

# Mikrobieller Aktivität in Erdöllagerstätten mit stabilen Isotopen auf der Spur

Anwendung substanzspezifischer Isotopenverhältnisse für Kohlenstoff ( $\delta^{13}\text{C}$ ) in Erdölen

Andrea Vieth-Hillebrand

Deutsches GeoForschungsZentrum GFZ, Potsdam

*Petroleum hydrocarbons in reservoirs are subjected to different degrees of abiotic and biotic alteration processes, which often have strong economic consequences since they lead to a decrease in oil quality and reduce the total volume of petroleum in place. Moreover, producibility of the respective fluids strongly depends on physical properties and hence composition. To evaluate these microbial processes in more detail, different approaches can be followed. Here, the changes in stable carbon isotopic signatures of petroleum hydrocarbons are evaluated in detail as biodegradation processes are known to result in an enrichment of the heavier isotopes in the residual hydrocarbons. The change in the isotopic composition can be used to quantify biodegradation by applying the Rayleigh-equation. The Rayleigh-equation correlates the decrease in concentration and the enrichment in the isotopic composition by a fractionation factor ( $\alpha$ ). This factor depends on the degradation mechanism and the substrate molecule and can be derived from degradation experiments. Thus, the use of carbon isotope ratios has become a sensitive tool in identification and quantification of biodegradation processes in petroleum reservoirs. This quantification is demonstrated using a set of slightly to moderately biodegraded crude oils from the Gullfaks oil field which was analysed for  $\delta^{13}\text{C}$  of the light hydrocarbons.*



In vielen bekannten Erdölfeldern deuten die physikalischen Eigenschaften und die chemische Zusammensetzung des produzierten Erdöls auf mikrobielle Aktivität hin. Die molekulare Zusammensetzung mikrobiell beeinflussten Erdöls unterscheidet sich deutlich von jener, die durch abiotische Prozesse in der Erdöllagerstätte verursacht wurde. Durch biologischen Abbau reduziert sich im Erdöl der Anteil an gesättigten und aromatischen Kohlenwasserstoffen, wohingegen der Anteil an Säuren, Schwefel und Metallen steigt. Diese Änderungen in der Ölzusammensetzung wirken sich auf die physikalischen Eigenschaften (z. B. Dichte und Viskosität) und damit auch auf den Wert und die Qualität des Erdöls aus.

Für die Erdölindustrie wird es immer wichtiger, die chemischen, physikalischen und biologischen Prozesse, die die Entstehung, Migration, Lagerstättenbildung und den Abbau des Erdöls kontrollieren, sehr genau zu verstehen, um die Fündigkeit und damit die Wirtschaftlichkeit eines Explorationsvorhabens einschätzen zu können. Die Arbeiten am Deutschen GeoForschungsZentrum GFZ befassen sich hier mit der Erforschung und späteren Anwendung neuartiger experimenteller Methoden und Techniken zur Charakterisierung dieser relevanten Prozesse im Reservoir, die zur Vorhersage der Qualität des zu findenden Erdöls führen können. Mit der Nutzung der substanzspezifischen Kohlenstoffisotopensignaturen lassen sich Aussagen über die qualitative und quantitative Bedeutung von biologischen Veränderungen treffen.

### Mikrobieller Abbau unter anaeroben Bedingungen

In den letzten Jahrzehnten hat die Kenntnis der Mikrobiologie des tiefen Untergrunds sehr stark zugenommen. Mittlerweile ist allgemein anerkannt, dass der mikrobielle Abbau von Kohlenwasserstoffen in der Erdöllagerstätte unter anaeroben Bedingungen, also ohne Sauerstoff stattfindet und mit der Reduktion von Sulfat ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) oder der Entstehung von Methan ( $\text{CH}_4$ ) verbunden ist. Die Mikroorganismen leben überwiegend in der Übergangszone zwischen dem Erdöl und dem Lagerstättenwasser, da hier für sie die besten Bedingungen vorherrschen. Das Lagerstättenwasser bietet den Mikroorganismen die in ihm gelösten Nährstoffe und die Erdölbestandteile dienen als Kohlenstoff- und Energiequelle des mikrobiellen Stoffwechsels. Der biologische Abbau scheint überwiegend in Lagerstätten vorzukommen, die aktuell und

