

Wojciech Bieleń, Irena Matyasik

*Instytut Nafty i Gazu – Państwowy Instytut Badawczy*

## Ropy naftowe i ekstrakty bituminów o niskiej zawartości biomarkerów – preparatyka próbek przeznaczonych do analizy GC-MS

Identyfikacja jakościowa biomarkerów w próbkach geologicznych jest kluczowym zagadnieniem w poznaniu historii powstawania ropy naftowej i jej migracji. Koncentracja wszystkich biomarkerów maleje wraz ze wzrostem stopnia przeobrażeń termicznych. W próbkach będących na wysokim poziomie przeobrażeń termicznych zawartość biomarkerów może być zbyt niska, aby dokonać oceny ich składu jakościowego. W tych przypadkach konwencjonalna procedura wydzielenia frakcji nasyconej, zawierającej biomarkery, jest niewystarczająca, dlatego opracowano nową metodę przygotowywania próbek do analiz biomarkerów przy pomocy GC-MS.

Słowa kluczowe: biomarkery, dojrzałość termiczna, przygotowanie próbki, analiza GC-MS.

### Crude oils and bitumen extracts with low biomarkers content – preparation of samples for GC-MS analysis

Biomarkers concentration decreases with thermal maturity increase. In highly mature samples the amount of biomarkers can be insufficient for precise qualitative evaluation. In such cases conventional procedure of saturated fraction separation is not adequate, hence a new methodology of sample preparation was developed.

Key words: biomarkers, thermal maturity, sample preparation, GC-MS analysis.

#### Wprowadzenie

Biomarkery są związkami organicznymi zawartymi w skałach macierzystych i ropach naftowych, których szkielet węglowy jest stabilny w czasie geologicznym i wykazuje związek z ich naturalnymi prekursorami [6]. Badania biomarkerów techniką GC-MS są od lat systematycznie realizowane w ramach projektów prac dotyczących poszukiwań i eksploatacji złóż węglowodorów. Wykorzystywane są one do określania paleośrodowiska basenu sedymentacyjnego, zaawansowania zachodzących w nim procesów degradacji, stopnia dojrzałości materii organicznej oraz fazy generowania węglowodorów ciekłych i gazowych [6]. Ponadto analiza składu molekularnego biomarkerów dla określonego obszaru basenu naftowego pozwala na korelację w układzie ropa naftowa–skała macierzysta, jak też ropa naftowa–ropa naftowa.

W próbkach geologicznych biomarkery występują w niskich stężeniach, wymagają więc specjalistycznej aparatury do ich oznaczania: GC-MS lub GC-MS-MS. Koncentracja biomarkerów jest tym niższa, im wyższy jest stopień przeobrażeń termicznych. Najprawdopodobniej wywołane jest to przez:

- rozcieńczanie biomarkerów materiałem generowanym z kerogenu (n-alkanami),
- kraking i aromatyzację biomarkerów na wysokim stopniu dojrzałości termicznej.

Kraking jest znaczny na poziomie dojrzałości odpowiadającej 1 procentowi w skali refleksyjności wityryny ( $R_o = 1\%$ ). Współczesne techniki analityczne są wystarczająco czułe, aby w większości przypadków można było zidentyfikować policykliczne nasycone biomarkery. Znacznie trudniejszym

zadaniem jest oznaczanie biomarkerów w próbkach będących na wysokim poziomie przeobrażeń termicznych, gdzie ich zawartość często jest niewystarczająca do dokładnej analizy jakościowej. W takich przypadkach konwencjonalna procedura wydzielenia frakcji nasyconej metodą chromatografii kolumnowej, stosowana do tej pory w Laboratorium Geochemii Nafty i Gazu INiG – PIB, jest niewystarczająca [6]. Konieczne jest wyodrębnienie biomarkerów z frakcji nasyco-

nej (dokładnie oddzielenie n-alkanów od izoalkanów, izoprenoidów oraz cykloalkanów), a co za tym idzie – zwiększenie względnego ich udziału w próbce. Pozwala to na określenie składu biomarkerów (z grupy steranów i hopanów) i obliczenie na ich podstawie odpowiednich wskaźników genetycznych i dojrzałościowych, co jest niemożliwe w przypadku próbek wykazujących wysoki stopień dojrzałości termicznej, a przygotowywanych w sposób konwencjonalny do analizy GC/MS.

