



Referat został wygłoszony w dniu 11 maja 2022r. na posiedzeniu  
Komisji Nauk Geologicznych PAN Oddział w Krakowie

**mgr inż. Krzysztof J. Jurek**

Katedra Analiz Środowiskowych, Kartografii i Geologii Gospodarczej,  
Wydział Geologii, Geofizyki i Ochrony Środowiska,  
Akademia Górniczo-Hutnicza im. Stanisława Staszica w Krakowie,  
e-mail: kjurek@agh.edu.pl  
ORCID: 0000-0002-3206-678X

### **Zastosowanie biomarkerów i organicznych związków azotu do rekonstrukcji paleośrodowiska warstw menilitowych polskich Karpat zewnętrznych**

*Application of biomarkers and nitrogen-containing organic compounds for the  
reconstruction of paleoenvironments of the Menilite Beds in the Polish Outer Carpathians*

Biomarkerami, w sensie geochemicznym, nazywane są różnorodne organiczne związki chemiczne, które powstały w wyniku degradacji materii organicznej zgromadzonej w skałach osadowych. Biomarkery, czasem nazywane skamieniałościami molekularnymi, charakteryzują się tym, że ich szkielet węglowy jest tożsamy lub jednoznacznie powiązany ze związkami organicznymi obecnymi w pierwotnej materii organicznej (tzw. prekursorami biologicznymi) (Peters *et al.*, 2005). W ramach analizy biomarkerowej, często używane są także związki, których prekursor biologiczny nie jest znany lub jego pochodzenie nie jest jednoznacznie udowodnione, jednak została wykazana ich użyteczność w interpretacji geochemicznej. Takie związki nazywane są wskaźnikami nie-biomarkerowymi (Peters *et al.*, 2005). Biomarkery są przydatnymi narzędziami do badań paleośrodowiskowych dostarczającymi informacji na temat pochodzenia materii organicznej, warunków jakie panowały w basenie sedymentacyjnym oraz podczas diagenety, a w przypadku badań węglowodorów migracyjnych, dodatkowo informują o: litologii skały macierzystej, stopniu przeobrażenia termicznego oraz wtórnych procesach (Peters *et al.*, 2005).

Organiczne związki azotu są uważane za główne związki heterocykliczne występujące w skałach osadowych (Speight, 2005). Związkami heterocyklicznymi określa się związki organiczne, w których w pierścieniu węglowym przynajmniej jeden atom węgla jest zastąpiony przez atom tlenu (np. dibenzofuran), siarki (np. dibenzotiofen) lub azotu (np. indol, karbazol) (Denisko i Katritzky, 2019). Azot występuje nie tylko w związkach cyklicznych; obecny jest także w innych związkach jak

aminokwasy, białka i amidy (Britannica, 2020), jednakże są one nietrwałe i w skałach osadowych występują w śladowych ilościach.

Wykorzystując metodę chromatografii gazowej połączonej ze spektrometrią mas (GC-MS) wykonano analizę pięciu próbek bituminów wyekstrahowanych z bogatych w materię organiczną łupków ilastych pobranych z powierzchniowych odsłoneń warstw menilitowych w Hyżnem (HYZ-2), Manastercu (MAN-1), Rogach (ROG-5d), Tylawie (TYL-4) oraz Komańczy (KOM-5). Łupki menilitowe są zróżnicowane pod względem zawartości i pochodzenia materii organicznej. Zidentyfikowano w nich dotychczas kerogen typu II, IIS i III oraz ich mieszaniny w różnych proporcjach (Curtis *et al.*, 2004; Lewan *et al.*, 2006). Na podstawie wyników analizy Rock-Eval stwierdzono, że próbka MAN-1 zawiera głównie jeziorny kerogen typu I, próbki KOM-5, ROG-5d i TYL-4 zawierają morski kerogen typu II, a w próbce HYZ-2 dominuje lądowy kerogen typu III.

Materia organiczna obecna we wszystkich próbkach jest niskoprzeobrażona. Najniższą dojrzałością charakteryzuje się próbka HYZ-2, a najwyższą, na poziomie pogranicza procesów mikrobialnych i wczesnego okna ropnego - próbki KOM-5 i TYL-4.