auch in ihrer geologischen Vergangenheit eine Temperatur von rund 80 °C nicht überschritten haben (Head et al., 2003). Aus einer Vielzahl von Studien wurden modellhafte Vorstellungen zur Reihenfolge abgeleitet, in der die Mikroorganismen in den Lagerstätten die vorhandenen Erdölbestandteile abbauen. So werden die kleineren kettenförmigen Moleküle der gesättigten Kohlenwasserstoffe bevorzugt vor den größeren kettenförmigen Molekülen und denen mit cyclischen Strukturen abgebaut. Und erst nach dem Abbau der gesättigten Kohlenwasserstoffe werden die aromatischen Kohlenwasserstoffe degradiert (Head et al., 2003; Abb. 1).

Für den tatsächlichen Nachweis, dass die Zusammensetzung des produzierten Erdöls durch mikrobielle Aktivität beeinflusst worden ist, werden verschiedene Parameter herangezogen, wie beispielsweise Änderungen im Konzentrationsverhältnis von verschiedenen Erdölkohlenwasserstoffen, die ähnliche Molekülgrößen aufweisen, aber sich in ihren Molekülstrukturen und damit in ihrer biologischen Abbaubarkeit unterscheiden (z. B. Pristan/*n*-Heptadekan; Phytan/*n*-Oktadekan; Methylcyclohexan/*n*-Heptan; *i*-Pentan/*n*-Pentan; Vieth und Wilkes, 2006). Neben den Konzentrationsänderungen sind auch die Änderungen im Isotopenverhältnis der Erdölbestandteile ein verlässlicher Parameter zur Beschreibung des biologischen Abbaus, da beim mikrobiellen Abbau von Kohlenwasserstoffen bevorzugt die  $^{12}\text{C}$ -Isotope genutzt werden und sich in den verbliebenen Kohlenwasserstoffen die  $^{13}\text{C}$ -Isotope anreichern (Abb. 2).

In mehreren Forschungsprojekten des GFZ werden substanzspezifische Isotopenverhältnisse genutzt, um die relevanten Prozesse in einer Erdöllagerstätte zu charakterisieren, die zu einer Änderung der Ölzusammensetzung und -qualität führen. Ein besonderer Schwerpunkt dieser Arbeiten liegt in der sowohl qualitativen als auch quantitativen Abschätzung, welche Bedeutung der mikrobielle Abbau von Kohlenwasserstoffen in den Lagerstätten auf das Erdöl hat, auch im Vergleich zu möglichen abiotischen Prozessen.

### Messung der Kohlenstoffisotopenverhältnisse

Die organischen Verbindungen im Erdöl bestehen überwiegend aus Kohlenstoff und Wasserstoff, welche in verschiedenen stabilen Isotopen in der Natur vertreten sind. Durchschnittlich sind 98,9 % des Kohlenstoffs das leichte  $^{12}\text{C}$ -Isotop und nur 1,1 % liegen als das schwere  $^{13}\text{C}$  Isotop vor. Im Wasserstoff liegt der Anteil des schweren Wasserstoffs  $^2\text{H}$  (auch Deuterium, D) bei nur 0,015 %. Die isotopische Zusammensetzung einer Substanz kann massenspektrometrisch bestimmt werden, für die substanzspezifische Bestimmung der Kohlenstoffisotopenverhältnisse in Erdölen wird ein GC-IRMS-System eingesetzt (siehe Toolbox

Links: Förderplattform Gullfaks Alpha im Gullfaks-Ölfeld, norwegische Nordsee (Foto: JanChr ([https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Gullfaks\\_Alpha.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Gullfaks_Alpha.jpg)), <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/2.0/legalcode>)

Left: Gullfaks oil platform Alpha in the norwegian North Sea



Kontakt: A. Vieth-Hillebrand  
(vieth@gfz-potsdam.de)

