

**Dorota CHRUSZCZYK, Marian KAMIŃSKI\***

Politechnika Gdańska, Wydział Chemiczny, Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej,  
ul. Gabriela Narutowicza 11/12 80-233 Gdańsk, Poland

\*Autor do korespondencji, e-mail: [markamin@pg.gda.pl](mailto:markamin@pg.gda.pl)

## Stopniowa chromatografia cienkowarstwowa w normalnych układach faz (NP-TLC), jako technika rozdzielania i oceny składu grupowego frakcji asfaltenowych z utleniania pozostałości próżniowej ropy naftowej

**Streszczenie:** W pracy opisano wyniki badań nad opracowaniem metodyki oceny składu grupowego i czystości frakcji asfaltenowych techniką chromatografii cienkowarstwowej w normalnych układach faz (NP-TLC). Skupiono się na doborze takich parametrów/warunków rozdzielania, jak stężenie i masa próbki, a także skład i kolejność eluentów stosowanych podczas rozwijania chromatogramów TLC. Zastosowana trój-stopniowa metodyka polega na nałożeniu 5  $\mu$ L frakcji asfaltenowej o stężeniu 2 mg/ml w dichlorometanie, w postaci plamki o jak najmniejszej średnicy na płytkę TLC z żelazem krzemionkowym typu F254. Eluenty zastosowane do rozwijania chromatogramów TLC to w kolejności: pierwszy etap - mieszanina dichlorometan:metanol (95:5 v/v) do ok. 30% wysokości płytki, następnie: toluen do 60% wysokości i w ostatnim etapie n-heksan nasycony wodą w 95%, na całą wysokość płytki. Procedura rozdzielania grupowego powinna być, dodatkowo, poprzedzona oceną czystości badanych frakcji asfaltenowych na drodze trzykrotnej elucji n-heksanem nasyconym w 95% wodą na wysokość 100% i wizualizacji pod lampą UV 365 nm - w celu wstępnego wyjaśnienia obecności frakcji węglowodorów aromatycznych, eluowanych n-heksanem (n-C6).

**Słowa kluczowe:** wielostopniowa cienkowarstwowa chromatografia cienkowarstwowa w normalnych układach faz (n-St-NP-TLC); asfalteny/frakcje asfaltenowe; skład grupowy - węglowodory nasycone/aromatyczne/polarne, asfalteny- SARA

## Step normal phase thin layer chromatography (NP-TLC) as a separation technique of asphaltenes fraction from the oxidation of petroleum vacuum residue for group type estimation

**Abstract:** This paper describes the results of research on the optimal conditions development for the group type analysis separation and the propose a methodology of evaluation group type composition and purity of the asphaltenes fraction analysis by thin layer normal phase analysis. They focused on the selection of such parameters / separation conditions as concentration and the mass of the sample, as well as the composition and sequence of eluents used during the development of TLC chromatograms. Used a three-stage methodology consist in applying on a TLC F<sub>254</sub> silica gel type plate 5  $\mu$ L of asphaltene fraction in 2 mg/mL in dichloromethane as a spot with as small as possible diameter. The eluents were used in sequence: first step - mixture of dichloromethane: methanol (95:5 v/v) to approx. 30% of plate height, then toluene to 60% height and n-hexane in 95% saturated with water in the whole plate height. The group type separation procedure should be additionally preceded by asphaltenes fractions purity evaluation by three times elution (to the 100% height) with n-hexane in 95% saturated with water and visualization in 365 nm UV lamp to clarify the presence of aromatic hydrocarbons fractions, eluted with n-hexane (n-C6).

**Key words:** multistage normal phase thin layer chromatography (n-St-NP-TLC); asphaltenes/asphaltenes fractions; hydrocarbon group type separation and analysis - saturated/aromatic/polar hydrocarbons, asphaltenes- SARA

### 1. Wstęp (Introduction)

Asfalteny to składniki asfaltów naturalnych lub ropy naftowych i węgla kamiennych, znajdujące się w pozostałościach oraz rafinatach po ekstrakcji pozostałości z destylacji próżniowej. Wyróżnić można ponadto frakcje asfaltenowe powstające w procesach oksydacji pozostałości próżniowej ropy naftowej. Przedmiotem niniejszej publikacji jest opracowanie metodyki charakterystyki składu grupowego asfaltenów i frakcji asfaltenowych. Może być ona również stosowana do rozdzielania grupowego nielotnych, albo bardzo nisko lotnych, naftowych lub powęglowych materiałów, zawierających w swym składzie tzw. asfalteny, stanowiące względnie polarne frakcje, nierozpuszczalne w n-alkanach. W pracy zbadano możliwość zastosowania planarnej cienkowarstwowej chromatografii cieczowej w normalnych układach faz (ang. *Normal Phase Thin Layer Chromatography*, NP-TLC) w do rozdzielania i oceny składu grupowego asfaltenów i frakcji asfaltenowych. Celem dalekosiężnym, jest zbadanie przydatności asfaltenów i frakcji asfaltenowych jako potencjalnych adsorbentów w operacjach adsorpcji – desorpcji oraz chromatografii w normalnych, lub odwróconych układach faz, w układach: ciecz – ciało stałe (L-S), lub gaz – ciało stałe (G-S).

## 1.1. Pojęcie składu grupowego produktów naftowych i metodyki oznaczania ich składu grupowego (*Idea of Group – Type Content of low volatile petroleum fractions and products-methods of determination its Group – Type Composition*)

Skład grupowy tzw. ciężkich (nisko lotnych, albo nielotnych) produktów naftowych ma ważne znaczenie dla oceny właściwości użytkowych, przydatności materiału do dalszej przeróbki, oraz ustalenia optymalnych warunków przebiegu procesów technologicznych rafinacji. Jest wykorzystywany podczas komponowania produktów z zastosowaniem mieszania poszczególnych składników oraz dla oceny właściwości użytkowych produktów. Dodatkowo, ułatwia ustalenie źródła ewentualnego skażenia środowiska niskolotnymi, lub nielotnymi produktami naftowymi [1].

Niskolotne frakcje i produkty naftowe lub powęglowe o początkowej temperaturze destylacji powyżej 350°C składają się z tak ogromnej liczby różnego rodzaju związków chemicznych, że dotychczas nie jest i być może nigdy nie będzie możliwe ich rozdzielanie na poszczególne składniki. Jediną możliwością jest zbadanie składu grupowego, do którego określania w tym przypadku ciągle jeszcze wykorzystuje się w normach metodycznych wielostopniową adsorpcję/desorpcję w kolumnie ze świeżo aktywowanym jednym lub kilkoma sorbentami. Elucja frakcji ma miejsce z wykorzystaniem kolejnych eluentów (desorbentów) o wzrastającej sile elucyjnej. Zawartość poszczególnych frakcji oznacza się grawimetrycznie po odparowaniu eluentu do tzw. stałej masy. Jako adsorbenty stosowane są najczęściej: aktywowany żel krzemionkowy [2-6], czasem tlenek glinu [7], albo odpowiednio preparowany naturalny adsorbent - „Attapulcus Clay” [8]. W przypadku zastosowania tych sorbentów wpływ na proces rozdzielania mają dwa zjawiska: rozpuszczalność składników frakcji w stosowanych eluentach oraz ich powinowactwo do fazy aktywnej wypełnienia. Gdy zastosujemy materiał taki jak kształtki szklane czy politetrafluoroetylen (PTFE), frakcjonowanie odbywa się tylko dzięki zróżnicowaniu rozpuszczalności w płynie rozpuszczającym poszczególne frakcje [9,10]. Badany materiał rozdziela się najczęściej według tzw., procedury SARA (*ang. Saturated, Aromatics, Resins, Asphaltenes*) na frakcję węglowodorów nasyconych (S), aromatycznych o zróżnicowanej liczbie pierścieni aromatycznych (A), węglowodorów polarnych, tzw., „żywic” (R-Resins) oraz asfaltenów (Asph). Te ostatnie, gdy badany materiał zawiera frakcję asfaltenową, wydziela się przed operacją adsorpcji/desorpcji na drodze precypitacji, najczęściej we wrzącym, albo ciepłym n-heptanie (n-C7) [7,11,12] lub n-pentanie (n-C5) [8,13].