Skład biomarkerów z grupy steraanów w badanych próbkach sugeruje istotny udział bakteryjnego planktonu w materii organicznej oraz jej depozycji w morskiej zatoce lub estuarium (Huang i Meinschein, 1979). W próbkach MAN-1 i TYL-4 nie stwierdzono istotnych oznak dostaw materiału lądowego, natomiast w próbkach MAN-1 i ROG-5d stwierdzono wysokie wartości stosunku homohopanu  $C_{35}$  do  $C_{34}$ , wskazujące na warunki silnie anoksydacyjne panujące w basenie sedymentacyjnym (Peters i Moldowan, 1991). We wszystkich próbkach stwierdzono obecność steranu  $C_{30}$  sugerującego morskie środowisko depozycji (Moldowan *et al.*, 1985). Najwyższe zawartości steranu  $C_{30}$ , występujące w próbkach MAN-1 i KOM-5 korelują z najwyższymi stężeniami etylowego maleimidu - związku powstającego z chlorofilu zawartego w morskim fitoplanktonie (Grice *et al.*, 1996, 1997). Podwyższone zawartości steranu  $C_{30}$  i etylowego maleimidu w próbkach KOM-5 i MAN-1 wskazują na znaczący udział zielonego fitoplanktonu.

W przypadku próbki MAN-1, wysoki udział fitoplanktonu przy braku oznak obecności materiału lądowego (brak oleananu, fenoli pochodzenia roślinnego), pozwala zaklasyfikować materię tam zawartą jako I typ kerogenu, co potwierdza wynik uzyskany z analizy Rock-Eval. W próbce TYL-4 stwierdzono najniższą zawartość zarówno wspomnianych wcześniej maleimidów (ilości śladowe), jak i steranu  $C_{30}$ . Wyniki te sugerują niewielki udział zielonego fitoplanktonu. Dodatkowo, podobnie jak w próbce MAN-1 nie stwierdzono oznak obecności materii lądowej, co pozwala zaklasyfikować materiał organiczny, obecny w próbce TYL-4 jako modelowy przykład kerogenu typu II.

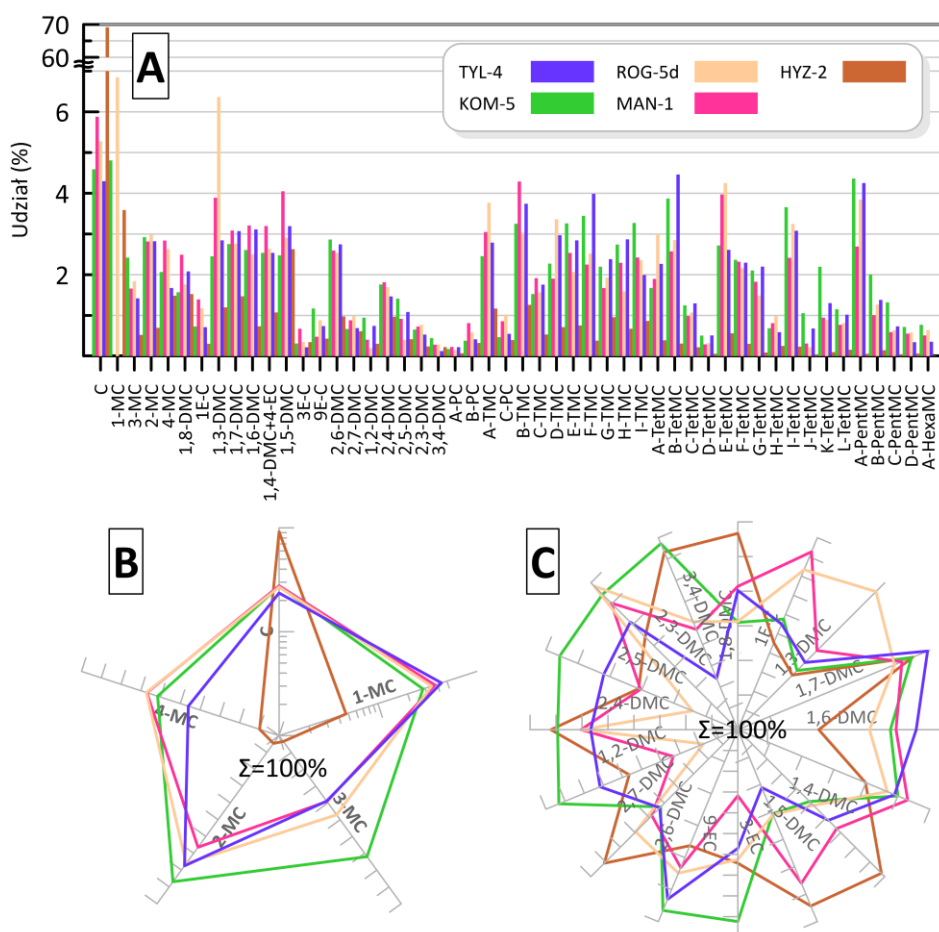
W próbkach ROG-5d i KOM-5 stwierdzono podwyższoną zawartość steranu C<sub>28</sub> korelującą z podwyższonymi zawartościami C<sub>25</sub> HBI (2,6,10,14-tetrametylo-7-(3-metylopentyl)-pentadekanu) oraz w przypadku ROG-5d, także z podwyższoną zawartością  $\alpha$ -kuparenolu, sugerując większy, w porównaniu do pozostałych próbek, udział w ekosystemie organizmów z grupy okrzemek (podwyższone C<sub>25</sub> HBI, (Volkman *et al.*, 1994)) oraz dostawę materiału lądowego z górskich dolin porośniętych mszakami należącymi do klasy wątrobowców (podwyższona zawartość  $\alpha$ -kuparenolu; (Asakawa *et al.*, 1996). Ponadto obecność  $\alpha$ -kuparenolu wraz z niską zawartością oleananu sugeruje, że obszar alimentacyjny zbiornika reprezentowanego przez próbkę ROG-5d prawdopodobnie był górzysty, ubogi w roślinność okrytozalążkową (Murray *et al.*, 1997). W przeciwieństwie do niego, obszar reprezentowany przez próbkę KOM-5, o podwyższonej zawartości oleananu, był znacznie bogatszy w roślinność okrytozalążkową.