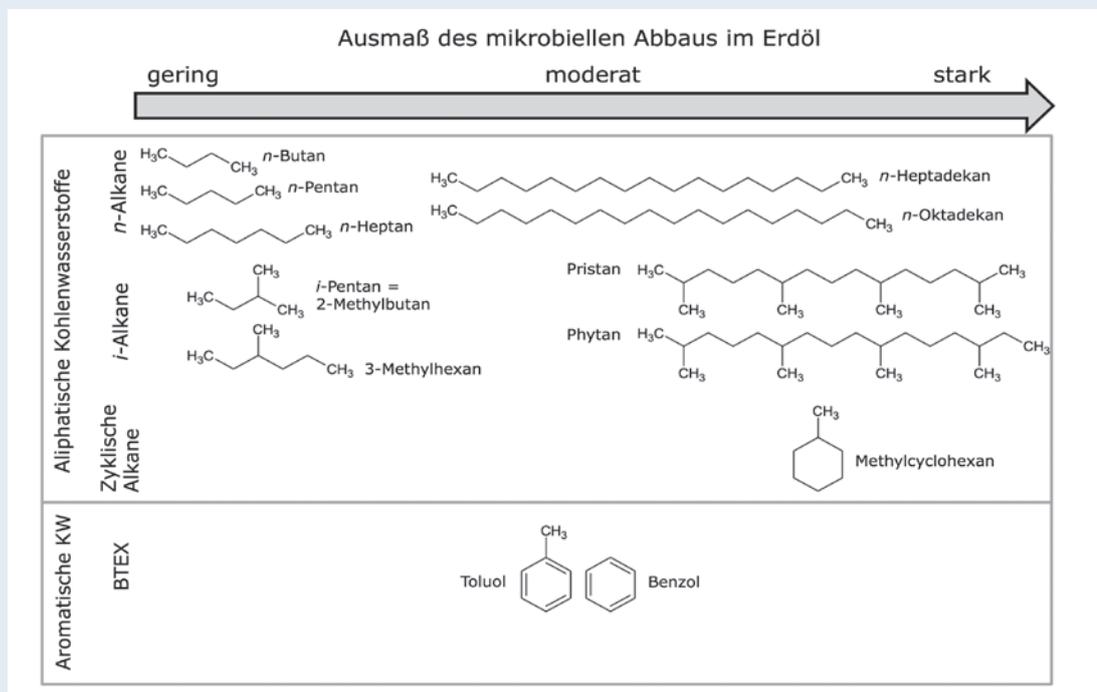


Abb. 1: Strukturformeln der hier beschriebenen Erdölkohlenwasserstoffe. Die Anordnung der Strukturformeln erfolgt mit abnehmender biologischer Abbaubarkeit (unter anaeroben Bedingungen) von links nach rechts.

Fig. 1: Molecular structures of selected petroleum hydrocarbons. Susceptibility to anaerobic microbial degradation decreases from left to right.

im Beitrag von Kai Mangelsdorf Seite 33). Dabei wird jedoch nicht die absolute Konzentration der verschiedenen Isotope in einer Probe analysiert, sondern die relative Konzentration. Das Isotopenverhältnis wird als Abweichung zum Isotopenverhältnis eines definierten internationalen Standards angegeben, für die Kohlenstoffisotopenmessungen gilt der Vienna-Pee-Dee-Belemnite-Standard (V-PDB).

### $\delta^{13}\text{C}$ -Werte in Erdöl

Die Isotopenverhältnisse im Erdöl sind vor allem abhängig von den Isotopenverhältnissen des organischen Materials im Erdölmuttergestein, aus dem das Erdöl generiert wurde. Daher werden für die Untersuchung, aus welchem Muttergestein das Erdöl entstanden ist, häufig die Isotopenverhältnisse von Erdöl und organischem Material im potenziellen Muttergestein verglichen. Im Muttergestein werden die Isotopenverhältnisse des Kohlenstoffs durch frühe Diagenese und thermische Reife nur geringfügig geändert. Auch die Migration des Erdöls bis in die Lagerstätte führt zu keiner signifikanten Änderung in den Isotopenverhältnissen. Von den Prozessen, die in der Lagerstätte relevant sind, können der mikrobielle Abbau von Erdölbestandteilen und auch die thermochemische Sulfatreduktion eine Isotopenfraktionierung verursachen. Weitere Reservoirprozesse zeigen nur einen geringen Isotopeneffekt. Typischerweise liegt der  $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von Erdöl zwischen -24 und -34 ‰. Einzelne Frak-

tionen und natürlich auch einzelne Verbindungen des Erdöls können davon abweichende Isotopenverhältnisse haben (Vieth und Wilkes, 2008).