Opisane metodyki badań z wykorzystaniem precypitacji oraz kolejno – adsorpcji/desorpcji i grawimetrii, są analitycznymi metodami bezwzględnie, realizowanymi w skali preparatywnej lub semi-preparatywnej. Pozwalają na uzyskanie określonej masy poszczególnych frakcji i ich wykorzystanie do dalszych badań właściwości fizykochemicznych i składu. Podstawową wadą opisywanych metodyk separacyjnych i analitycznych, jest ogromna praco- i czasochłonność, a także zużycie znacznych ilości składników eluentów, co jest niezgodne z założeniami tzw. zielonych technologii i metodyk analitycznych.

W literaturze naukowej znaleźć można wiele publikacji opisujących zastosowanie wysokosprawnej chromatografii cieczowej (*ang. High Performance Liquid Chromatography, HPLC*) do frakcyjnego rozdzielania grupowego niskolotnych frakcji i produktów naftowych [14-18]. Jednakże te metodyki separacyjne i analityczne nie znalazły dotychczas zastosowania w normach. Są one względnie kosztowne oraz niewiele mniej czaso- i pracochłonne od opisanych wcześniej metodyk znormalizowanych, zwłaszcza te realizowane w skali preparatywnej, z grawimetrycznym oznaczaniem. Realizowane w skali analitycznej wymagają kalibracji za pomocą odpowiednich frakcji, otrzymanych w skali semi-preparatywnej, bądź preparatywnej.

Metodyki HPLC znalazły dotychczas zastosowanie jedynie do badań składu grupowego naftowych produktów o średniej lotności, takich jak oleje napędowe do silników Diesla (ON) czy paliwa do turbodoładowanych silników lotniczych (paliwa typu JETA, lub JETB). Do rozdzielania wykorzystywano detekcję refraktometryczną (*ang. Refractive Index Detector, RID*) oraz w przypadku niektórych z opisywanych metodyk, z wykorzystaniem zwrotnego przepływu eluentu (*ang.: EBF – Eluent Back Flush*) w kolumnie HPLC. Kalibrację wykonywano względem określonych indywiduów chemicznych, reprezentujących poszczególne grupy węglowodorów, tzn., względem: cykloheksanu – dla grupy „S”, 1-metylnaftalenu dla grupy „A1”, fenantrenu dla grupy „A2+” oraz „R-Resins”. Gdy olej napędowy zawierał estry metylowe, lub etylowe kwasów tłuszczowych, odpowiednio: FAME (*ang.: Fatty Acids Methyl Esters*), lub FAEE (*Fatty Acids Ethyl Esters*), to metodyki zostawały zmodyfikowane [19-24]. Warto nadmienić, że w przypadku stosowania HPLC do rozdzielania grupowego nisko lotnych i nielotnych frakcji i produktów naftowych można by także zastosować podobną zasadę kalibracji, tzn., odnoszenia zawartości poszczególnych grup do względnej zawartości ich „przedstawicieli”, np., względem skwalanu dla „S”, 1,3,5 tri-tert-butylo benzenu dla A1, względem di-etylo-naftalenu, albo 1,4' dietylo bifenylu dla A2, 1,4 di-etylo-antracenu dla „A3”, di-etylopirenu, dla A4 itd.

Do rozdzielania grupowego można zaliczyć w pewnym sensie chromatografię wykluczania (dawniej, żelową) (*ang. Size Exclusion Chromatography/Gel Permeation Chromatography, SEC/GPC*), umożliwiającą rozdzielanie pod względem wielkości cząsteczek (masy cząsteczkowej) składników badanych niskolotnych frakcji naftowych czy powęglowych [25-28].

Skład grupowy asfaltu określić można również z zastosowaniem planarnej chromatografii cienkowarstwowej (TLC) [29-31], planarnej chromatografii cienkowarstwowej sprzężonej z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (ang. *Thin Layer Chromatography Flame Ionization Detector*, TLC-FID) [32-38] i preparatywnej, odśrodkowej chromatografii cienkowarstwowej (ang. *Preparative, Centrifugal Accelerated, Radial Thin Layer Chromatography - aparat Chromatotron*) [31,39]. Pierwsza technika dotyczy nie tyle oznaczania, co oceny i orientacyjnego szacowania składu grupowego, druga i trzecia oznaczania ilościowego poszczególnych grup składników.

Tabela 1. Zestawienie eluentów stosowanych w literaturze do rozdzielania pod względem składu grupowego asfaltów i ciężkich frakcji z przeróbki ropy naftowej zawierających asfalteny.

Table 1. Summary of the most frequently used eluents to assess the group type composition of the bitumen and crude oil heavy fractions content asphaltenes.

Grupa składników (group of compounds)	Związki nasycone (Saturates)	Związki aromatyczne (Aromatics)	Żywiec (Resins)
TLC- SiO <sub>2</sub> [31]	1. eter naftowy	2. pentan:eter dietylowy (90:10 v/v)	3. benzen:alkohol etylowy (90:10 v/v)
*TLC- SiO <sub>2</sub> [1]	3. n-heksan	2. toluen	1. dichlorometan:metanol (95:5 v/v)
Chromatotron-SiO <sub>2</sub> [31,39]	1. eter naftowy	2. eter naftowy:eter (8:2 v/v)	3. octan etylu
TLC-FID- SiO <sub>2</sub> [14,32,33,35,38]	1. n-heksan	2. toluen	3. dichlorometan:metanol (95:5 v/v)
*TLC-FID- SiO <sub>2</sub> [34]	3. n-heksan	2. toluen	1. dichlorometan:metanol (95:5 v/v)
TLC-FID- SiO <sub>2</sub> [36]	1. n-heptan	2. toluen	3. tetrahydrofuran
TLC-FID- SiO <sub>2</sub> [37]	1. n-heksan	2. n-heksan:toluen (1:1 v/v)	3. dichlorometan:metanol (93:7 v/v)

\* Elucja stopniowa w kolejności malejącej siły elucyjnej eluentu

W większości przypadków (tab. 1.) stosuje się rozwijanie chromatogramu TLC z zastosowaniem trzech eluentów w kolejności wzrastającej siły elucyjnej. Najczęściej począwszy od n-heksanu lub n-heptanu do pełnej wysokości płytki TLC/pręcika TLC-FID, przez toluen, do wysokości ok. 60% warstwy porowatej, kończąc mieszaniną dichlorometan:metanol w stosunku 95:5 v/v do wysokości ok. 25 do 30% warstwy wypełnienia. Rzadziej do wyeluowania związków nasyconych zastosować można eter, a w przypadku związków aromatycznych jego mieszaniny lub roztwór n-heksan:toluen. Żywiec alternatywnie eluuje się tetrahydrofuranem lub octanem etylu, dawniej mieszaniną benzenu z alkoholem etylowym, aktualnie niestosowaną przez wzgląd na jej toksyczność.

## 1.2. Komentarz do celu pracy i cel pracy (Comment for and aim of the work)

Powyższa analiza problemu rozdzielania grupowego niskolotnych frakcji i produktów naftowych, a także studium literatury wykonane w ramach niniejszej pracy pokazują, że chromatografia cienkowarstwowa w normalnych układach faz (NP-TLC), a szczególnie, chromatografia cienkowarstwowa w sprzężeniu z detekcją płomieniowo jonizacyjną (TLC-FID) to techniki rozdzielania, które powinny być szczególnie predestynowane do rozdzielania grupowego (oznaczania jakościowego) ciężkich frakcji naftowych, a TLC-FID także do badań ilościowych. Główną zaletą obu metodyk jest brak konieczności wcześniejszego wydzielenia asfaltenów/frakcji asfaltenowych metodą precypitacji w n-alkanach. Technika cienkowarstwowej chromatografii cieczowej w normalnych układach faz (NP-TLC) powinna być przydatna jako łatwa i tania technika porównawczej oceny obecności innych, niż asfalteny frakcji w badanych frakcjach asfaltenowych, oraz służyć do wstępnych badań nad doбором optymalnych warunków rozdzielania grupowego asfaltenów i frakcji asfaltenowych techniką adsorpcji – desorpcji oraz kolumnowej chromatografii cieczowej. Jednak wówczas potrzebny jest zupełnie inny skład eluentu.