## Metodyka badania

### Stosowane odczynniki

W badaniach zastosowano następujące odczynniki chemiczne i materiały:

- sita molekularne HISIV 3000,
- n-heksan,
- pipety Petriego,
- fiolki,
- statyw,
- watę szklaną.

### Zastosowana aparatura

Do badań użyto chromatografu gazowego sprzężonego ze spektrometrem masowym GC (GC 8000) – MS (MD800), wyposażonego w kolumnę kapilarną Quadrex o następujących parametrach:

- długość: 30 m,
- średnica wewnętrzna: 0,32 mm,
- grubość filmu: 0,25  $\mu\text{m}$ ,
- gaz nośny: hel o czystości: 5,0.

### Rozdział n-alkanów od węglowodorów rozgałęzionych i cyklicznych zawartych we frakcji nasyconej

Po zapoznaniu się z metodami rozdziału n-alkanów od rozgałęzionych węglowodorów nasyconych [1, 2, 3, 5, 7] oraz konsultacjach (P. R. Philp) postanowiono zastosować przedstawioną poniżej metodykę.

Proces rozdzielania n-alkanów od alkanów rozgałęzionych prowadzono w pipetach Petriego z wykorzystaniem adsorbenta, jakim były sita molekularne HISIV 3000.

Kolumny przygotowano w następujący sposób: na dnie (pipeta Petriego) umieszczano niewielką ilość waty szklanej uformowanej w kształcie kulki, w celu uniemożliwienia wydostania się adsorbentu z kolumny podczas rozdziału. Po tej czynności umieszczano adsorbent w kolumnie do wysokości 4/5. Adsorbent (sita molekularne HISIV 3000,

sita typu 5A) przygotowano uprzednio do procesu rozdziału przez wygrzewanie w temperaturze 250°C, w czasie 6 godzin. Kolejnym krokiem było przemywanie kolumny z wypełnieniem kilkoma niewielkimi porcjami n-heksanu (3  $\times$  0,5 ml; należy pamiętać, że nie można dopuścić do jej wyschnięcia). Na tak przygotowaną kolumnę podawano 1 ml próbki o stężeniu 3 mg/ml (n-heksanu), a następnie kilka niewielkich porcji n-heksanu (każda po 0,5÷1 ml). Elucję prowadzono do uzyskania 3 ml eluatu (próbki względnie wzbogaconej w biomarkery) odebranego do fiolki.

Metodę przetestowano na 10 próbkach: rop naftowych i ekstraktów bituminów, które dla potrzeb niniejszej pracy oznaczono symbolami literowymi od A do J.

## Analiza GC-MS

### Warunki analizy GC-MS

Program temperaturowy chromatografu:

- temperatura początkowa: 40°C,
- izoterma w temp. początkowej: 1,5 minuty,
- narost temperatury: 4°C/min,
- temperatura końcowa: 310°C,
- izoterma w temp. końcowej: 31 minuty.

Program temperaturowy dozownika:

- temperatura początkowa: 40°C,
- izoterma w temp. początkowej: brak,
- narost temperatury: 180°C/min,

- temperatura końcowa: 310°C,
- izoterma w temp. końcowej: 99 minut.

Po dokonaniu analiz stwierdzono, że program temperaturowy badania został dobrany w sposób prawidłowy.

Próbki poddawane analizie były rozpuszczane w niewielkiej ilości n-heksanu, a ich stężenie wynosiło 6 mg/ml. Nastrzykiwano do analizy 1  $\mu\text{l}$  próbki.