### Das Gullfaks-Ölfeld

Das Gullfaks-Ölfeld gilt als das viertgrößte Feld im norwegischen Sektor der Nordsee. Ölproben aus diesem Feld bieten sich besonders dazu an, den mikrobiellen Abbau quantitativ anhand der substanzspezifischen Isotopie zu untersuchen. Denn frühere Untersuchungen konnten bereits nachweisen, dass die vertikale Homogenität innerhalb des Ölfeldes relativ hoch ist und das Erdöl aus dem gleichen Muttergestein stammt. Zudem weist es eine ähnliche thermische Reife auf. Somit kann davon ausgegangen werden, dass mögliche Unterschiede in den Kohlenstoffisotopenverhältnissen von einzelnen Kohlenwasserstoffen zwischen den verschiedenen Ölproben des Gullfaks-Feldes vor allem durch mikrobielle Aktivität bedingt sind.

Aus dem Gullfaks-Ölfeld wurden für die hier vorgestellten Untersuchungen sechs Ölproben auf ihre molekulare und isotopische Zusammensetzung untersucht. Innerhalb des Ölfeldes liegt ein klarer Konzentrationsgradient von West nach Ost für die leichtflüchtigen Kohlenwasserstoffe vor, was ein erster Indikator für mikrobielle Aktivität ist. Die Kohlenstoffisotopenverhältnisse der leichtflüchtigen Kohlenwasserstoffe zeigen die leichtesten

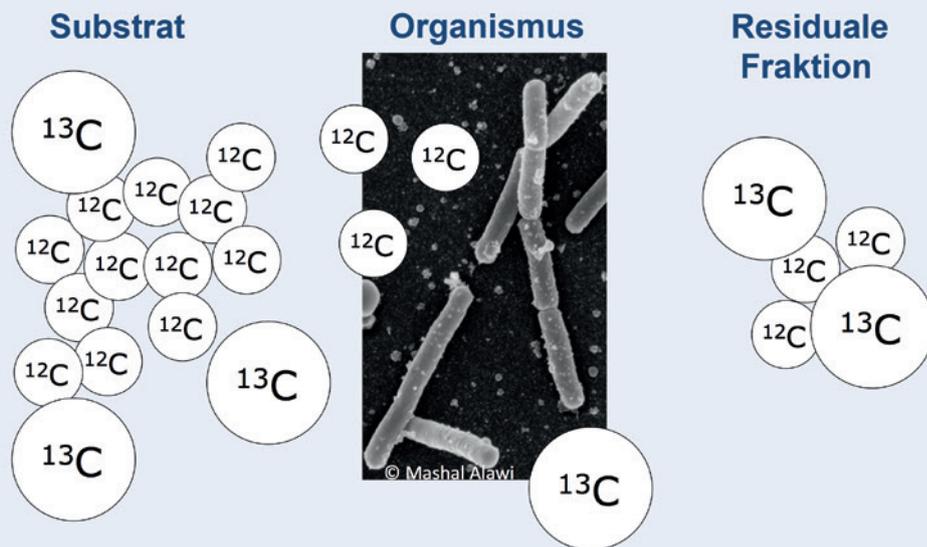


Abb. 2: Schematische Darstellung der mit dem biologischen Abbau von Kohlenwasserstoffen verbundenen Isotopenfraktionierung, die zu einer Anreicherung der schweren  $^{13}\text{C}$ -Isotope im noch nicht abgebauten, residualen Substrat führt.

