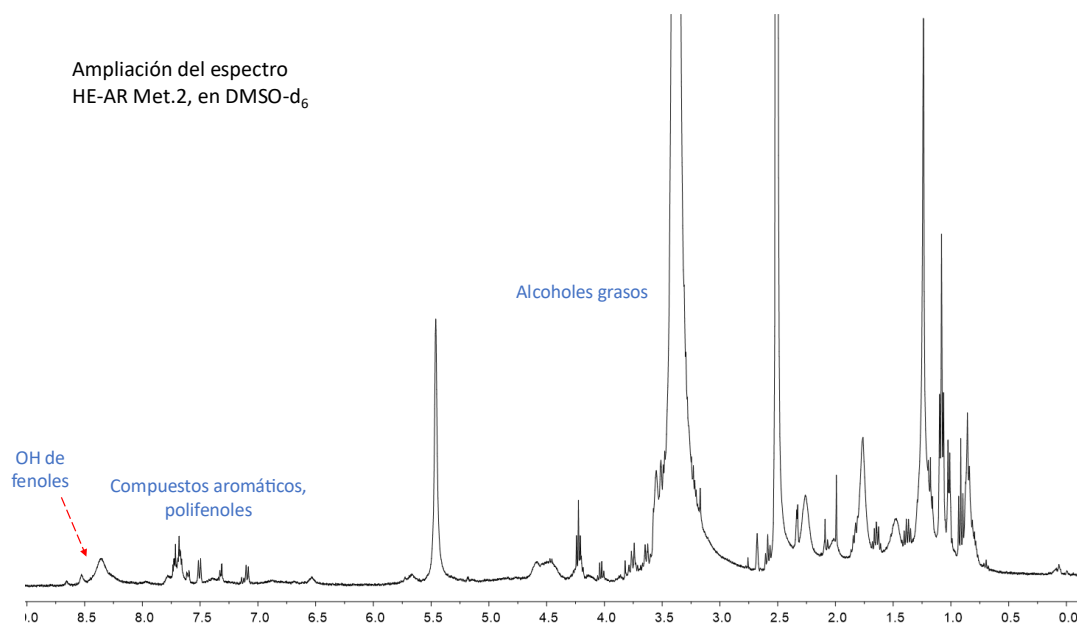


Figura 27. Espectro 2 ampliado de extracto del helecho actual en CH₃OH.

Cromatografía de Gases-Masas

El análisis de CG-MS se obtuvieron varios compuestos que se describen en la siguiente tabla y observan en al Anexo 1.

Tabla 2. Compuestos obtenidos en las muestras del helecho fósil.

#	Nombre Compuesto	Masa molar	Fórmula
Hexano			
1	2-Metilpentano	224	C ₁₆ H ₃₂
2	2,6,10-Ácido trimetilundecanoico, 2,2,2-trifluoro	310	C ₁₆ H ₂₉ F ₃ O ₂
3	2-Metiltetracosano	352	C ₂₅ H ₅₂
4	9- Ácido octadecenoico/Ácido oleico	366	C ₂₄ H ₄₆ O ₂
5	Heptacosano	380	C ₂₇ H ₅₆
6	Ácido hexadecanoico/Ácido palmítico	256	C ₁₆ H ₃₂ O ₂
7	1-Heptacosanol	396	C ₂₇ H ₅₆ O
8	Ácido bencenodicarboxílico/Ácido ftálico	334	C ₂₀ H ₃₀ O ₄
9	Ácido nonahexacontanoico	998	C ₆₉ H ₁₃₈ O ₂
Diclorometano			
10	1,2,4,5-Tetrazina	138	C ₆ H ₁₀ N ₄
11	9, 12, 15- Ácido octadecatrienoico	278	C ₁₈ H ₃₀ O ₂
12	Ácido dodecanoico, 3-hidroxilo /Ácido láurico	216	C ₁₂ H ₂₄ O ₃
13	Ácido octadecenoico, 2-(octadeciloxi) éster etílico	580	C ₃₈ H ₇₆ O ₃

Tabla 3. Compuestos obtenidos en las muestras del helecho arborescente actual.