Dla zidentyfikowania większości grup związków chemicznych stosuje się zwykle kilka sposobów wizualizacji płytek TLC oraz wykonuje fotografie. W świetle widzialnym widoczna jest grupa asfaltenów/frakcji asfaltenowej o barwie od ciemnobrązowej, do czarnej, a także część frakcji tzw. żywicy o barwie jasnobrązowej. Wizualizacja z zastosowaniem lampy UV emitującej światło o długości fali 365 nm „ujawnia” jasnoniebieską do błękitnej fluorescencję spowodowaną przez grupy węglowodorów aromatycznych (A1) i poliaromatycznych (A2+) oraz żywicy (R) (bardziej niebieska fluorescencja). Kolejno, wizualizując w świetle 254 nm, uwidacznia się zszarzenie płytki typu F<sub>254</sub> (zawierającej fluoresceinę czułą na światło UV 254 nm) - w miejscach występowania absorpcji tego rodzaju światła, a także niekiedy słaba

ciemnoniebieska lub ciemnofioletowa fluorescencja w zakresie światła widzialnego, spowodowana przez niektóre grupy związków chemicznych, np. związki poliaromatyczne oraz żywice.

Interpretacji rozwiniętego chromatogramu dokonać można po chemicznym „wywołaniu” poprzez:

- umieszczenie płytki TLC w oparach jodu, korzystnie w podwyższonej temperaturze - ok. 40°C, co powoduje pojawienie się beżowo-brązowych adduktów jodu z większością organicznych związków chemicznych. Jednakże operacja ta w przypadku ciężkich frakcji naftowych nie niesie dodatkowych informacji
- spryskanie płytki świeżo przygotowaną mieszaniną kwasu siarkowego i formaldehydu (98:2 v/v), co powoduje pojawienie się w świetle 254 nm czerwono-brązowego zabarwienia w miejscu występowania aromatycznych związków monocyklicznych i ciemnozielonego dla policyklicznych związków aromatycznych [31]
- spryskanie bądź wcześniejsza impregnacja płytki TLC siarczanem lub chlorkiem berberyny [40-43] który, wzmacnia fluorescencję alkanów - frakcji, która w inny sposób jest niewidoczna na płytkach TLC.

W pracach dotyczących rozdzielania grupowego produktów naftowych techniką chromatografii cienkowarstwowej, z reguły stosowano kolejność elucji zgodną z wzrastającą siłą elucyjną. Zdaniem autorów niniejszej publikacji i jak wykazały badania J. Gudebskiej jest to nieprawidłowe, gdyż na efekt rozdzielczy wpływ mają dwa mechanizmy, powinowactwo grupy eluowanych składników do fazy stacjonarnej oraz ich rozpuszczalność w stosowanych eluentach [44]. W przypadku zastosowania n-heksanu jako pierwszego eluentu (nierozpuszczającego asfaltenów) dochodzi do utrudnienia dostępu rozpuszczalnika do składników frakcji okludowanych wewnątrz asfaltenów lub frakcji asfaltenowych zawierających asfaleny. W niniejszej pracy poświęconej grupowemu rozdzielaniu ciężkich frakcji naftowych zastosowano elucję stopniową w kolejności malejącej siły elucyjnej.

Celem pracy jest opracowanie optymalnych warunków badania asfaltenów i frakcji asfaltenowych technikami NP-HPLC oraz TLC-FID szczególnie w zakresie obecności i zawartości innych składników grupowych, oprócz asfaltenów we frakcjach asfaltenowych i asfalcie.

## 2. Materiały

### (Materials)

- n-heptan (czda. Chempur, Polska)
- membrana filtracyjna hydrofobowa z PTFE 0,45  $\mu\text{m}$ ,  $\phi$  47 mm (Merck Milipore, Niemcy)
- sącze celulozowy jakościowy (Whatman)
- chlorek metylenu (czda. POCH, Polska)
- metanol (czda. POCH, Polska)
- toluen (czda. POCH, Polska)
- n-heksan (cz. do HPLC Merck, Niemcy)
- płytki TLC pokryte żelazem krzemionkowym  $\text{SiO}_2 \text{ F}_{254}$  (Merck Milipore, Niemcy)

## 3. Wyposażenie

### (Equipment)

- strzykawkę mikrolitrową 0-10  $\mu\text{L}$  (Hamilton, USA)
- komora wizualizacji płytek TLC z średnio- i nisko-ciśnieniową lampą rtęciową UV emitującą światło o długości fali odpowiednio 365 i 254nm
- eksykator nasycony oparami jodu
- komory chromatograficzne z możliwością nasywania atmosfery parami odpowiednich eluentów
- suszarka do płytek TLC (Zugil)

## 4. Charakterystyka materiałów wykorzystanych w badaniach

### (Raw material characteristics)

Badane próbki pozyskano jako frakcje nierozpuszczalne w n-heptanie w procesie precypitacji asfaltu drogowego 20/30 wyprodukowanego przez Lotos Asfalt (Grupa Lotos S.A.) dwoma opisanymi poniżej metodami.

Próbkę A (ASTM D3279) uzyskano przez trzydziestominutowe ogrzewanie w temperaturze wrzenia (98°C) pod chłodnicą zwrotną ok. 15 g asfaltu z n-heptanem w proporcji m/v 1:40, następnie mieszaninę pozostawiono do ostygnięcia. Zawartość kolby podgrzaną do temperatury pomiędzy 38-49°C filtrowano przez membranę (0,45  $\mu\text{m}$ ) uprzednio zwilżoną 5 mL n-heptanu. Osad przemywano porcjami n-heptanu w temperaturze pokojowej (po ok 10 mL) do momentu całkowitego wymycia frakcji w nim rozpuszczalnej i suszono w suszarce próżniowej przez 15 min w temperaturze 104°C.

Próbkę N4 (ASTM D4124) wyizolowano wykorzystując ok 6 g asfaltu i 100 mL n-heptanu przypadającego na każdy gram surowca. Po godzinnym ogrzewaniu pod chłodnicą zwrotną w temperaturze wrzenia n-heptanu (98°C) mieszaninę precypitującą pozostawiono do ochłodzenia oraz wydzielenia frakcji asfaltenowej przez 16 godzin w temperaturze pokojowej bez dostępu światła. Następnie filtrowano przez zwilżony 5 mL n-heptanu sączelek papierowy (jakościowy), osad przemywano n-heptanem. Sączelek z osadem umieszczono następnie w kolbie, do której dodano 150 mL n-heptanu i ogrzewano przez 30 min pod chłodnicą zwrotną poddając sporadycznemu mieszaniu. Po usunięciu sączeleka roztwór przefiltrowano, a wytrąconą frakcję asfaltenową wysuszono w 104°C.

Część materiału podano ługowaniu w układzie ciec-ciało stałe z zastosowaniem n-heptanu i przepływowej nasadki ekstrakcyjnej, niepozwalającej na zbieranie się cieczy wewnątrz gilzy ekstrakcyjnej. Próbkę N4 oczyszczano 8 godzin, a próbkę A 20 godzin. Otrzymano w ten sposób frakcje nazwane odpowiednio N4E i AEx.

## 5. Metodyka (Methods)

Do wykonania roztworów nanoszonych na płytki TLC Si60 F<sub>254</sub> o wymiarach 5x10 cm wykorzystano chlorek metylenu. Stężenia próbek wynosiły 1, 2, 5 i 10 mg/mL, a objętość nakładanych roztworów 2 i 5 µL. Plamki nanoszono z wykorzystaniem nadmuchu zimnego powietrza mającego na celu przyspieszenie odparowywania rozpuszczalnika, co przyczynia się do uzyskania plamek o mniejszej średnicy.