Fig. 2: Schematic view on isotope fractionation caused by biodegradation of hydrocarbons. Due to isotope fractionation, the residual substrate is enriched in  $^{13}\text{C}$ .

Werte für das Öl aus der Bohrung 34/10-9, in diesem Öl wurden auch die höchsten Konzentrationen der Kohlenwasserstoffe gemessen. In den Proben aus den anderen fünf Bohrungen sind für die leichtflüchtigen Kohlenwasserstoffe die  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte jeweils schwerer und die Konzentrationen geringer (Abb. 3). Innerhalb dieser sechs Ölproben sind die Unterschiede in den  $\delta^{13}\text{C}$ -Werten größer für kleinere Moleküle mit linearer Struktur (z. B. *n*-Butan) und geringer für größere Moleküle mit verzweigter (z. B. 3-Methylhexan), cyclischer (z. B. Methylcyclohexan) oder aromatischer Struktur (z. B. Toluol). Diese Unterschiede zwischen den verschiedenen Kohlenwasserstoffen deuten grundsätzlich auf Unterschiede im Ausmaß des biologischen Abbaus hin.

Für Methylcyclohexan zeigen die verschiedenen Ölproben Konzentrationen zwischen 6,2 und 4,5 mg/g Öl. Diese Konzentrationsunterschiede spiegeln sich jedoch nicht in den  $\delta^{13}\text{C}$ -Werten wider, die Ölprobe mit der höchsten Konzentration zeigt nicht den leichtesten  $\delta^{13}\text{C}$ -Wert für das Methylcyclohexan. Somit gibt es kein klares Anzeichen, dass der Konzentrationsrückgang durch mikrobiellen Abbau verursacht wurde. Für *n*-Heptan gibt es einen deutlichen Konzentrationsrückgang, der mit einem Anstieg der  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des *n*-Heptans korreliert, was ein klares Indiz für den mikrobiellen Abbau dieser Verbindung darstellt. Methylcyclohexan scheint aufgrund der cyclischen Struktur für den biologischen Abbau schwerer verfügbar zu sein als das lineare *n*-Heptan.

Eine Besonderheit des Gullfaks-Ölfeldes ergibt sich für die leichtflüchtigen aromatischen Kohlenwasserstoffe Benzol und Toluol. In den Ölproben aus dem Gullfaks-Feld zeigt sich ein geringer Konzentrationsgradient für Toluol, die  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte zeigen nur eine geringe Variabilität zwischen -27,3 und -26,4 ‰. Es gibt also keinen verlässlichen Indikator für mikrobiellen Abbau des Toluols. Analog zum Toluol konnte für Benzol ein geringer Gradient in den Konzentrationen festgestellt werden, der jedoch nicht mit einer Änderung der  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte korreliert. Daher ist auch für Benzol davon auszugehen, dass der mikrobielle Abbau keine wesentliche Rolle spielt. Dieses Ergebnis ist insofern überraschend, als beide Substanzen unter anaeroben Bedingungen, wie sie in einem Ölfeld vorherrschen, als biologisch abbaubar eingestuft werden.

Neben dieser rein qualitativen Aussage liefern die gemessenen  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte zusammen mit den Konzentrationen für einzelne Kohlenwasserstoffe weitere wichtige Aussagen über den biologischen Abbau. Hierzu können die geringfügig unterschiedlichen chemisch-physikalischen Eigenschaften und Reaktionsraten der leichten und schweren Isotope genutzt werden. So kann beispielsweise der mikrobielle Abbau von Kohlenwasserstoffen mit der Spaltung einer chemischen Bindung im Molekül verbunden sein. Für die Spaltung einer chemischen Bindung zwischen einem schweren und einem leichten Isotop ist eine höhere Aktivierungsenergie notwendig, als für die Spaltung einer Bindung zwischen zwei leichten Isotopen. So kommt es im Verlauf einer