#	Nombre Compuesto	Masa molar	Fórmula
Hexano			
14	1-Cloroeicosano	316	C ₂₀ H ₄₁ Cl
3	2-Metiltetracosano	352	C ₂₅ H ₅₂
11	9, 12, 15- Ácido octadecatrienoico	278	C ₁₈ H ₃₀ O ₂

12	Ácido dodecanoico, 3-hidroxilo /Ácido láurico	216	C ₁₂ H ₂₄ O ₃
13	Ácido octadecenoico,2-(octadeciloxi) éster etílico	580	C ₃₈ H ₇₆ O ₃

- 1) 2-Metilpenatano: pertenece a los alcanos y es un compuesto orgánico volátil común entre las plantas tanto como atrayentes de polinizadores como defensa contra los herbívoros (Kessler et al., 2015) y se ha reportado como un aceite volátil en la especie de *Pteris semipinnata*, un helecho tropical (Cao et al., 2017).
- 2) 2,6,10-Ácido trimetilundecanoico, 2,2,2-trifluoro: es un ácido graso de cadena ramificada, con una estructura con una larga cadena carbonada con múltiples grupos metilo (Cymit Química SL, 2025); este compuesto se ha encontrado en hongos con características pesticidas (Rossi et al., 2021).
- 3) 2-Metiltetracosano: es un alcano de cadena larga que pertenece al grupo de hidrocarburos saturados, es un componente de diversas ceras naturales (Cymit Química S.L, 2025); se han encontrado en tépalos y pétalos del género *Corcus*, específicamente en la fracción volátil de las flores de *C. vernus* (Mykhailenko et al., 2019).
- 4) 9- Ácido octadecenoico/Ácido oleico: es un ácido graso monoinsaturado, es un ácido octadecenoico con un doble enlaces en C-9 (Merck KGaA, 2025). Se han encontrado en las frondas de diferentes especies de helechos, más específicamente en sus esporas (Nekrasov et al., 2019).
- 5) Heptacosano: es un alcano de cadena larga, pertenece a los hidrocarburos saturados y suele encontrarse en ceras naturales (Cymit Química S.L., 2025b). Se encontró en *Salvinia cucullata*, un helecho acuático flotante, como un compuesto fitoquímico volátil (Santhosh et al., 2022).

- 6) Ácido hexadecanoico/Ácido palmítico: es un ácido graso saturado de cadena larga, es el primer ácido graso que se produce en la síntesis de ácidos grasos y es el precursor de ácidos grasos más largos (TMIC, 2020). Se encontró una gran cantidad de ácido palmítico en frondas jóvenes y en otras especies en frondas maduras de diferentes tipos de helechos de Nueva Zelanda (Nekrasov et al., 2019) y en ceras de las hojas de algunos helechos tropicales de México (Cerón-Carpio et al., 2019).
- 7) 1-Heptacosanol: es un alcohol graso primario de cadena muy larga, uno de los hidrógenos ha sido reemplazado con un grupo hidróxido (NCBI, 2025a). Se encontró en *Hibiscus syriacus* como parte de los extractos hidrometanólicos de sus flores y hojas, éste presenta actividad antimicrobiana, antioxidante y como pesticida (Sánchez-Hernández et al., 2021).
- 8) Ácido bencenodicarboxílico o mejor conocido como ácido ftálico es un compuesto que no tiene relevancia, ya que es parte de la contaminación de la muestra.
- 9) Ácido nonahexacontanoico: ácido graso saturado de cadena muy larga (NCBI, 2025d). Se encontró en un extracto de *Tapinanthus bangwensis* donde se encontró que varios de los componentes tenían efectos beneficiosos para la salud (Ihegboro et al., 2024).
- 10) 1,2,4,5-Tetrazina: es un compuesto aromático heterocíclico con un anillo que contiene 4 átomos de nitrógeno y dos átomos de carbono (Cymit Química S.L., 2025a). Varios de los compuestos de la tetrazina tienen propiedades antivirales, antiinflamatorias, analgésicas, antibacterianas e incluso pesticidas (Górecki & Kudelko, 2025).