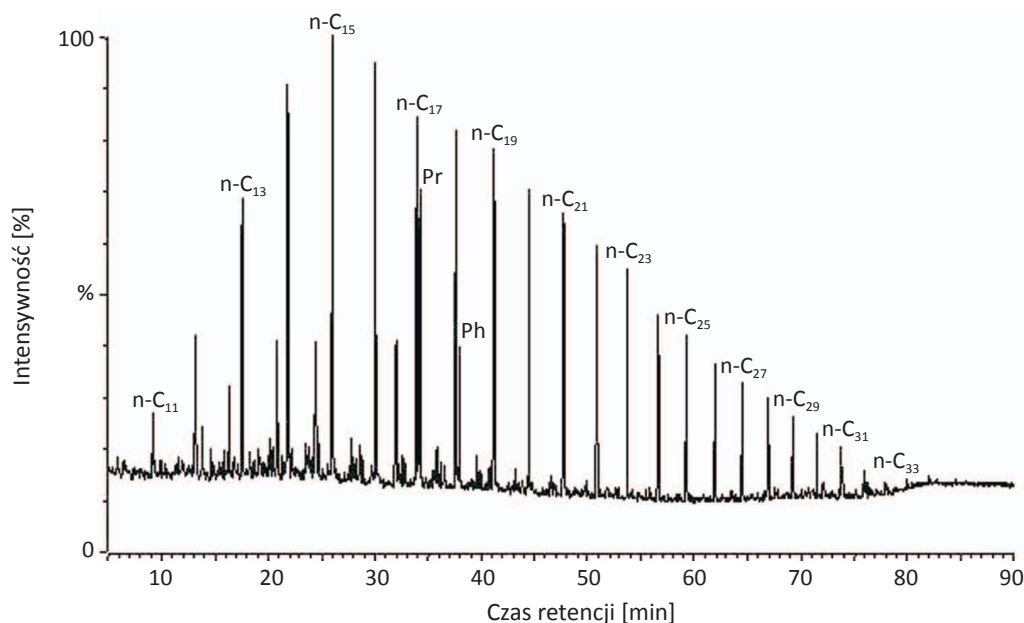
Otrzymane chromatogramy pokazują, że zastosowana metoda rozdziału n-alkanów od reszty węglowodorów nasyconych jest skuteczna. Prowadzone wcześniej analizy GC-MS nie dawały zadowalających efektów. Chromatogramy próbek

frakcji nasyconej ropy naftowej czy też bituminów często nie pozwalały na obliczanie poszczególnych wskaźników genetycznych, ze względu na „maskowanie” biomarkerów w tle dominujących n-alkanów.