Chromatogramy rozwijane były między innymi z zastosowaniem trzech eluentów zgodnie i przeciwnie z wzrastającą siłą elucyjną. Poniżej wymieniono szereg zastosowanych kombinacji wraz z określeniem wysokości elucji:

- DCM:MeOH (95:5 v/v) 30%; toluen 60%; n-heksan 100%
- 3 x n-heksan 100%
- 3 x nasycony wodą w 95% n-heksan 100%
- DCM:MeOH (95:5 v/v) 50%; toluen 100%
- toluen 100%; DCM:MeOH (95:5 v/v) 50%
- DCM:MeOH (95:5 v/v 30%); toluen 60%; 3 x nasycony wodą w 95% n-heksan 100%

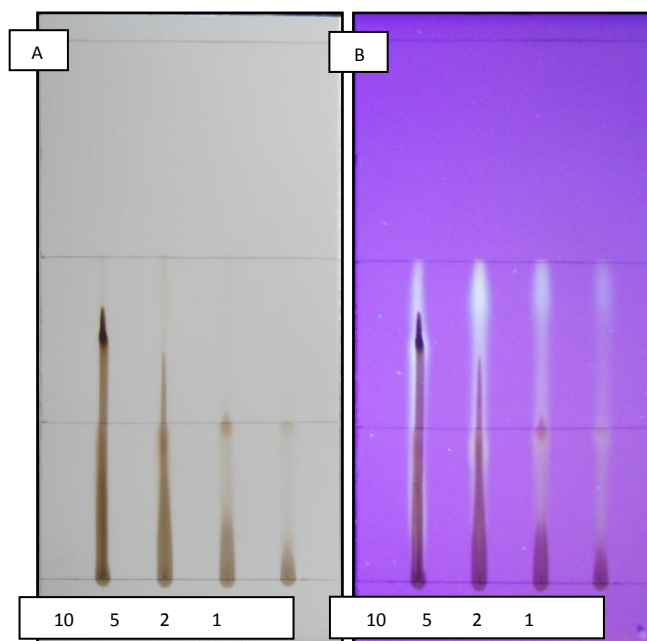
Pomiędzy rozwijaniem płytki TLC każdorazowo suszono przez około 10 min w temperaturze 105°C. Rozwinięte płytki obserwowane i fotografowane były w świetle widzialnym, w świetle lampy ultrafioletowej w zakresie 254 i 365 nm długości fali oraz po wywołaniu w oparach jodu. Wykorzystany w badaniach, jako eluent, n-heksan był nasycony wodą w temperaturze pokojowej.

Zbadano wpływ trzygodzinnej aktywacji płytki w temperaturze 130°C na wynik rozdzielania grupowego frakcji asfaltenowych. Próbki w ilości 5 µL, o stężeniu 2 mg/mL nakładano na płytki TLC, a następnie rozwijano mieszaniną DCM:MeOH (95:5v/v) do 30%, toluenem do 60% i n-heksanem do 100% wysokości płytki. Z uwagi na brak poprawy rozdzielczości zrezygnowano z czasochłonnej aktywacji wykorzystywanych płytek. Wszystkie uzyskane wyniki odnoszono do składu grupowego asfaltu oksydowanego 20/30, z którego otrzymano badane próbki.

## 6. Wyniki i dyskusja (Results and discussion )

### 6.1. Określenie optymalnego stężenia (Determining the optimal concentration)

W przypadku badań, w których techniką TLC oznaczano skład grupowy ciężkich produktów naftowych takich jak asfalty, oleje bazowe, pozostałości po destylacji atmosferycznej oraz próżniowej nakładana „plamka” zawiera średnio od ok. 0,01 do 0,02 mg badanego materiału (1 µL 10-20 mg/mL) w przypadku TLC-FID i oraz od 0,01 do 0,3 mg/mL (2-5 µL 5-60 mg/mL) dla TLC [1,14,34,35,37]. Ze względu na dużą zawartość asfaltenów, parametrów takich jak stężenie i objętość na noszonej próbce nie można bezpośrednio adaptować dla oznaczeń frakcji asfaltenowej. Asfalteny w większej części nie są eluowane żadnym ze stosowanych rozpuszczalników (pozostają na linii startu), w związku z czym stężenie w przeliczeniu na dozowaną objętość plamki, powinno być tak dobrane, aby nie dochodziło do przeładowania (asfaltenami) fazy stacjonarnej.



Rys. 1. Fotografie chromatogramów na płytkach TLC Si60 F<sub>254</sub> o wymiarach 5x10 cm; próbka: frakcja asfaltenowa N4E wyizolowana wg normy ASTM D4124 poddana 8 h ekstrakcji gorącym n-heptanem oglądana w świetle widzialnym (A) i przy 365 nm długości fali (B); kolejność elucji: DCM:MeOH (95:5 v/v) 30%, toluen 60%, n-heksan 100%; objętość dozowania: 5  $\mu$ L; stężenie dozowanych próbek: 10, 5, 2 i 1 mg/mL DCM.

Fig. 1. Photography of chromatograms in 5x10 cm size TLC Si60 F<sub>254</sub> plates; sample: asphaltene fraction N4E isolated according to the ASTM D4124 norm extracted 8 h with hot n-heptane viewed in visible light (A) and at 365 nm wavelength (B); elution order: DCM:MeOH (95:5 v/v) 30%, toluene 60%, n-hexane 100%; dosing volume: 5  $\mu$ L; sample concentration: 10, 5, 2 and 1 mg/mL DCM.

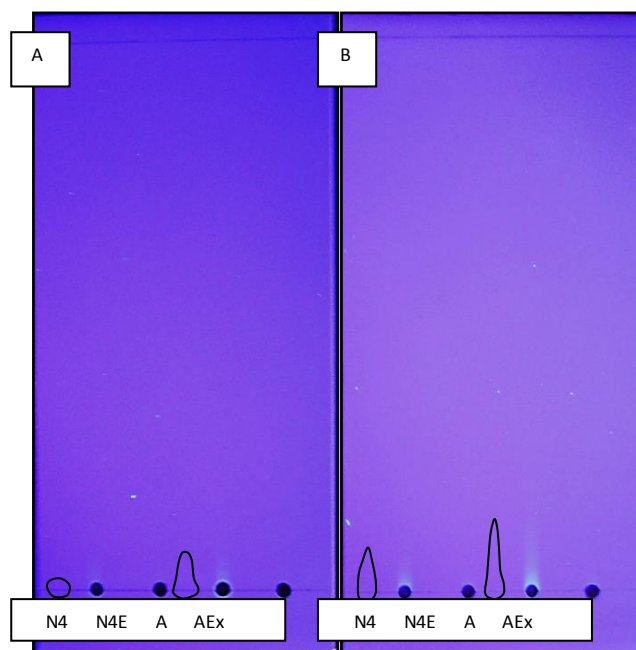
Celem określenia optymalnego stężenia frakcji asfaltenowej nanoszonej na płytkę TLC nałożono 5  $\mu$ L próbki N4E o stężeniach: 10, 5, 2 i 1 mg/mL DCM i rozwijano kolejno: mieszaniną DCM:MeOH (95:5 v/v) na wysokość 30%, toluenem na wysokość 60% i bezwodnym n-heksanem na wysokość 100%. Na podstawie uzyskanych chromatogramów (rys. 1.) stwierdzono, że w przypadku zastosowania stężenia 10 i 5 mg/mL miało miejsce przeładowanie fazy stacjonarnej oraz niecałkowite rozdzielanie frakcji żywicy od asfaltenów. Natomiast dla 1 mg/mL obecność frakcji żywicznej jest praktycznie niezauważalna. Na tej podstawie uznano, że optymalna próbka frakcji asfaltenowej to 5  $\mu$ L roztworu o stężeniu 2 mg/mL tzn. 0,01 mg materiału.

## 6.2. Badanie czystości frakcji asfaltenowej (Study of asphaltenes fractions purity)

W zależności od metodyki izolacji frakcji asfaltenowej- zastosowanego surowca, proporcji rozpuszczalnika, czasu i temperatury prowadzenia precypitacji oraz sposobu przemywania powstałego osadu skład grupowy otrzymanych frakcji może różnić się znacząco. Wraz z asfaltenami mogą współstrącać się żywice. Dodatkowo, żywice oraz węglowodory poliaromatyczne mogą być okludowane przez asfaleny lub adsorbowane na ich powierzchni. Z tego powodu jest niezbędne dodatkowe oczyszczanie, gdyż procedura wg. normy nie pozwala na całkowite odmycie tych frakcji.

W niniejszej pracy zaproponowano metodę wstępnego badania czystości frakcji asfaltenowej polegającą na trzykrotnej elucji bezwodnym albo nasyconym w 95% wodą n-heksanem. Zastosowano rozwijanie wielokrotne, gdyż większość składników próbki mających charakter względnie polarny nie rozpuszcza się w n-alkanach. W ten sposób zwiększono drogę „rozwijania” składników i wydłużono czas kontaktu nC6 z frakcją asfaltenową. Zabieg ten miał na celu uzyskanie lepszej wymiany masy i łatwiejszego dostępu eluentu do okludowanej frakcji węglowodorów. W odniesieniu do standardowej procedury izolacji frakcja asfaltenowa nie powinna zawierać składników rozpuszczalnych w krótkołańcuchowych węglowodorach n-alifatycznych tzn. rozwijanie chromatogramu n-heksanem nie powinno „ujawniać” niebieskiej fluorescencji widocznej przy 365 nm długości fali światła.