- 11) 9, 12, 15- Ácido octadecatrienoico: es un ácido graso poliinsaturado y también es conocido como ácido alfa-linolénico (ALA), pertenece a la familia omega-3, tiene 3 dobles enlaces (Cymit Química S.L., 2025c). Este ácido se encontró en varias especies de helechos relacionado con ácidos eicosapentaenoicos; la familia omega-3 solo se había reportado en equisetofitas, gimnospermas y en algunas angiospermas (Nekrasov et al., 2019).
- 12) Ácido dodecanoico, 3-hidroxilo / Ácido láurico: es un ácido graso saturado de cadena media y un hidróxido (NCBI, 2025c). Se encontró en la cera de la superficie superior de las hojas de helechos tropicales terrestres, las ceras permiten proteger las hojas al limitar la pérdida de agua de los tejidos subyacentes, barrera de radiación UV y como defensa de insectos (Cerón-Carpio et al., 2019).
- 13) Ácido octadecenoico, 2-(octadeciloxi) éster etílico: es un ácido graso saturado de cadena larga, con ácido esteárico; el éster es similar a una cera (NCBI, 2025b). Junto con el ácido hexadecanoico es uno de los ácidos con mayor porcentaje en las ceras cuticulares de diferentes helechos tropicales terrestres de México, la cual actúa como repelente de agua y repele algunos herbívoros (Cerón-Carpio et al., 2019).
- 14) 1-Cloroeicosano: es un compuesto halogenado derivado de un alcano lineal de 20 carbonos, se ha encontrado en las cutículas foliares de plantas halófitas como la familia de *Chenopodiaceae* (Grossi & Raphel, 2003).

CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES

De acuerdo con los análisis botánicos y paleobotánicos se pudieron definir la especies, familia y géneros de los diferentes helechos que se estudiaron; con ayuda de microscopios de alta resolución que permitieron observar de manera más detallada las características de cada uno.

Con el procedimiento de reflujo continuo termorregulado, permitió extraer cantidades representativas de bitumen de cada una de las muestras. Los extractos obtenidos del helecho actual fueron de mayor peso ya que la concentración de materia orgánica estaba mucho más concentrada; sin embargo, los extractos de las muestras de helechos fósiles fueron menores puesto que la materia orgánica aún preservada es menor.

En cuanto a los resultados obtenidos de la RMN ^1H se obtuvieron diferentes grupos funcionales como hidrocarburos, compuestos grasos, triterpenos o diterpenos e incluso compuestos aromáticos en las muestras de helechos fósiles. Mientras que en los espectros del helecho moderno se encontraron metilos de esteroides, ácidos grasos insaturados, esteroides, compuestos aromáticos, polifenoles, polisacáridos y alcoholes grasos. Con estos resultados se concluye que los helechos modernos analizados no corresponden y no tienen similitud alguna con las especies fósiles. Corresponden a especies y ambientes distintos.

Mediante la CG-MS se identificaron compuestos, en su mayoría ácidos grasos saturados e insaturados, algunos alcanos y alcoholes grasos en concordancia con la RMN ^1H . En ambas muestras se encontraron cuatro compuestos iguales, los cuales en su mayoría se han corroborado con ceras y frondas de los helechos. Con estos se puede argumentar que existe una similitud de ciertas sustancias que producen los helechos para su defensa ante el clima, plagas o enfermedades donde se encuentren, así como ante el ataque de algunos herbívoros.

Con las técnicas analíticas RMN ^1H y CG-MS se puede corroborar que los compuestos obtenidos de la segunda técnica si pertenecían a los diferentes grupos

obtenidos en la resonancia, por lo que se puede comprobar que son técnicas complementarias de alta resolución.

Es de enfatizar que los helechos fósiles se encontraban en un paleoambiente cálido, mientras que el helecho actual se encuentra en un ambiente más templado y de alta montaña, por lo que se determinó que este factor pudo modificar algunas características de los helechos en cuanto a su evolución y adaptación, por esto mismo se recomienda hacer otros estudios comparativos donde se utilicen helechos modernos que se encuentren en condiciones ambientales templados y tropicales para determinar su similitud.