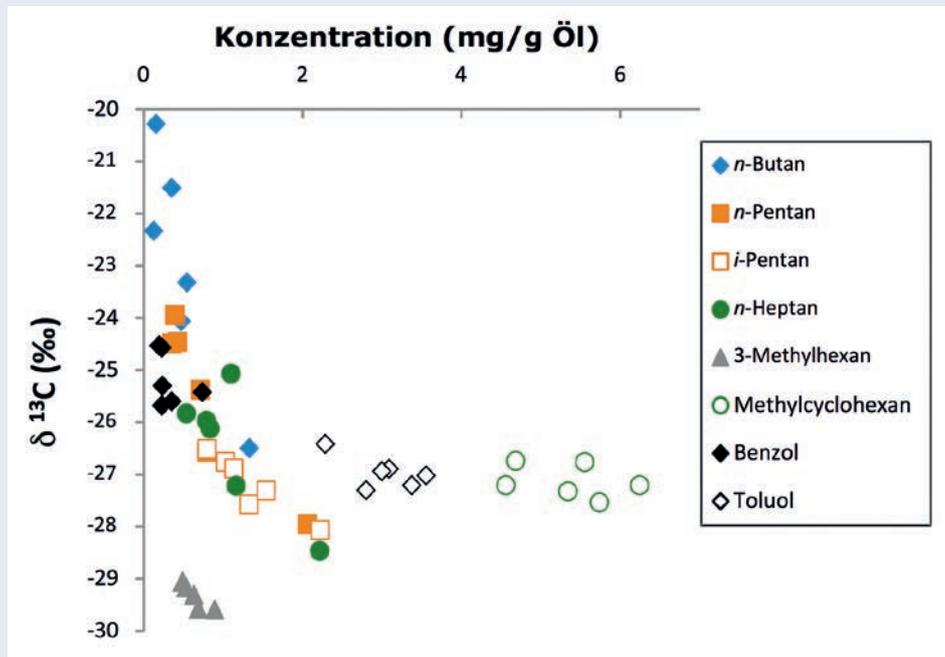


Abb. 3: Konzentrationen und  $\delta^{13}\text{C}$  für *n*-Butan, *i*-Pentan, *n*-Pentan, *n*-Heptan, 3-Methylhexan, Methylcyclohexan, Toluol und Benzol in Erdölproben aus sechs verschiedenen Bohrungen des Gullfaks-Feldes, Norwegen

Fig. 3: Concentrations and  $\delta^{13}\text{C}$  of *n*-butane, *i*-pentane, *n*-pentane, *n*-heptane, 3-methylhexane, methylcyclohexane, toluene and benzene in oil samples taken from six different wells of the Gullfaks field, offshore Norway

chemischen Reaktion zur Anreicherung der Moleküle mit einem schweren Isotop im Edukt, wohingegen es in der Produktphase zu einer Anreicherung von Molekülen mit leichten Isotopen kommt. Diese Änderung in der Verteilung der Isotope wird auch als Isotopenfraktionierung bezeichnet. Zur Beschreibung der kinetischen Isotopenfraktionierung wird häufig die Rayleigh-Gleichung (Rayleigh, 1896) herangezogen (Gleichung 1), die die Änderung der Konzentration der umgesetzten Substanz ( $C/C_0$ ) mit der gemessenen Änderung der Isotopenverhältnisse ( $R/R_0$ ) dieser Substanz über den dimensionslosen Fraktionierungsfaktor  $\alpha$  in Beziehung setzt.

$$\frac{R}{R_0} = \left( \frac{C}{C_0} \right)^{\left( \frac{1}{\alpha} - 1 \right)} \quad \text{Gleichung 1}$$

Aus zahlreichen Versuchen zum Abbau von Kohlenwasserstoffen ist bekannt, dass mikrobielle Umsetzungen zu einer Anreicherung der schweren Isotope in der nicht abgebauten, residualen Substratfraktion führen. Grundsätzlich gilt, dass die Isotopenanreicherung größer ist, je mehr Substrat bereits abgebaut wurde. Weiterhin ist das Ausmaß der Anreicherung im residualen Substrat, also der Isotopenfraktionierung, auch abhängig von der biochemischen Reaktion mit der die Mikroorganismen die jeweilige Kohlenwasserstoffverbindung abbauen. Und da dieser initiale Abbauweg im Allgemeinen nur an einem Kohlenstoffatom abläuft und nicht an jedem Kohlenstoffatom der jeweiligen Verbindung, ist der Fraktionierungsfaktor auch abhängig von der Anzahl von Kohlenstoffatomen im gesamten