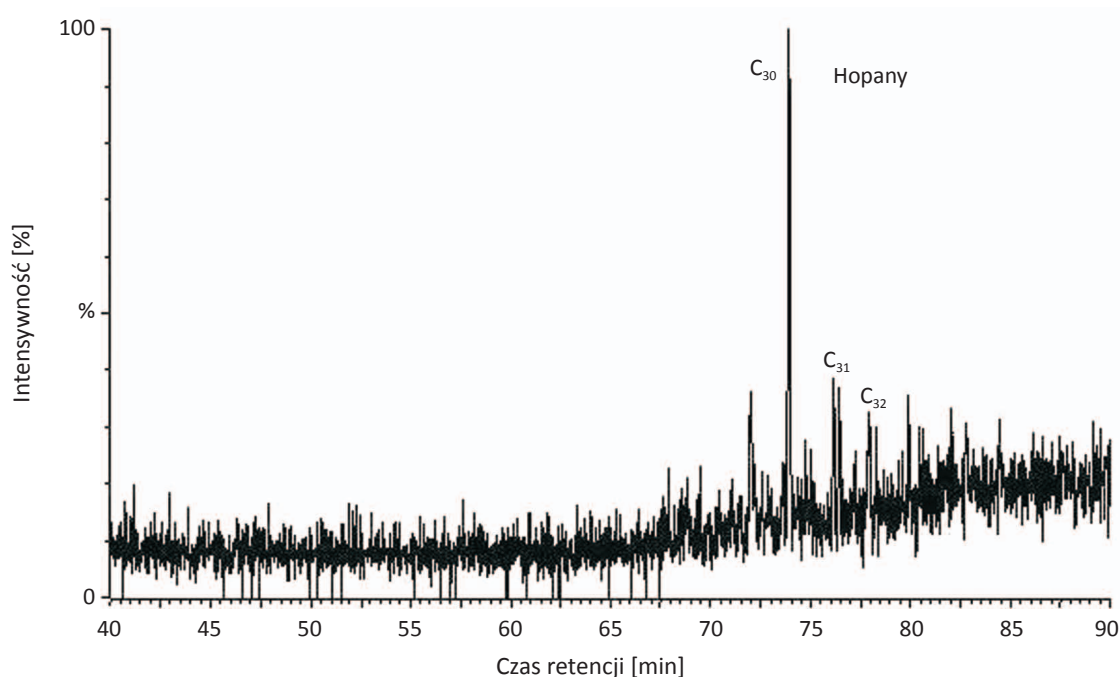
Na rysunkach 1–3 pokazano przykładowe chromatogramy frakcji nasyconej ropy naftowej *C* bez wcześniejszego usuwania z niej n-alkanów. Rysunek 2 przedstawia biomarkery (w niewielkiej względnej ilości) z grupy hopenów, natomiast problem z rozpoznaniem steranów ukazuje rysunek 3, gdzie ich niska zawartość, jak i względnie duże tło uniemożliwiają identyfikację, a co za tym idzie – obliczenie wskaźników genetycznych. Próbki z zawartością biomarkerów na poziomie

wykrywalności muszą więc być uprzednio przygotowane poprzez usunięcie n-alkanów i po tych czynnościach – podane analizie.

Próbki poddane rozdziałowi na sitach molekularnych były analizowane przy użyciu aparatu GC-MS w celu sprawdzenia efektywności usuwania n-alkanów. Przykładowe chromatogramy przedstawiające efekt usunięcia n-alkanów pokazano na rysunkach 4–6. Zabieg ten w znacznym stopniu zmienia wygląd chromatogramów – brak tła „n-alkanowego” powoduje, iż biomarkery z grupy hopenów ( $m/z$  191) oraz z grupy steranów ( $m/z$  217) są bardzo dobrze wyeksponowane (co uwidacznia porównanie rysunków 2 i 4 oraz 3 i 5). Należy