BIBLIOGRAFÍA

- Baird, G. C. (1979). Lithology and fossil distribution, Francis Creek Shale in northeastern Illinois. *Mazon Creek Fossils, Papers Presented at Symposium, Ann Arbor, Michigan, Held May 1978*, 41–67. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-519650-5.50010-2>
- Behrensmeyer, A. K. (2021). Taphonomy. *Encyclopedia of Geology: Volume 1-6, Second Edition*, 3, 12–22. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102908-4.00120-X>
- Calder, J. H., Nelson, W. J., Bashforth, A. R., Wittry, J., Elrick, S., & Dimichele, W. A. (2023). (PDF) *Fossil vegetational transect from below the Colchester Coal to the roof of the Cardiff (Survant) Coal (Desmoinesian, upper Middle Pennsylvanian), Illinois Basin*. https://www.researchgate.net/publication/374332256_Fossil_vegetational_transect_from_below_the_Colchester_Coal_to_the_roof_of_the_Cardiff_Survant_Coal_Desmoinesian_upper_Middle_Pennsylvanian_Illinois_Basin
- Cao, H., Chai, T. T., Wang, X., Morais-Braga, M. F. B., Yang, J. H., Wong, F. C., Wang, R., Yao, H., Cao, J., Cornara, L., Burlando, B., Wang, Y., Xiao, J., & Coutinho, H. D. M. (2017). Phytochemicals from fern species: potential for medicine applications. *Phytochemistry Reviews*, 16(3), 379. <https://doi.org/10.1007/S11101-016-9488-7>
- Cerón-Carpio, A. B., Pérez-García, B., Monribot Villanueva, J. L., Kiel-Martínez, A. L., Espinosa-Matías, S., Guerrero-Analco, J. A., & Mehlreter, K. (2019). Chemical composition and micromorphological structure of cuticular leaf waxes of eight tropical fern species of Mexico. *Biochemical Systematics and Ecology*, 85, 13–20. <https://doi.org/10.1016/J.BSE.2019.04.008>
- Clements, T., Purnell, M., & Gabbott, S. (2019). The mazon creek lagerstätte: A diverse late paleozoic ecosystem entombed within siderite concretions. *Journal of the Geological Society*, 176(1), 1–11. <https://doi.org/10.1144/JGS2018-088>;PAGEGROUP:STRING:PUBLICATION
- CONABIO. (2024). *Helecho maquique (Alsophila firma)*. <https://enciclovida.mx/especies/151254-alsophila-firma>
- Cymit Química S.L. (2025a). CAS 290-96-0: 1,2,4,5-Tetrazina | CymitQuimica. https://cymitquimica.com/es/cas/290-96-0/?srsltid=AfmBOoq_S4CV1IMwM8JGzycJLgBuXj4kYaLnqDDEqqNAGgt2sGg7Zn6s