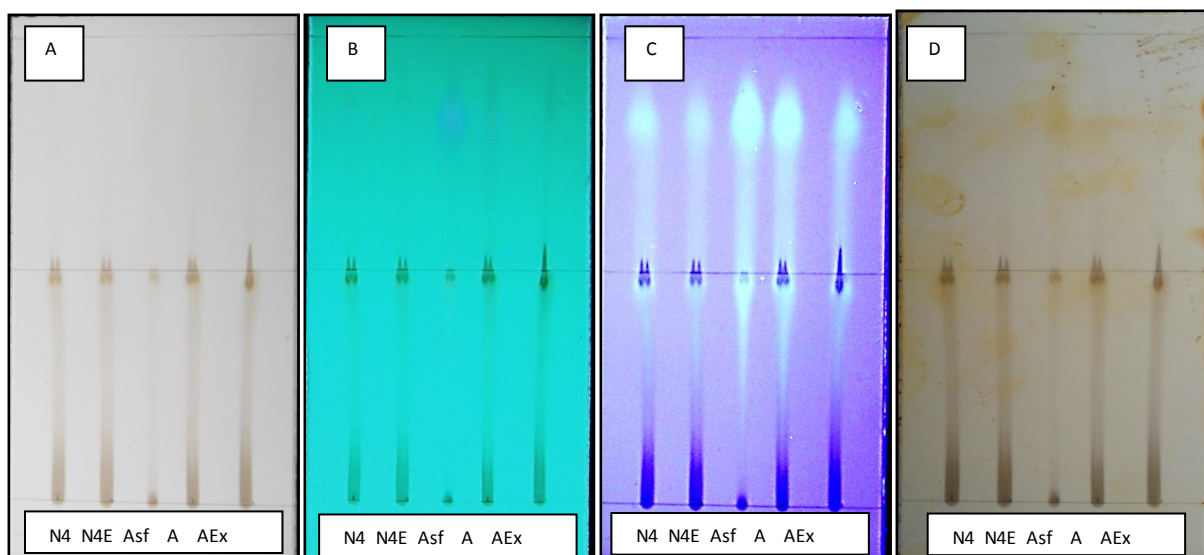
Rys. 2. Fotografie chromatogramów na płytkach TLC Si60 F<sub>254</sub> o wymiarach 5x10 cm; próbki: frakcja asfaltenowa N4 wyizolowana wg normy ASTM D4124 i N4E dodatkowo poddana 8 h ekstrakcji gorącym n-heptanem oraz A frakcja asfaltenowa wyizolowana wg ASTM D3279 i AEx poddana 20 h ekstrakcji n-heptanem oglądane przy 365 nm długości fali; Trzykrotna elucja A- bezwodnym i B- nasyconym wodą w 95% n-heksanem; objętość dozowania: 5  $\mu$ L, 2 mg/mL DCM.

Fig. 2. Photography of chromatograms in 5x10 cm size TLC Si60 F<sub>254</sub> plates; sample: asphaltene fraction N4 isolated according to the ASTM D4124 norm and N4E additionally extracted 8 h with n-heptane and asphaltene fraction A isolated according to the ASTM D3279 norm and AEx additionally extracted 20 h with hot n-heptane viewed at 365 nm wavelength; elution order: three times elution A- anhydrous and B- saturated with water in 95% n-hexane; dosing volume: 5  $\mu$ L, 2 mg/mL DCM.

Na rysunku numer dwa porównano rozwijania frakcji asfaltenowych z zastosowaniem bezwodnego i w 95% nasyconego wodą n-heksanu. Analizując wyniki stwierdzono, że zastosowanie nasyconego wodą n-heksanu jest korzystniejsze, gdyż spowodowało elucję większej ilości węglowodorów wykazujących niebieską fluorescencję pod wpływem światła 365 nm. Wykazano ponadto, że zastosowanie większej proporcji surowiec rozpuszczalnik i przemywanie wytrażonej frakcji asfaltenowej gorącym n-heptanem (próbka N4) ma wpływ na zmniejszenie ilości ww. składników. Brak niebieskiej fluorescencji powyżej naniesionej plamki frakcji asfaltenowej w przypadku próbki N4E i AEx potwierdza słuszność stosowania dodatkowego oczyszczania ekstrakcyjnego w układzie ciecz ciało stałe.

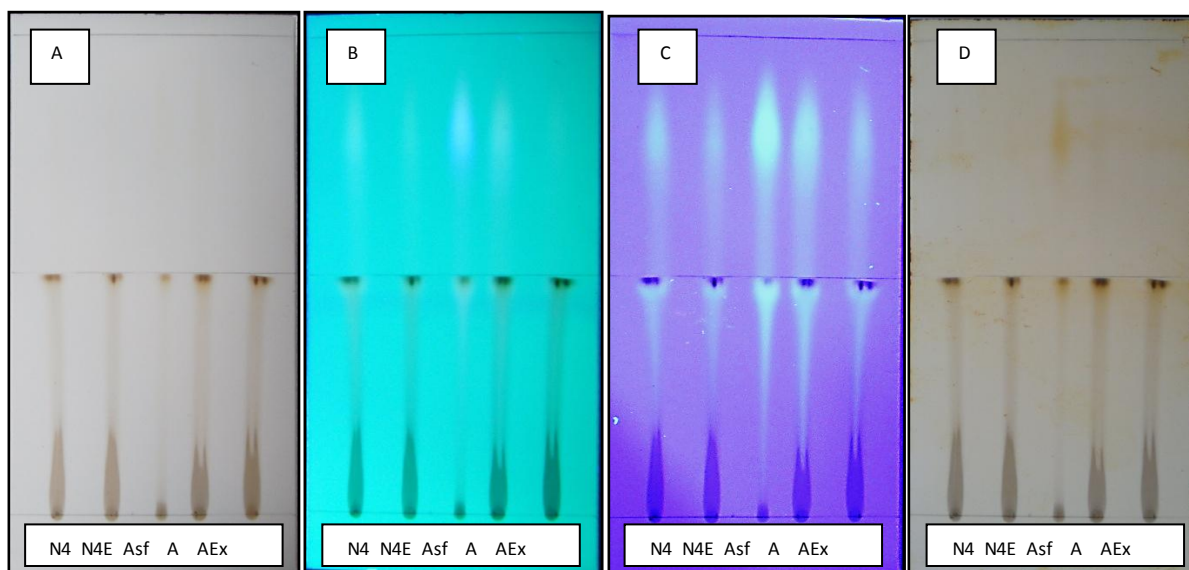
### 6.3. Określenie kierunku zmiany siły elucyjnej (Determining the direction of change in strength elution)

W większości publikacji do oceny składu grupowego ciężkich frakcji ropy naftowej także zawierających asfalteny stosowano kolejność elucji stopniowej zgodną ze wzrostem siły elucyjnej. Niepublikowane badania J. Gudebskiej wykazały, że dla techniki TLC-FID optymalna jest odwrotna kolejność elucji [44]. Wydaje się, że także w przypadku TLC korzystna jest kolejność odwrotna. W ramach niniejszej pracy wykonano badania porównujące obie metodyki. Na płytkę TLC obok frakcji asfaltenowych naniesiono plamkę asfaltu 20/30, z którego wydzielono w/w substancje i rozwijano do połowy wysokości mieszaniną DCM:metanol (95:5 w/v) oraz toluenem do 100% wysokości płytki, w pierwszym przypadku stosując dichlorometan jako pierwszy eluent, w drugim toluen. Otrzymane rezultaty przedstawiono na rysunkach 3 oraz 4.



Rys. 3. Fotografie chromatogramów na płytkach TLC Si60 F<sub>254</sub> o wymiarach 5x10 cm; próbki: N4-frakcja asfaltenowa wyizolowana wg. normy ASTM D4124, N4E-frakcja N4 dodatkowo poddana 8 h ekstrakcji gorącym n-heptanem, Asf-asfalt 20/30, A-frakcja asfaltenowa wyizolowana wg ASTM D3279, AEx-frakcja A poddana 20 h ekstrakcji gorącym n-heptanem; wizualizacja w: A- świetle widzialnym, B- przy 254 nm długości fali C- przy 365 nm długości fali D- w świetle widzialnym po wywołaniu w oparach jodu; kolejność elucji: DCM:MeOH (95:5 v/v) 50%, toluen 100%; objętość dozowania: 5  $\mu$ L, 2 mg/mL DCM.