Rys. 1. Frakcja nasycona ropy naftowej z odwiertu *C*

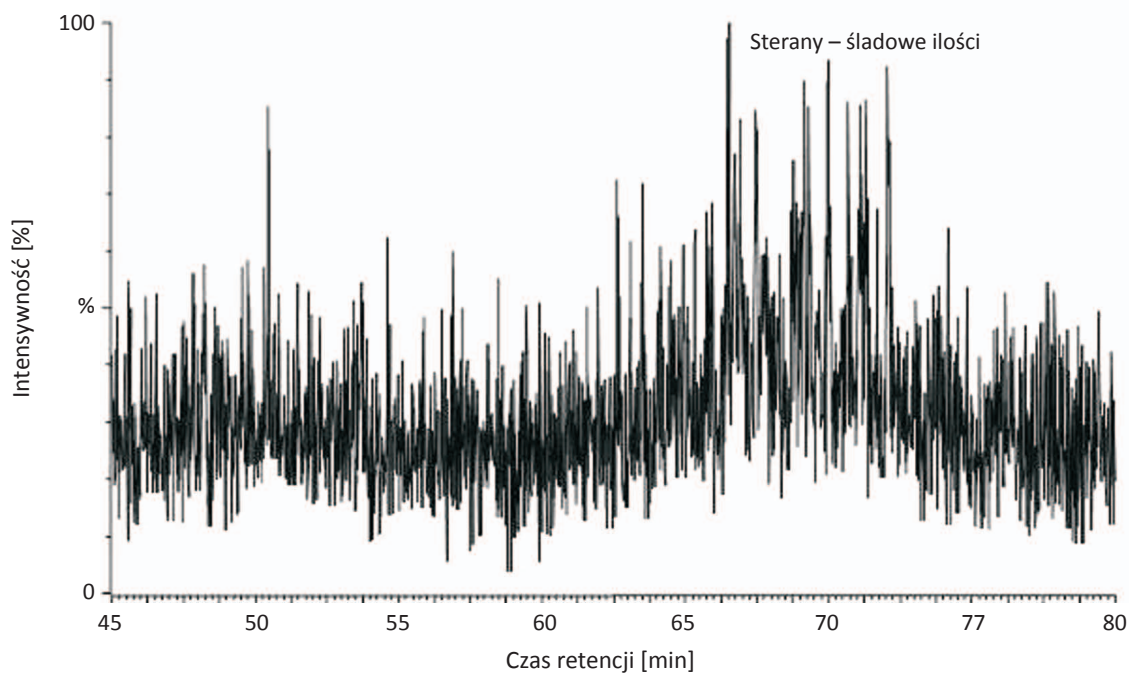


Rys. 2. Biomarkery z grupy hopenów  $m/z$  191 (niewielkie ilości) znajdujące się we frakcji nasyconej ropy naftowej z odwiertu *C*

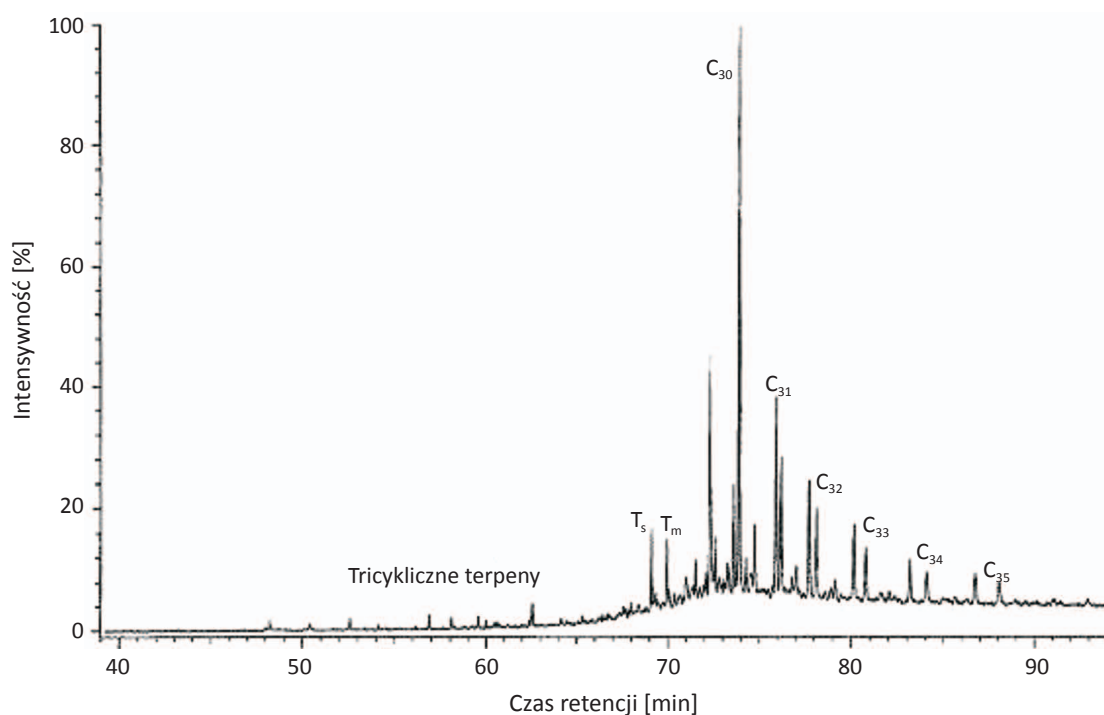
stwierdzić, że próbki o wysokim stopniu dojrzałości termicznej wymagają dodatkowej preparatyki według proponowanej procedury, która pozwala na zwiększenie jakości analiz.