- Cymit Química S.L. (2025b). CAS 593-49-7: *Heptacosano* | CymitQuimica. <https://cymitquimica.com/es/cas/593-49-7/>
- Cymit Química S.L. (2025). CAS 646-31-1: *Tetracosano* | CymitQuimica. <https://cymitquimica.com/es/cas/646-31-1/>
- Cymit Química S.L. (2025c). CAS 822-18-4: *Ácido 9,12,15-octadecatrienoico, sal de sodi...* <https://cymitquimica.com/es/cas/822-18-4/>
- Cymit Química SL. (2025). CAS 1189-37-3: *Ácido pristánico* | CymitQuimica. <https://cymitquimica.com/cas/1189-37-3/>
- García Barradas, O. (2025). *Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas (GC/MS) – Instituto de Química Aplicada*. <https://www.uv.mx/sara/equipamiento/gcms/>
- García González, M. A., Sánchez Mendoza, E., Waksman Minsky, N. H., Saucedo, A. L., García González, M. A., Sánchez Mendoza, E., Waksman Minsky, N. H., & Saucedo, A. L. (2022). Fundamentos y analogías para entender mejor la espectroscopía de RMN. *Educación Química*, 33(4), 3–13. <https://doi.org/10.22201/FQ.18708404E.2022.4.0.81520>
- Górecki, S., & Kudelko, A. (2025). Synthesis and Characteristics of 1,2,4,5-Tetrazines for Using as High Energy Density Materials (HEDMs). *Applied Sciences* 2025, Vol. 15, Page 821, 15(2), 821. <https://doi.org/10.3390/APP15020821>
- Grossi, V., & Raphel, D. (2003). Long-chain (C19–C29) 1-chloro-n-alkanes in leaf waxes of halophytes of the Chenopodiaceae. *Phytochemistry*, 63(6), 693–698. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00283-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00283-8)
- Gutiérrez, M. C., & Droguet, M. (2002). La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes de mal olor. *Boletín Intexter (U.P.C.)*, 122, 35–41. <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://upcommons.upc.edu/server/api/core/bitstreams/b5901871-09d4-4a7b-8084-7acb6e52b4f5/content>
- Ihegboro, G. O., Chimaobi J., Owolarafe, T. A., Onifade, O., Udeh, J. J., Saliu, A. O., Daniel D. Abolaji, D. D. A., & Ibrahim, Y. M. (2024). In vitro Investigation and GC-MS Analysis of the Chemical Constituents in the Fraction of Hexane Leaf Extract of *Tapinanthus bangwensis* (Engl. and K. Krause) Loranthaceae. *Tropical Journal of Phytochemistry and Pharmaceutical Sciences*, 3(1). <https://doi.org/10.26538/TJPPS/V3I1.5>
- INEGI. (2010). Compendio de información geográfica municipal 2010. Tlanchinol.Hidalgo. In *Instituto Nacional de Estadística y Geografía*.

https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/13/13073.pdf

Instituto Smithsonian. (2024). *Flora fósil de Mazon Creek | Museo Nacional Smithsonian de Historia Natural*.
<https://naturalhistory.si.edu/research/paleobiology/collections-overview/mazon-creek-fossil-flora>

Kessler, M., Connor, E., & Lehnert, M. (2015). Volatile organic compounds in the strongly fragrant fern genus *Melpomene* (Polypodiaceae). *Plant Biology*, 17(2), 430–436.
<https://doi.org/10.1111/PLB.12252>;PAGEGROUP:STRING:PUBLICATION

Méndez Díaz, C. (2018). Geoquímica orgánica de la madera del género fósil *Agathoxylon* (Araucariaceae) del Cretácico Superior, Potrero El Llano, Aldama, Chihuahua (México). [ICBI-BD-UAEH]. In *Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*.
<http://200.57.56.70:8080/xmlui/handle/231104/2199>

Merck KGaA. (2025). *Ácido oleico*.
<https://www.merckmillipore.com/CR/es/products/chemistry-and-biochemicals/biochemicals/lipids/oleic-acid>

Mykhailenko, O., Kovalyov, V., Goryacha, O., Ivanauskas, L., & Georgiyants, V. (2019). Biologically active compounds and pharmacological activities of species of the genus *Crocus*: A review. *Phytochemistry*, 162, 56–89.
<https://doi.org/10.1016/J.PHYTOCHEM.2019.02.004>

NCBI. (2025a). *1-heptacosanol* | C₂₇H₅₆O | CID 74822 - PubChem.
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1-Heptacosanol>

NCBI. (2025b). *9-Octadecenoic acid 2-(octadecyloxy)ethyl ester*.
https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/9-Octadecenoic-acid-2-octadecyloxy_ethyl-ester

NCBI. (2025c). *Ácido (+-)-3-hidroxidodecanoico* | C₁₂H₂₄O₃ | CID 94216 - PubChem.
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3-Hydroxydodecanoic-acid>