Fig. 3. Photography of chromatograms in 5x10 cm size TLC Si60 F<sub>254</sub> plates; sample: N4-asphaltene fraction isolated according to the ASTM D4124 norm, N4E- N4 fraction additionally extracted 8 h with hot n-heptane, Asf-asphalt 20/30, A-asphaltene fraction isolated according to the ASTM D3279 norm, AEx-fraction A additionally extracted 20 h with hot n-heptane viewed at A-visible light, B-254 nm and C- 365 nm wavelength, D- after saturation in the fumes of iodine; elution order: DCM:MeOH (95:5 v/v) 50%, toluene 100%; dosing volume: 5  $\mu$ L, 2 mg/mL DCM.

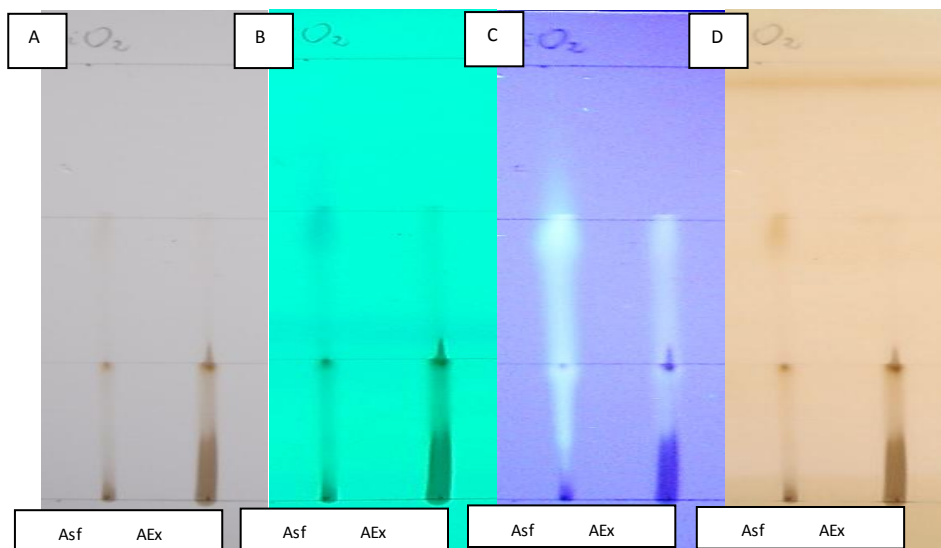


Rys. 4. Fotografie chromatogramów na płytkach TLC Si60 F<sub>254</sub> o wymiarach 5x10 cm; próbki: N4-frakcja asfaltenowa wyizolowana wg. normy ASTM D4124, N4E-frakcja N4 dodatkowo poddana 8 h ekstrakcji gorącym n-heptanem, Asf-asfalt 20/30, A-frakcja asfaltenowa wyizolowana wg ASTM D3279, AEx-frakcja A poddana 20 h ekstrakcji gorącym n-heptanem; wizualizacja w: A- świetle widzialnym, B- przy 254nm długości fali C- przy 365 nm długości fali D- w świetle widzialnym po wywołaniu w oparach jodu; kolejność elucji: toluen 100%, DCM:MeOH (95:5 v/v) 50%; objętość dozowania: 5  $\mu$ L, 2 mg/mL DCM.

Fig. 4. Photography of chromatograms in 5x10 cm size TLC Si60 F<sub>254</sub> plates; sample: N4-asphaltene fraction isolated according to the ASTM D4124 norm, N4E- N4 fraction additionally extracted 8 h with hot n-heptane, Asf-asphalt 20/30, A-asphaltene fraction isolated according to the ASTM D3279 norm, AEx-fraction A additionally extracted 20 h with hot n-heptane viewed at A-visible light, B-254 nm and C- 365 nm wavelength, D- after saturation in the fumes of iodine; elution order: toluene 100%, DCM:MeOH (95:5 v/v) 50%; dosing volume: 5  $\mu$ L, 2 mg/mL DCM.



Analizując chromatogramy, gdzie pierwszym eluentem był toluen zaobserwowano mniejszą ilość eluowanej z czołem polarniej frakcji żywic charakteryzującej się brązowym zabarwieniem oraz większe rozmycie, w przypadku frakcji wykazującej fluorescencję przy 265nm długości fali światła eluowanej mieszaniną DCM:MeOH (95:5 v/v). Przyczyną takiej sytuacji może być niedostateczna penetracja plamki przez rozpuszczalnik. Korzystniej jest więc zastosować mieszaninę chlorku metylenu, w którym asfalteny w całości się rozpuszczają, z metanolem, zwiększającym siłę elucyjną. W pierwszym etapie rozwijania dochodzi wówczas do rozmycia części plamki, w tym „wymycia” polarnych żywic, co ułatwia późniejszą elucję pozostałych frakcji toluenem. Kolejność zastosowanych eluentów nie ma tu jednak aż tak wielkiego znaczenia jak w przypadku n-heksanu.



Rys. 5. Fotografie chromatogramów na płytkach TLC Si60 F<sub>254</sub> o wymiarach 2,5x10 cm; próbki: Asf-asfalt 20/30, AEx-frakcja asfaltenowa wyizolowana wg ASTM D3279 poddana 20 h ekstrakcji gorącym n-heptanem oglądane: A-w świetle widzialnym, B-przy 254 i C 365 nm długości fali światła oraz D- w świetle widzialnym po wywołaniu w oparach jodu; Elucja mieszaniną DCM:MeOH (95:5 v/v) do 30% wysokości płytki, toluenem do 60% wysokości płytki, i nasyconym wodą w 95% n-heksanem do 100% wysokości płytki; objętość dozowania: 5 µL, 2 mg/mL DCM.

Fig. 5. Photography of chromatograms in 2,5x10 cm size TLC Si60 F<sub>254</sub> plates; sample: Asf- asphalt 20/30, AEx asphaltene fraction isolated according to the ASTM D3279 norm additionally extracted 20 h with hot n-heptane viewed at A- visible light, B-254 and C 365 nm wavelength, and C- in visible light after saturation in the fumes of iodine; Elution by mixture of DCM:MeOH (95:5 v/v) 30%, toluene 60%, saturated with water in 95% n-hexane; dosing volume: 5 µL; 2 mg/mL DCM.

Rysunek 5 przedstawia chromatogramy rozwinięte z zastosowaniem procedury trzyetapowej, gdzie nałożone plamki rozwijano kolejno mieszaniną DCM:MeOH na wysokość 30%, następnie toluenem na wysokość 60% oraz nasyconym wodą w 95% n-heksanem na wysokość 100%. W porównaniu do wcześniejszych badań (rys. 3 i 4) odpowiednio skrócono obszary elucji toluenem i mieszaniną DCM:MeOH, co pozwoliło na wprowadzenie trzeciego eluentu elującego w głównej mierze węglowodory nasycone widoczne jako niebieska fluorescencja przy 365 nm długości fali. Zastosowanie takiej procedury pozwala na określenie składu grupowego asfaltu i frakcji asfaltenowych jako asfaltenów, żywic, węglowodorów mono i poliaromatycznych oraz wspomnianej grupy związków nasyconych.

## 7. Podsumowanie (Summary)

Uwzględniając wykonane doświadczenia zaproponowano metodykę oceny składu grupowego i czystości frakcji asfaltenowej. W pierwszym etapie określono optymalną ilość próbki (frakcji asfaltenowej) przypadającą na nakładaną plamkę wynoszącą około 0,01 mg. Nie dochodzi wówczas do nadmiernego przeładowania w strefie asfaltenów przy możliwości określenia obecności i oceny frakcji poli-aromatycznej oraz żywiczej.

Przygotowanie frakcji asfaltenowej powinno zostać w ten sposób wykonane, aby nie zawierała składników wykazujących fluorescencję pod lampą 365nm po trzykrotnym rozwijaniu chromatogramu TLC n-heksanem nasyconym w 95% wodą. W praktyce konieczne jest zastosowanie w tym celu ekstrakcji w aparacie Soxhleta, lub wykonanie na inny sposób całkowitego usunięcia rozpuszczalnych w n-alkanach nisko polarnych składników frakcji asfaltenowej.