Usunięcie n-alkanów pozwala również potwierdzić brak biomarkerów z grupy hopenów i steranów w wysoko przeobrażonych ropach naftowych i bituminach. Chromatogramy przedstawione na rysunku 6 ukazują próbkę frakcji

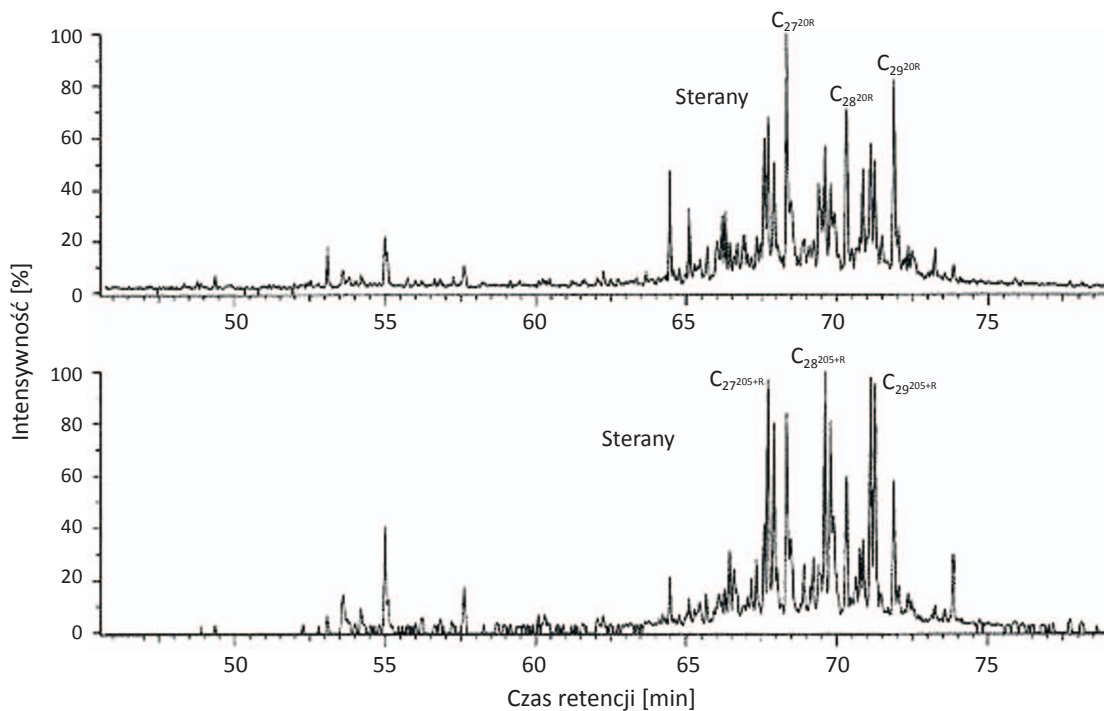
nasyconej takiej ropy naftowej poddanej rozdzielni na sitach molekularnych. Chromatogram B przedstawia frakcję nasyconą po usunięciu n-alkanów, gdzie większość związków to węglowodory rozgałęzione. Na chromatogramie B nie stwierdza się obecności biomarkerów z grupy hopenów i steranów, które – gdy są obecne – występują pośród grupy węglodorów rozgałęzionych.