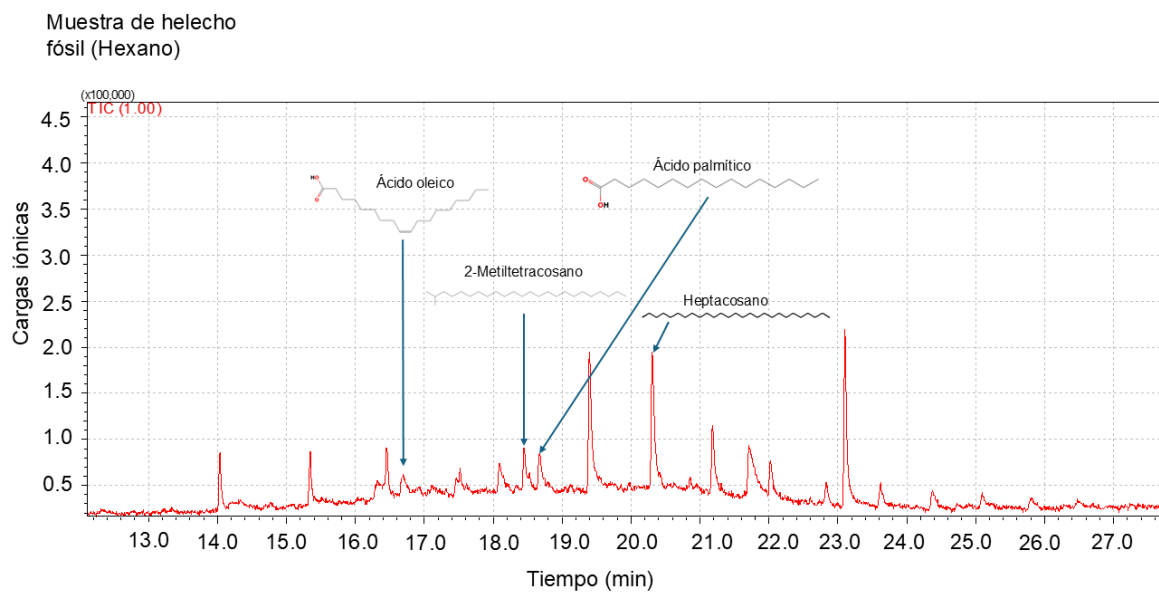
NCBI. (2025d). *Nonahexacontanoic acid*.
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/38626>

Nekrasov, E. v., Svetashev, V. I., Khrapko, O. v., & Vysotski, M. v. (2019). Variability of fatty acid profiles in ferns: Relation to fern taxonomy and seasonal development. *Phytochemistry*, 162, 47–55.
<https://doi.org/10.1016/J.PHYTOCHEM.2019.02.015>