Molekül („Verdünnungseffekt“). Wenn der erste Schritt im biochemischen Abbauweg bekannt ist, dann sind Rückschlüsse auf das Ausmaß der Isotopenfraktionierung möglich. Damit ergibt sich einerseits die Option, aus vorhandenen Fraktionierungsfaktoren auf bestimmte Reaktionsschritte zu schließen, und andererseits können für verschiedene Substrate, die mit der gleichen initialen Reaktion abgebaut werden, die Fraktionierungsfaktoren theoretisch hergeleitet werden. Wenn ein Fraktionierungsfaktor für den mikrobiellen Abbau einer bestimmten Verbindung vorhanden ist, dann kann aus der Änderung der Isotopenverhältnisse der Abbau quantifiziert werden, unabhängig von Konzentrationsangaben.

Beispielhaft kann für die Daten von *i*-Pentan und *n*-Pentan der biologische Abbau mit Hilfe der Rayleigh-Gleichung näher untersucht werden. Die Ölprobe mit den höchsten Konzentrationen und leichtesten  $\delta^{13}\text{C}$ -Werten dieser Substanzen (Probe 34/10-9) wird hier als Ausgangspunkt („Endmember“) des biologischen Abbaus betrachtet, da sie die geringste Beeinträchtigung durch mikrobiellen Abbau zeigt. Daher dienen die Konzentration und der  $\delta^{13}\text{C}$ -Wert als  $C_0$  bzw.  $R_0$ . Die anderen Proben des Gullfaks-Ölfeldes zeigen mit ihren geringeren Konzentrationen und den schwereren  $\delta^{13}\text{C}$ -Werten mehr Einfluss durch biologischen Abbau. In der grafischen Darstellung der Logarithmen der Gradienten der Isotopenverhältnisse ( $R/R_0$ ) über den Konzentrationsgradienten ( $C/C_0$ ) zeigen sich für beide Verbindungen sehr gute lineare Trends mit sehr hohem Bestimmtheitsmaß ( $R^2 = 0,93$  bzw.  $R^2 = 0,90$  für *n*-Pentan bzw. *i*-Pentan). Der aus der Steigung der Trendlinie berechnete Fraktionierungsfaktor für *n*-Pentan ist deutlich höher als der für *i*-Pentan (Abb. 4). Der mikrobielle Abbau von *n*-Pentan zeigt also einen stärkeren Isotopeneffekt