Próbka HYZ-2 ma podwyższoną wartość wskaźnika oleananowego, a także wysoką wartość wskaźnika trimetylonaftalenowego (Strachan *et al.*, 1986), które wskazują na duży udział roślinności lądowej. Warunki, w których była deponowana wyraźnie różniły się od pozostałych. Niska wartość wskaźnika opartego o metylo-trimetylo-tridecylo-chromany wraz z niskim stosunkiem pristanu do fitanu wskazuje na podwyższone zasolenie zbiornika (Wang *et al.*, 2011) oraz silnie anoksydacyjne warunki (Didyk *et al.*, 1978), w porównaniu do pozostałych próbek deponowanych w warunkach zbiornika morskiego o normalnym lub niższym od normalnego zasoleniu. Jednocześnie bardzo wysoka wartość stosunku C<sub>28</sub> 17 $\alpha$ 18 $\alpha$ 21 $\beta$ (H)-bisnorhopanu do C<sub>30</sub> 17 $\alpha$ (H)-hopanu, sugeruje środowisko bardzo ubogie w tlen i silnie wzbogacone w siarkowodór, zamieszkiwane przez bakterie utleniające siarkowodór do siarki pierwiastkowej (Williams, 1984). W analogicznych warunkach tworzyły się skały macierzyste formacji Monterey zawierające, wysokosiarkowy kerogen typu IIS (Baskin i Peters, 1992). Biorąc pod uwagę powyższe obserwacje, należy stwierdzić że próbka HYZ-2 została pobrana ze skały deponowanej w warunkach mezosalinarnych i zawiera mieszaninę kerogenów typu III i IIS.