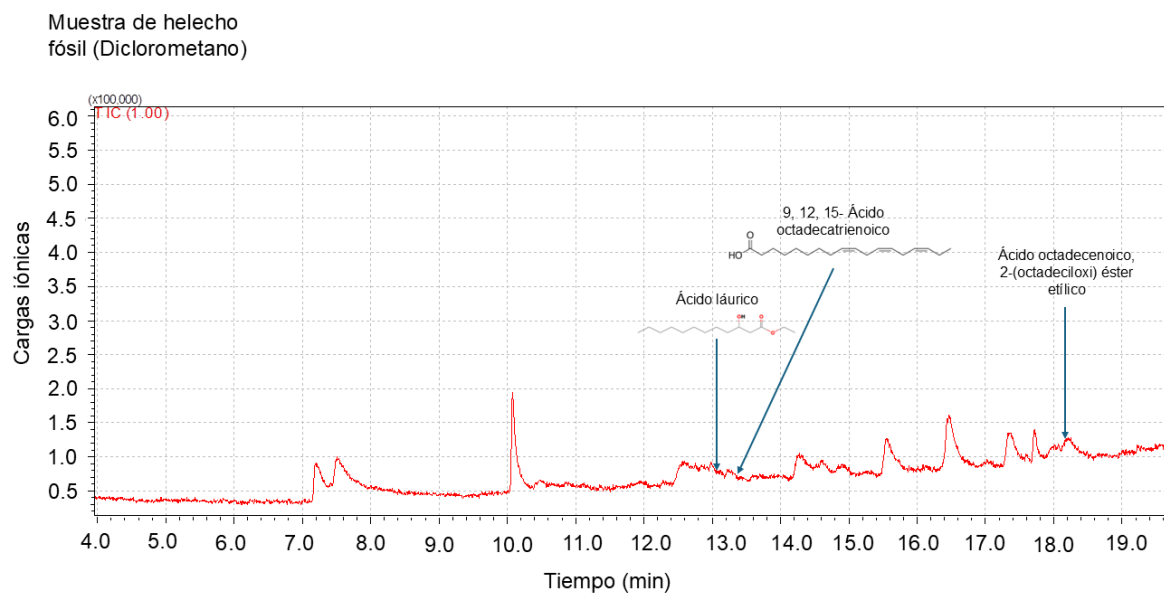
- Peters, K. E., Walters, C. C., & Moldowan, J. M. (2004). *The Biomarker Guide*. *The Biomarker Guide*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107326040>
- Rossi, A., Martins, M. P., Bitencourt, T. A., Peres, N. T. A., Rocha, C. H. L., Rocha, F. M. G., Neves-da-Rocha, J., Lopes, M. E. R., Sanches, P. R., Bortolossi, J. C., & Martinez-Rossi, N. M. (2021). Reassessing the Use of Undecanoic Acid as a Therapeutic Strategy for Treating Fungal Infections. *Mycopathologia*, 186(3), 327–340. <https://doi.org/10.1007/S11046-021-00550-4>
- Sánchez-Hernández, E., Buzón-Durán, L., Lorenzo-Vidal, B., Martín-Gil, J., & Martín-Ramos, P. (2021). Physicochemical characterization and antimicrobial activity against *erwinia amylovora*, *erwinia vitivora*, and *diplodia seriata* of a light purple hibiscus *Syriacus* L. Cultivar. *Plants*, 10(9), 1876. <https://doi.org/10.3390/PLANTS10091876/S1>
- Santhosh, P., Nithya, T. G., Lakshmi, S. G., Marino, G. L. S., Balavaishnavi, B., & Kamaraj, M. (2022). Assessment of phytochemicals, antioxidant, antibacterial activity, and profiling of functional molecules in a freshwater fern, *Salvinia cucullata* Roxb. *South African Journal of Botany*, 151, 275–283. <https://doi.org/10.1016/J.SAJB.2022.02.030>
- Schiffbauer, J., Baird, G. C., Huntley, J. W., Selly, T., Shabica, C. W., Laflamme, M., & Muscente, A. D. (2025). 283,821 concretions, how do you measure the Mazon Creek? Assessing the paleoenvironmental and taphonomic nature of the Braidwood and Essex assemblages. *Paleobiology*, 51(3), 488–506. <https://doi.org/10.1017/PAB.2025.10045>
- TMIC. (2020). *Showing metabocard for Palmitic acid (HMDB0000220)*. <https://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB0000220>
- Tripp, M., Schwark, L., Brocks, J. J., Mayer, P., Whiteside, J. H., Rickard, W., Greenwood, P. F., & Grice, K. (2023). Rapid encapsulation of true ferns and arborane/fernane compounds fossilised in siderite concretions supports analytical distinction of plant fossils. *Scientific Reports* 2023 13:1, 13(1), 19851-. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-47009-8>
- Wittry, J., & Glasspool, I. (2016). *Pennsylvanian Age Fossils of Northeastern Illinois, USA. Flora of the Mazon Creek Region*. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/https://fieldguides.fieldmuseum.org/sites/default/files/rapid-color-guides-pdfs/534_usa-age_fossils.pdf

ANEXO 1. CROMATOGRAMAS OBTENIDOS DE LA CG-MS

1.1 Cromatograma del extracto del helecho fósil en hexano.



1.2 Cromatograma del extracto del helecho fósil en diclorometano.



1.3 Cromatograma del extracto del helecho actual en hexano.