Możliwie jak najmniejsze plamki badanego materiału o masie ok. 0.01 g, zostają nałożone na płytkę TLC z żelem krzemionkowym SiO<sub>2</sub> – F254, korzystnie z roztworu w dichlorometanie. Najpierw ma miejsce trzykrotna elucja n-heksanem nasyconym w 95% wodą na 100% wysokości płytki oraz wizualizacja

wysuszonej płytki pod lampą 365 nm. Etap ten ma na celu określenie czy wszystkie składniki rozpuszczalne w n-heptanie zostały wymyte z badanej próbki frakcji asfaltenowej na etapie jej oczyszczania. Eluowane są w ten sposób potencjalnie obecne węglowodory nasycone oraz nisko polarne węglowodory aromatyczne, podstawione grupami alifatycznymi i naftenowymi.

Procedura rozdzielania grupowego frakcji asfaltenowych polega na zastosowaniu płytki TLC z żelem krzemionkowym typu F-254 o wysokości 10 cm, nałożeniu możliwie małych plamek badanego materiału o masie ok. 0.01 g w roztworze, korzystnie w dichlorometanie oraz na elucji składników próbki, kolejno:

- na wysokość 30% mieszaniną chlorek metylenu:metanol 95:5 v/v,
- toluenem do 60% wysokości płytki,
- n-heksanem nasyconym w 95% wodą, do 100% wysokości płytki.

Pomiędzy kolejnymi rozwijaniem płytki należy wysuszyć, każdorazowo w temperaturze ok. 105°C przez 10min.

W przypadku badanej frakcji asfaltenowej wyróżniono 3 główne pod-frakcje: asfaltyny – plamki czarne, do czarno - brązowych ciągnące się od linii startu, żywice (*Resines*) w strefie czoła elucji mieszaniny chlorku metylenu i metanolu, do zakresu brązowo-czarnej plamki asfaltenów oraz względnie polarne węglowodory aromatyczne i poli-aromatyczne wykazujące fluorescencję przy 365 nm długości fali na wysokości powyżej 30% wysokości płytki. Dodatkowo można zauważyć, że dolne krawędzie plamki frakcji asfaltenowej nie ulegają przesunięciu podczas żadnego z etapów elucji. To pokazuje, że pomimo znacznej siły elucyjnej mieszaniny DCM:MeOH 95:5 v/v jest ona niewystarczająca dla spowodowania elucji najbardziej polarnej części frakcji asfaltenowej.

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że technika NP-TLC jest łatwym i szybkim narzędziem wstępnej oceny składu grupowego frakcji asfaltenowych i asfaltenów. Może być z powodzeniem stosowana jako technika tzw. „pierwszego wyboru”, zarówno dla techniki TLC-FID, jak i dla HPLC. Wnioski z wykonanych tu badań posłużyły do opracowania optymalnych warunków rozdzielania i oznaczania składu grupowego asfaltenów i frakcji asfaltenowych techniką TLC-FID. Dobór optymalnych warunków rozdzielania techniką TLC-FID jest znacznie bardziej pracochłonne, niż z wykorzystaniem techniki NP-TLC na płytkach. Wykorzystanie detektora płomieniowo jonizującego umożliwi nie tylko ocenę, ale i oznaczanie składu grupowego nielotnych mieszanin związków organicznych, co będzie przedmiotem kolejnej publikacji.

Niniejsze badania powinny też pomóc przy doborze optymalnych warunków rozdzielania grupowego asfaltenów techniką HPLC. Będzie to przedmiotem dalszych prac. Najprawdopodobniej konieczne będzie zastosowanie do rozdzielania warunków odwróconych układów faz (RP-HPLC).

## Summary

*Taking into account all experiments we proposed a methodology for evaluation of group type analysis and asphaltenes fraction purity. In the first stage we determined an optimum amount of dosing sample (asphaltene fraction) attributable to applied spot which is about 0,01 mg. In that case there is no excessive overload in asphaltenes' zone with the possibility to determine the presence of poliaromatics and resin fraction.*

*Asphaltene fractions preparation should be done without use of ingredients that exhibit fluorescence at 365nm wavelength after three times TLC chromatogram developing with n-hexane in 95% saturated by water. In practice it is required to use the Soxhlet extraction or use another method to completely remove low polar fraction soluble in n-alkanes.*

*The smallest as possible spot of tested material of approx. mass 0,01g are applied to TLC Si60 F254 plate, preferably from dichloromethane solution. First step is triple elution by n-hexane saturated in 95%by water and the visualization of the dried plate under the 365 nm UV lamp. This step aims to determine whether all n-heptane soluble components were eluted from asphaltene fractions during the purification. During this step, potentially existing saturated hydrocarbons and low polarity aromatic hydrocarbons substituted by aliphatic and naphthenic groups are being eluted.*

*Asphaltene fraction group type analysis involves using a 10cm high TLC silica gel F254 plates and applying as small as possible tested material spot (approx. 0,01 g) preferably in dichloromethane solution and elute it sequentially:*

- *dichloromethane:methanol 95:5 v/v solution to 30% of plate height*
- *toluene to 60% plate height*
- *n-hexane in 95% saturated by water to 100% of plate height*

*Between particular developments plates should be dried for about 10min in 105°C.*

*In the case of asphaltene fraction the test consist three major sub-fractions: asphaltenes-black to black-brown dots extending from the start line, resins in the front of mixture of methylene chloride and methanol solution zone to black-brown asphaltenes spot and relatively polar poli- and mono- aromatic hydrocarbons showing fluorescence at 265 nm wavelength in more of the 30% of plate height. In addition it can be seen that lower edges of asphaltenes fraction spots don't move during any phase of elution. This shows that despite significant elution force of DCM:MeOH 95:5 v/v mixture it is inadequate to cause elution of most polar part of asphaltene fraction.*

Based on the study it can be concluded that the NP-TLC technique is an easy and quick tool for preliminary assessment of asphaltene fractions and asphalt group type analysis. It can be successfully used as a technique of choice for both TLC-FID and HPLC techniques. Conclusions from the studies were used to develop optimal conditions for separation and determination group type analysis for TLC-FID. Choosing of optimal conditions of separation by TLC-FID technique for asphalts and asphaltene fractions is much more time consuming than for NP-TLC technique. The use of flame ionization detector can not only detect but also determine the group composition of non-volatile organic compounds, which will be the subject of another publication.

Present research may be also helpful in the selection of optimal conditions for group type analysis by HPLC. This will be the subject of further work. Most likely, reverse-phase system (RP-HPLC) conditions will be required for such separations.

## Podziękowania (Acknowledgements)

Praca wykonana w części w ramach realizacji projektu badawczego finansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (Program LIDER, edycja V, nr projektu: LIDER/036/573/L5/13/NCBR/2014) pt. *Badania nad otrzymywaniem i właściwościami sorbentów wytwarzanych z asfaltów*.

Autorzy niniejszej pracy pragną podziękować grupie Lotos Asphalt Sp-ka z o.o., a szczególnie p. Pawłowi Czajkowskiemu za przekazane do badań próbki asfaltów.