Skład maleimidów może dostarczyć dodatkowych informacji dotyczących środowiska depozycji materii organicznej. Zwiększone stężenie *i*-butylowego maleimidu może świadczyć o obecności beztlenowych bakterii siarkowych związanych z występowaniem w basenie anoksji w strefie fotycznej (Grice *et al.*, 1996, 1997). W przypadku próbki TYL-4 wskaźnik maleimidowy, przyjmuje wartość porównywalną z oznaczeniem wykonanym dla próbki ROG-5d. Jak wcześniej wspomniano, próbka ROG-5d związana jest ze środowiskiem silnie anoksydacyjnym. W przypadku próbki TYL-4, niska wartość stosunku homohopanu C<sub>35</sub> do C<sub>34</sub> czy brak C<sub>28</sub> 17 $\alpha$ 18 $\alpha$ 21 $\beta$ (H)-bisnorhopanu sugerują warunki dysoksydacyjne (Williams, 1984; Peters i Moldowan, 1991). To zawyżenie wskaźnika maleimidowego, może być związane z niewielką ilością materii fitoplanktonicznej w osadzie, którą

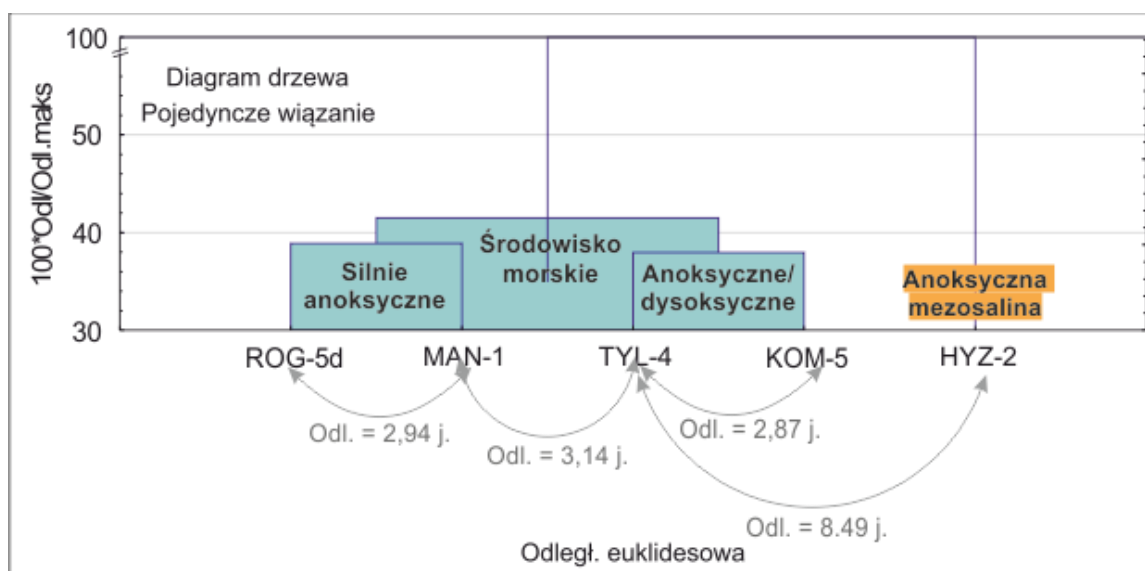
potwierdza niskie stężenie steranu C<sub>30</sub>. Niewielka ilość zielonej materii fitoplanktonicznej generuje niewielką ilość etylowego maleimidu. Dlatego, pomimo, że bezwzględne stężenie *i*-butylowego maleimidu w próbce TYL-4 jest kilkukrotnie niższe niż w ROG-5 to wartość wskaźnika maleimidowego w obu próbkach jest porównywalna.

Innymi, często występującymi w bituminach związkami azotu są karbazole (Speight, 2005). W analizowanych próbkach zauważono pozytywną korelację pomiędzy wzrostem dojrzałości a stężeniem karbazoli w bituminach, co wcześniej opisywali Yan *et al.* (2020). Biorąc pod uwagę ich dystrybucję (Fig. 1A) widoczne jest zróżnicowanie udziałów poszczególnych pochodnych karbazolu. Na podstawie dystrybucji względnych udziałów karbazolu i metylokarbazoli (Fig. 1B) można odróżnić próbkę deponowaną w warunkach mezosalinarnych (HYZ-2) od pozostałych deponowanych w warunkach morskich. Porównując natomiast dystrybucję dimetylokarbazoli (Fig. 1C) widoczne jest podobieństwo między próbkami deponowanymi w warunkach silnie anoksycznych (MAN-1 i ROG-5d) oraz w warunkach anoksycznych lub dysoksycznych (TYL-4 i KOM-5).