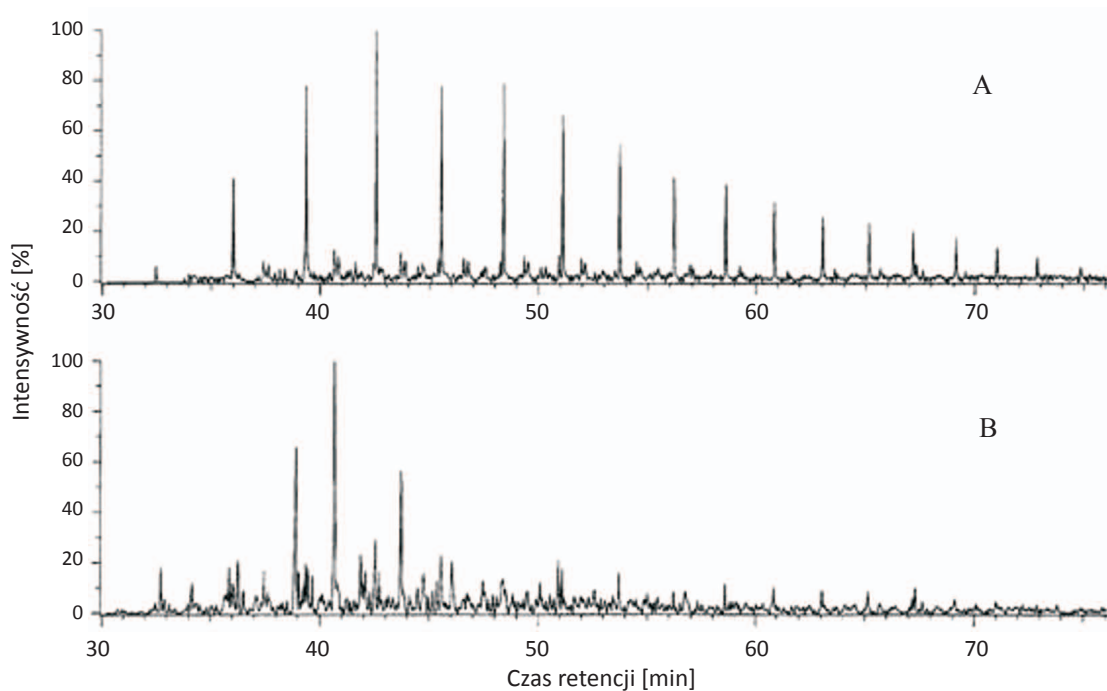
Rys. 3. Biomarkery z grupy steranów  $m/z$  217 (śladowe ilości) znajdujące się we frakcji nasyconej ropy naftowej z odwiertu C



Rys. 4. Biomarkery z grupy hopenów  $m/z$  191 znajdujące się we frakcji nasyconej (otrzymanej proponowaną metodą) ropy naftowej z odwiertu C



Rys. 5. Biomarkery z grupy steranów m/z 217, m/z 218 znajdujące się we frakcji nasyconej (otrzymanej proponowaną metodą) ropy naftowej z odwiertu C



Rys. 6. Węglowodory nasycone: A – n-alkany (głównie) oddzielone od pozostałych węglowodorów nasyconych, B – izoalkany, izoprenoidy, cykloalkany

### Wnioski

Opracowano metodę przygotowania próbek rop naftowych i ekstraktów bituminów o niskiej zawartości biomarkerów do analizy GC-MS. Zastosowana metodyka separacji n-alkanów od pozostałej części frakcji nasyconej pozwala na określenie (analiza GC-MS) składu biomarkerów z grupy

steranów i hopenów oraz obliczenie wskaźników genetycznych w badanych próbkach rop naftowych i bituminów o wysokim stopniu dojrzałości termicznej. Metoda ta pozwala również potwierdzać nieobecność biomarkerów w wysoko przeobrażonych ropach naftowych i bituminach.

Prosimy cytować jako: Nafta-Gaz 2014, nr 12, s. 868–873

Artykuł nadesłano do Redakcji 18.09.2014 r. Zatwierdzono do druku 6.11.2014 r.

Artykuł powstał na podstawie pracy statutowej pt. *Opracowanie procedury przygotowania próbek o niskiej zawartości biomarkerów do analizy techniką GC-MS* – praca INiG na zlecenie MNiSW; nr zlecenia: 1/SG/07, nr archiwalny: SK-4100-2/07.