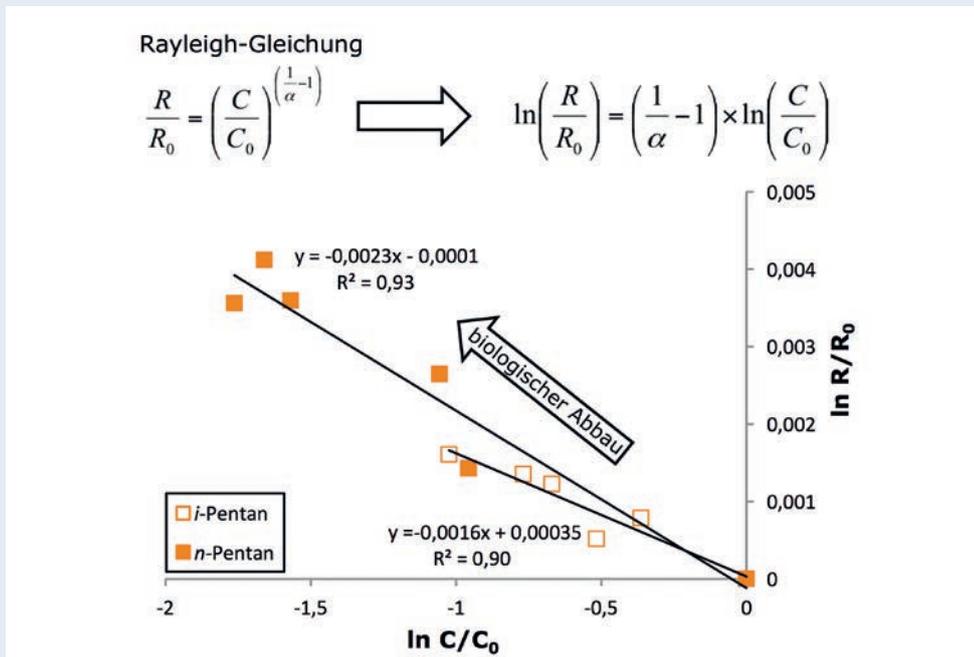


Abb. 4: Darstellung der Konzentrationen und  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte für *i*- und *n*-Pentan entsprechend der Rayleigh-Gleichung als  $\ln C/C_0$  und  $\ln R/R_0$

Fig. 4: Concentrations and  $\delta^{13}\text{C}$  values of *i*- and *n*-pentane were plotted following the Rayleigh equation as  $\ln C/C_0$  and  $\ln R/R_0$

in der residualen Substratfraktion als der Abbau von *i*-Pentan. Da beide Verbindungen aus der gleichen Anzahl von Kohlenstoffatomen bestehen und damit der „Verdünnungseffekt“ bei beiden Molekülen gleich sein sollte, deutet dieser Unterschied im Fraktionierungsfaktor auf Unterschiede im biochemischen Abbauweg hin.

Mit diesen Ergebnissen für eine einzelne Erdöllagerstätte stellt sich die Frage, inwieweit dieser methodische Ansatz und die Fraktionierungsfaktoren auch auf andere Erdöllagerstätten anwendbar sind. In einer weiteren Studie an einem Erdölfeld in Angola konnten beispielsweise für die organischen Verbindungen *n*-Pentan und *i*-Pentan sehr ähnliche Fraktionierungsfaktoren bestimmt werden (Wilkes *et al.*, 2008). Das legt den Schluss nahe, dass für einzelne organische Verbindungen der mikrobielle Abbau unabhängig von der Lokalität mit der gleichen Isotopenfraktionierung verbunden ist. Es impliziert weiterhin, dass mikrobielle Aktivitäten nicht von Lagerstätte zu Lagerstätte unterschiedlich ausgeprägt, sondern auch in einem größeren geologischen Kontext vergleichbar sein können. In weiteren Studien gilt es daher herauszufinden, wodurch die mikrobielle Aktivität und ihre qualitative und quantitative Auswirkung auf das Erdöl kontrolliert und gesteuert werden.

## Literatur

- Head, I. M., Jones, D. M., Larter, S. R. (2003): Biological activity in the deep subsurface and the origin of heavy oil. - *Nature*, 426, 6964, pp. 344-352, 10.1038/nature02134.
- Rayleigh, J. W. S. (1896): Theoretical considerations respecting the separation of gases by diffusion and similar processes. - *Philosophical Magazine Series 5*, 42, 259, pp. 493-498, 10.1080/14786449608620944.
- Vieth-Hillebrand [Vieth], A., Wilkes, H. (2006): Deciphering biodegradation effects on light hydrocarbons in crude oils using their stable carbon isotopic composition: a case study from the Gullfaks oil field, offshore Norway. - *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 70, 3, pp. 651-665, 10.1016/j.gca.2005.08.022.
- Vieth-Hillebrand [Vieth], A., Wilkes, H. (2010): Stable isotopes in understanding origin and degradation processes of petroleum. - In: Timmis, K. N. (Ed.), *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology*, Berlin [u.a.] : Springer, pp. 97-111, 10.1007/978-3-540-77587-4\_5.
- Wilkes, H., Vieth-Hillebrand [Vieth], A., Elias, R. (2008): Constraints on the quantitative assessment of in-reservoir biodegradation using compound-specific stable carbon isotopes. - *Organic Geochemistry*, 39, 8, pp. 1215-1221, 10.1016/j.orggeochem.2008.02.013.