**Fig. 1** (A) Dystrybucja karbazolu i jego alkilowych pochodnych w badanych próbkach; (B) Wykres gwiazdasty względnej zawartości karbazoli i metylokarbazoli; (C) Wykres gwiazdasty względnej zawartości etylokarbazoli i dimetylokarbazoli. Etykiety wartości na osiach wykresów B i C usunięte dla lepszej czytelności diagramów.

Wzajemne podobieństwo dystrybucji karbazoli przeanalizowano wykorzystując także analizę skupień opartą o odległości euklidesowe i algorytm aglomeracyjny najbliższego sąsiedztwa. Analiza skupień jest statystyczną metodą analizy wielowymiarowych danych prowadzącą do pogrupowania obiektów pod względem podobieństwa cech (Tryon, 1939). W analizie skupień każdy obiekt, w przypadku analiz geochemicznych (próbki geologiczne), jest opisany przy pomocy wektora cech (np. wartości udziału poszczególnych związków chemicznych w próbce), który stanowi współrzędne danej próbki w wielowymiarowej przestrzeni zmiennych (Kettenring, 2006). Następnie, w metodzie odległości euklidesowych, wyliczana jest geometryczna odległość pomiędzy poszczególnymi obiektami w przestrzeni zmiennych, a później obiekty są grupowane w zbiory o najmniejszych wzajemnych odległościach.



**Fig. 2** Wynik analizy skupień (dendrogram) wykonanej na podstawie dystrybucji karbazolu i jego alkilowych pochodnych, wykorzystując odległości euklidesowe i metodę najbliższego sąsiedztwa (metoda pojedynczego wiązania).

Jako dane wejściowe do analizy skupień użyto zestandaryzowane wartości udziałów procentowych poszczególnych alkilowych pochodnych karbazolu i samego karbazolu w ich sumie. Wynik analizy skupień wykonanej dla analizowanych próbek, przedstawiono na dendrogramie (Fig. 2). Można zauważyć, że bazując wyłącznie na dystrybucji związków z grupy karbazolu próbki zostały pogrupowane w zbiory, które można zaklasyfikować w pierwszej kolejności do zbioru próbek morskich oraz próbkę deponowaną w warunkach mezosalinarnych, natomiast próbki morskie w podzbiory różniące się warunkami oksydacyjno-redukcyjnymi w basenie sedymentacyjnym, w którym były deponowane. Wyniki tych badań pokazują, że dystrybucja karbazolu i jego alkilowych pochodnych ma potencjał jako narzędzie korelacyjne w badaniach paleośrodowiskowych.