## Literatura

- [1] Bielen W.: *Zastosowanie wskaźników molekularnych do oceny procesów migracji węglowodorów na przykładzie wybranych rop naftowych z dolomitu głównego*. Nafta-Gaz 2012, nr 9, s. 585–589.
- [2] Flanigen E. M., Bennett J. M., Grose R. W., Cohen J. P., Patton R. L., Kirchner R. M., Smith J. V.: *Silicalite, a new hydrophobic crystalline silica molecular sieve*. Nature 1978, vol. 271, pp. 512–516.
- [3] Hird S. J., Evans R., Rowland S. J.: *Isolation and characterization of sedimentary and synthetic highly branched C<sub>20</sub> and C<sub>25</sub> monoenes*. Marine Chemistry 1992, vol. 37, pp. 117–129.
- [4] Hoefs M. J. L., Damste J. S., De Leeuw J. W.: *A novel C<sub>35</sub> highly branched isoprenoid polyene in Recent Indian Ocean sediments*. Organic Geochemistry 1995, vol. 23, pp. 263–267.
- [5] Hoering T. C., Freeman D. H.: *Shape-selective sorption of monomethylalkanes by silicalite, a zeolitic form of silica*. Journal of Chromatography 1984, vol. 316, pp. 333–341.
- [6] Matyasik I., Bielen W.: *Oznaczanie jakościowe i ilościowe (za pomocą pułapki jonowej Polaris Q) związków chemicznych: oleananu i bisnorhopanu, stosowanych w interpretacji geochemicznej*. Nafta-Gaz 2013, nr 5, s. 361–367.
- [7] West N., Alexander R., Kagi R. I.: *The use of silicalite for rapid isolation of branched and cyclic alkane fractions for petroleum*. Organic Geochemistry 1990, vol. 15, pp. 499–501.



Mgr inż. Wojciech BIELEŃ  
Asystent w Zakładzie Geologii i Geochemii.  
Instytut Nafty i Gazu – Państwowy Instytut Badawczy  
ul. Lubicz 25A  
31-503 Kraków  
E-mail: wojciech.bielen@inig.pl



Prof. nzw. dr hab. inż. Irena MATYASIK  
Adiunkt, kierownik Laboratorium Nafty i Gazu  
w Zakładzie Geologii i Geochemii.  
Instytut Nafty i Gazu – Państwowy Instytut Badawczy  
ul. Lubicz 25A  
31-503 Kraków  
E-mail: irena.matyasik@inig.pl

## OFERTA

### ZAKŁAD GEOLOGII I GEOCHEMII

Zakres działania:

- analiza systemów naftowych (badania skał macierzystych, modelowanie generacji, ekspulsji i migracji węglowodorów, analiza dróg migracji, analiza parametrów zbiornikowych pułapek złożowych);
- badania prospekcyjne (trendy przestrzennego rozwoju parametrów zbiornikowych i filtracyjnych, analiza macierzystości, ranking stref zbiornikowych);
- konstrukcja statycznych modeli geologiczno-złożowych 3D;
- analiza procesów diagenetycznych i ich wpływu na parametry zbiornikowe skał;
- genetyczna korelacja płynów złożowych ze skałami macierzystymi;
- obliczanie zasobów złóż węglowodorów z analizą niepewności;
- modele przepływu płynów złożowych w skałach zbiornikowych;
- badania ekshalacji gazu;
- badania złóż typu tight/shale gas;
- specjalistyczne analizy: przestrzeni porowej, petrograficzne, geochemiczne RSO, płynów złożowych, analizy biomarkerów, analizy chromatograficzne, analiza GC/MS, GC/MS/MS, analiza składu izotopowego GC-IRMS;
- interpretacja danych geofizyki wiertniczej.



**Kierownik:** dr inż. Grzegorz Leśniak  
**Adres:** ul. Lubicz 25 A, 31-503 Kraków  
**Telefon:** 12 617-76-81  
**Faks:** 12 430-38-85  
**E-mail:** grzegorz.lesniak@inig.pl