## 8. Literatura (Literature)

- [1] J. Kosińska, G. Boczkaj, J. Gudebska i M. Kamiński, "Fingerprinting niskolotnych frakcji i produktów naftowych techniką cienkowarstwowej chromatografii cieczowej (TLC) w identyfikacji przecieków procesowych oraz skażenia środowiska", *Fingerprint comparison of low-volatile petroleum products by means of Thin Layer Chromatography (TLC) for identification of process leakages and environmental pollution*, Camera Separatoria 5 (2013) 55.
- [2] ASTM D1319, *Standard test method for hydrocarbon types in liquid petroleum products by fluorescent indicator adsorption* (2003).
- [3] M. Granda, J. Bermejo, S. R. Moinelo i R. Menendez, *Application of extrography for characterization of coal tar and petroleum pitches*, Fuel 69 (1990) 702.
- [4] J. Bermejo, M. Granda, R. Menéndez i J. M. D. Tascón, *Comparative analysis of pitches by extrography and thermal analysis techniques*, Carbon 32 (1994) 1001.
- [5] J. Cerny, H. Pavliková i V. Machovic, *Compound-class fractionation of liquids by extrography*, Fuel 69 (1990) 966.
- [6] J. D. McLean i P. K. Kilpatrick, *Comparison of precipitation and extrography in the fractionation of crude oil residua*, Energy & Fuels 11 (1997) 570.
- [7] ASTM D4124, *Standard test methods for separation of asphalt into four fractions* (2001).
- [8] ASTM D2007, *Standard test method for characteristic groups in rubber extender and processing oils and other petroleum – derived oils by the clay – gel absorption chromatographic method* (2003).
- [9] F. S. Jacobs i R. H. Filby, *Liquid chromatographic fractionation of oil-sand and crude oil asphaltenes*, Fuel 62 (1983) 1186.
- [10] J. F. Schabron, J. F. Rovani i M. M. Sanderson, *Asphaltene determinator method for automated on-column precipitation and redissolution of pericondensed aromatic asphaltene components*, Energy & Fuels 24 (2010) 5984.
- [11] ASTM D3279, *Standard test method for n-heptane insolubles* (1997).
- [12] ASTM D6560, *Standard test method for determination of asphaltenes ( heptane insolubles ) in crude petroleum and petroleum products* (2000).
- [13] ASTM D893, *Standard test method for insolubles in used lubricating oils* (2014).
- [14] M. A. Ali, A. Hassan i S. Arabia, *Hydrocarbon group types analysis of petroleum products: a comparative evaluation of HPLC and TLC analytical*, Petroleum Science and Technology 20 (2002) 771.
- [15] Y. Li, X. Deng i W. Yu, *Group-type analyses of heavy petroleum fractions by preparative liquid chromatography and synchronous fluorescence spectrometry: analyses of aromatics by ring number of Liaohu vacuum gas oil , coker gas oil and heavy cycle oil*, Fuel 77 (1998) 277.
- [16] K. K. Bissada, J. Tan, E. Szymczyk, M. Darnell i M. Mei, *Group-type characterization of crude oil and bitumen. Part II: Efficient separation and quantification of normal-paraffins iso-paraffins and naphthenes (PIN)*, Fuel 173 (2016) 217.

- [17] K. K. A. Bissada, J. Tan, E. Szymczyk, M. Darnell i M. Mei, *Group-type characterization of crude oil and bitumen. Part I: Enhanced separation and quantification of saturates, aromatics, resins and asphaltenes (SARA)*, *Organic Geochemistry* 95 (2016) 21.
- [18] R. Kartanowicz, E. Gilgenast i M. Kamiński, *Group-type analysis of middle distillates by test method IP-391/EN-12916/ASTM D6379 in terms of resolution and selectivity of chromatographic columns*, *Analytical Chemistry* 52 (2007) 265.
- [19] ASTM D6591-11, *Standard test method for determination of aromatic hydrocarbon types in middle distillates-High performance liquid chromatography method with refractive index detection*, (2011)
- [20] ASTM D6591-00, *Standard test method for determination of aromatic hydrocarbon types in middle distillates-High performance liquid chromatography method with refractive index detection*, (2000)
- [21] IP 391:2007, *Petroleum products-Determination of aromatic hydrocarbon types in middle distillates-High performance liquid chromatography method with refractive index detection*, (2007).
- [22] PN-EN 12916:2016-03, *Przetwory naftowe-Oznaczenie grup węglowodorów aromatycznych w średnich destylatach-Metoda wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem współczynnika załamania światła*, (2016).
- [23] PN-EN 12916:2008, *Przetwory naftowe-Oznaczenie grup węglowodorów aromatycznych w średnich destylatach-Metoda wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem współczynnika załamania światła*, (2008).
- [24] PN-EN 12916:2003, *Przetwory naftowe-Oznaczenie grup węglowodorów aromatycznych w średnich destylatach-Metoda wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem współczynnika załamania światła*, (2003).
- [25] S. I. Andersen, *Concentration Effects in HPLC-SEC Analysis of Petroleum Asphaltenes*, *Journal of Liquid Chromatography* 17 (1994) 4065.
- [26] B. R. Johnson, K. D. Bartle, A. a. Herod i R. Kandiyoti, *N-methyl-2-pyrrolidinone as a mobile phase in the size-exclusion chromatography of coal derivatives*, *Journal of Chromatography A* 758 (1997) 65.
- [27] F. Karaca i inni, *The Calibration of Size Exclusion Chromatography Columns: Molecular Mass Distributions of Heavy Hydrocarbon Liquids*, *Energy & Fuels* 18 (2004) 778.
- [28] M. J. Lazaro, C. a. Islas, a. a. Herod i R. Kandiyoti, *Calibration of Size Exclusion Chromatography in 1-Methyl-2-pyrrolidinone for Coal-Derived Materials Using Standards and Mass Spectrometry*, *Energy & Fuels* 13 (1999) 1212.
- [29] V. L. Cebolla, *TLC-FID in quantitative hydrocarbon group type analysis of asphaltenes and other heavy fossil fuels*, *Abstracts of Papers of the American Chemical Society* 213 (1997) 71.
- [30] C. Jarne, V. L. Cebolla, L. Membrado, K. Le Mapihan i P. Giusti, *High-Performance Thin-Layer Chromatography Using Automated Multiple Development for the Separation of Heavy Petroleum Products According to Their Number of Aromatic Rings*, *Energy & Fuels* 25 (2011) 4586.
- [31] K. Dunn, G. V. Chilingarian, H. Lian, Y. Y. Wang i T. F. Yen, *Analysis of Asphalt and Its Components by Thin-Layer Chromatography*, w *Developments in Petroleum Science*, 40 (2000) 305.
- [32] D. A. Karlsen i S. R. Larter, *Analysis of petroleum fractions by TLC-FID: applications to petroleum reservoir description*, *Organic Geochemistry* 17 (1991) 603.
- [33] J. Vela, V. L. Cebolla, L. Membrado i J. M. Andres, *Quantitative hydrocarbon group type analysis of petroleum hydroconversion products using an improved TLC-FID system*, *Journal of Chromatographic Science* 33 (1995) 417.
- [34] M. Kamiński, J. Gudebska, T. Górecki, i R. Kartanowicz, *Optimized conditions for hydrocarbon group type analysis of base oils by thin-layer chromatography-flame ionisation detection*, *Journal of Chromatography A* 991 (2003) 255.
- [35] B. K. Sharma, S. L. S. Sarowha, S. D. Bhagat, R. K. Tiwari, S. K. Gupta i P. S. Venkataramani, *Hydrocarbon group type analysis of petroleum heavy fractions using the TLC-FID technique*, *Journal of Analytical Chemistry* 360 (1998) 539.
- [36] J. F. Masson, T. Price i P. Collins, *Dynamics of bitumen fractions by thin-layer chromatography/flame ionization detection*, *Energy and Fuels* 15 (2001) 955.
- [37] C. Jiang, S. R. Larter, K. J. Noke i L. R. Snowdon, *TLC-FID (Iatroscan) analysis of heavy oil and tar sand samples*, *Organic Geochemistry* 39 (2008) 1210.
- [38] E. Kim, E. J. Cho, S. Moon, J. Il Park i S. Kim, *Characterization of Petroleum Heavy Oil Fractions Prepared by Preparatory Liquid Chromatography with Thin-Layer Chromatography, High-Resolution Mass Spectrometry, and Gas Chromatography with an Atomic Emission Detector*, *Energy and Fuels* 30 (2016) 2932.
- [39] K. Dunn, G. V. Chilingarian i T. F. Yen, *Bitumens: Liquid chromatography*, w *Encyclopedia of Separation Science* (2000) 2180.
- [40] V. L. Cebolla i inni, *Determination of hydrocarbon types in petroleum and coal-derived products by thin-layer chromatography/densitometry*, *Journal of AOAC International* 83 (2000) 1474.
- [41] L. Mamluk, *Technical Note: Berberine Hydrochloride for Detection (as a Detector) in Thin-Layer Chromatography*, *Journal of Chromatographic Science* 19 (1981) 53.

- [42] F. P. Cossio i inni, Berberine cation: *A fluorescent chemosensor for alkanes and other low-polarity compounds. An explanation of this phenomenon*, *Organic Letters* (2000) 2311.
- [43] V. L. Cebolla i inni, *Quantitative applications of fluorescence and ultraviolet scanning densitometry for compositional analysis of petroleum products in thin-layer chromatography*, *Journal of Chromatographic Science* 37 (1999) 219.
- [44] J. Gudebska, rozprawa doktorska, „Chromatografia cieczowa w oznaczaniu składu grupowego olejów bazowych i asfaltów drogowych” *Liquid chromatography for the determination of group type analysis of base oil and road asphalts*, Wydział Chemiczny Politechniki Gdańskiej, Gdańsk 1999.