## Literatura:

- Asakawa, Y., Toyota, M., Nakaishi, E., and Tada, Y., 1996, Distribution of terpenoids and aromatic compounds in New Zealand liverworts: *Journal of the Hattori Botanical Laboratory*, v. 80, p. 271–295.
- Baskin, D.K., and Peters, K.E., 1992, Early Generation Characteristics of a Sulfur-Rich Monterey Kerogen: *AAPG Bulletin*, v. 76, p. 1–13, doi:10.1306/BDFF874A-1718-11D7-8645000102C1865D.
- Britannica, 2020, Functional groups: *Encyclopedia Britannica*.
- Curtis, J.B., Kotarba, M.J., Lewan, M.D., and Więclaw, D., 2004, Oil/source rock correlations in the Polish Flysch Carpathians and Mesozoic basement and organic facies of the Oligocene Menilite Shales: Insights from hydrous pyrolysis experiments: *Organic Geochemistry*, v. 35, p. 1573–1596, doi:10.1016/j.orggeochem.2004.06.018.
- Denisko, O.V., and Katritzky, A.R., 2019, Heterocyclic compound: *Encyclopedia Britannica*, <https://www.britannica.com/science/heterocyclic-compound> (accessed September 2021).
- Didyk, B.M., Simoneit, B.R.T., Brassell, S.C., and Eglinton, G., 1978, Organic geochemical indicators of palaeoenvironmental conditions of sedimentation: *Nature*, v. 272, p. 216–222, doi:10.1038/272216a0.
- Grice, K., Gibbison, R., Atkinson, J.E., Schwark, L., Eckardt, C.B., and Maxwell, J.R., 1996, Maleimides (1H-pyrrole-2,5-diones) as molecular indicators of anoxygenic photosynthesis in ancient water columns: *Geochimica et Cosmochimica Acta*, v. 60, p. 3913–3924, doi:10.1016/0016-7037(96)00199-8.
- Grice, K., Schaeffer, P., Schwark, L., and Maxwell, J.R., 1997, Changes in palaeoenvironmental conditions during deposition of the Permian Kupferschiefer (Lower Rhine Basin, northwest Germany) inferred from molecular and isotopic compositions of biomarker components: *Organic Geochemistry*, v. 26, p. 677–690, doi:10.1016/S0146-6380(97)00036-3.
- Huang, W.-Y., and Meinschein, W.G., 1979, Sterols as ecological indicators: *Geochimica et Cosmochimica Acta*, v. 43, p. 739–745, doi:10.1016/0016-7037(79)90257-6.
- Kettenring, J.R., 2006, The Practice of Cluster Analysis: *Journal of Classification*, v. 23, p. 3–30, doi:10.1007/s00357-006-0002-6.
- Lewan, M.D., Kotarba, M.J., Curtis, J.B., Wieclaw, D., and Kosakowski, P., 2006, Oil-generation kinetics for organic facies with Type-II and -IIS kerogen in the Menilite Shales of the Polish Carpathians: *Geochimica et Cosmochimica Acta*, v. 70, p. 3351–3368, doi:10.1016/j.gca.2006.04.024.
- Moldowan, J.M., Seifert, W.K., and Gallegos, E.J., 1985, Relationship Between Petroleum Composition and Depositional Environment of Petroleum Source Rocks: *American Association of Petroleum Geologists Bulletin*, v. 69, p. 1255–1268, doi:10.1306/ad462bc8-16f7-11d7-8645000102c1865d.
- Murray, A.P., Sosrowidjojo, I.B., Alexander, R., Kagi, R.I., Norgate, C.M., and Summons, R.E., 1997, Oleananes in oils and sediments: Evidence of marine influence during early diagenesis?

- Geochimica et Cosmochimica Acta, v. 61, p. 1261–1276, doi:10.1016/S0016-7037(96)00408-5.
- Peters, K.E., and Moldowan, J.M., 1991, Effects of source, thermal maturity, and biodegradation on the distribution and isomerization of homohopanes in petroleum: *Organic Geochemistry*, v. 17, p. 47–61, doi:10.1016/0146-6380(91)90039-M.
- Peters, K.E., Walters, C.C., and Moldowan, 2005, *The Biomarkers Guide*: Cambridge, Cambridge University Press, v. 1.
- Speight, J.G., 2005, *Handbook of Coal Analysis*: Hoboken, New Jersey, John Wiley & Sons, Inc, v. 166, 2–5 p.
- Strachan, M.G., Alexander, R., and Kagi, R.I., 1986, Trimethylnaphthalenes as depositional environment indicators, *W: ABSTRACTS OF PAPERS OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY*, v. 192, p. 49- GEOC.
- Tryon, R.C., 1939, *Cluster analysis.*: Edwards Brothers.
- Volkman, J.K., Barrett, S.M., and Dunstan, G.A., 1994, C25 and C30 highly branched isoprenoid alkenes in laboratory cultures of two marine diatoms: *Organic Geochemistry*, v. 21, p. 407–414, doi:10.1016/0146-6380(94)90202-X.
- Wang, L., Song, Z., Yin, Q., and George, S.C., 2011, Paleosalinity significance of occurrence and distribution of methyltrimethyltridecyl chromans in the Upper Cretaceous Nenjiang Formation, Songliao Basin, China: *Organic Geochemistry*, v. 42, p. 1411–1419, doi:10.1016/j.orggeochem.2011.08.012.
- Williams, L.A., 1984, Subtidal Stromatolites in Monterey Formation and Other Organic-Rich Rocks as Suggested Source Contributors to Petroleum Formation: *AAPG Bulletin*, v. 68, doi:10.1306/AD4619F8-16F7-11D7-8645000102C1865D.
- Yan, G., Xu, Y., Liu, Y., He, W., Chang, X., and Tang, P., 2020, The evolution of acids and neutral nitrogen-containing compounds during pyrolysis experiments on immature mudstone: *Marine and Petroleum Geology*, v. 115, p. 104292, doi:10.1016/j.marpetgeo.2020.104292.