

Analytische Methoden zum Mineralöl-Wasser-Boden-Komplex

CHRISTIAN RÜBELT

*Wasserlabor des Instituts für Hygiene und Mikrobiologie der Universität
des Saarlandes, Homburg/Saar*

ABSTRACT: Analytical methods regarding the mineral oil-water-soil-complex. This paper deals with examples of analyses and methods of identification of oil contaminants in water and soil used in our institute. A method has been developed for the qualitative as well as quantitative estimation of bacterial oil degradation products depending upon bacterial flora, limitation factors and different hydrocarbons or mineral oil products.

EINLEITUNG

Die analytische Bestimmung von Mineralöl wird durch die komplexe Zusammensetzung des Rohöls, dem Ausgangsmaterial der Mineralölprodukte, außerordentlich erschwert. Eine weitere Schwierigkeit liegt in den geringen Konzentrationen, die es in Boden und Wasser zu erfassen gilt, da schon Mengen von 1 mg/l (1 ppm) – bei verschiedenen Produkten noch geringere Konzentration – Trinkwasser ungenießbar machen bzw. negative Einflüsse auf Lebewesen im betroffenen Gewässer haben können.

Die folgenden qualitativen und quantitativen analytischen Fragen werden gestellt: (1) Welches Mineralölprodukt ist in der Wasser- oder Bodenprobe enthalten? (2) Welche Ölmengen sind in den Proben enthalten? (3) Welche chemischen, physikalischen und mikrobiologischen Veränderungen erfahren die Mineralölprodukte im Wasser und Boden?

Für die Bestimmung von Mineralöl im Wasser muß unterschieden werden zwischen Öl, das als Phase die Wasseroberfläche bedeckt, Öl, das sich emulgiert im Wasser befindet, und Ölbestandteilen, die echt gelöst im Wasser vorliegen.

Öl auf der Wasseroberfläche kann mit der Methode von EDELIN & BAARS (1967) bestimmt werden und muß auf die Oberfläche bezogen werden. Im Wasser gelöstes oder emulgiertes Öl wird in mg/l oder ppm angegeben. Der Ölgehalt in Bodenproben wird in mg auf 100 g Boden bezogen.

Ich möchte über die in unserem Institut in diesem Zusammenhang benutzten bzw. entwickelten Methoden berichten, um analytische Möglichkeiten aufzuzeigen. Die umfangreichen Untersuchungen, die zu diesen Methoden geführt haben, bleiben einer gesonderten Veröffentlichung vorbehalten (RÜBELT 1968).

METHODIK UND ERGEBNISSE

Die Analyse besteht aus den folgenden Schritten: Anreicherung, Extraktion, quantitative Bestimmung im Extrakt und Identifizierung des Öls im Extrakt.

Anreicherung

Zur Anreicherung benutzen wir Aktivkohlefilter, über die größere Mengen der zu untersuchenden Wasserprobe gepumpt werden. Die auf der Kohle so angereicherten Ölsuren werden dann aus der Kohle extrahiert. Eingehende Untersuchungen ergaben, daß mit Aktivkohle nur eine Anreicherung für die Identifizierung der Verunreinigung sinnvoll ist, nicht dagegen für die quantitative Ölbestimmung in der Wasserprobe; dafür ist die Ölmenge, die irreversibel auf der Kohle absorbiert wird, zu hoch.

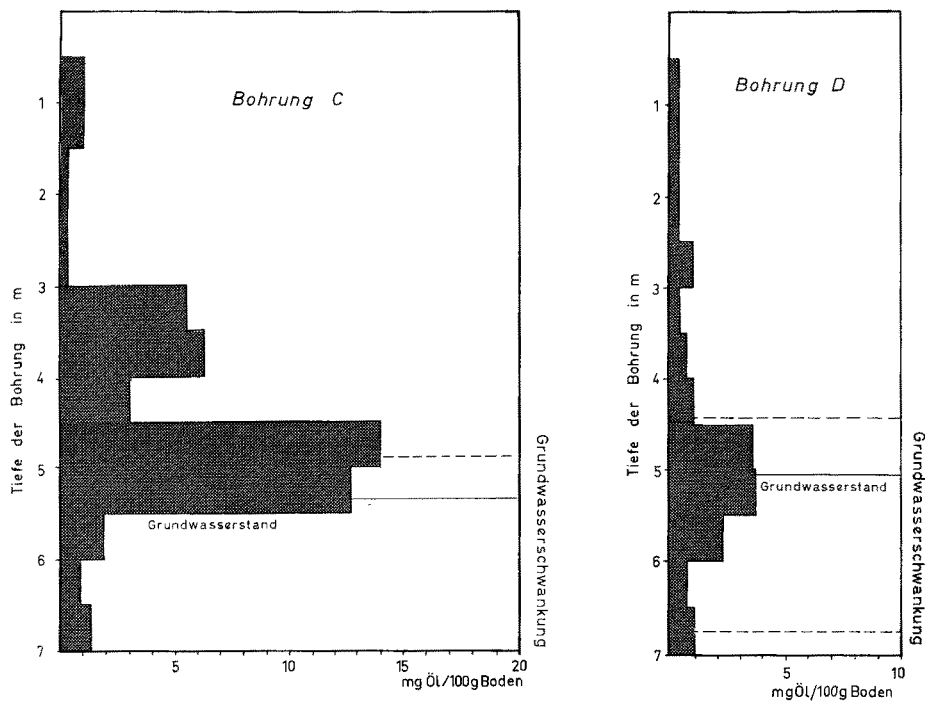


Abb. 1: Charakteristische Bohrkernuntersuchungen (Bohrung C und D)

Extraktion

Die Wahl des Extraktionsmittels wird durch die Art der anschließenden quantitativen Ölbestimmung im Extrakt festgelegt: Soll der Ölgehalt nach dem Verdampfen des Extraktionsmittels gravimetrisch bestimmt werden, verwendet man leichtflüchtige Lösungsmittel, um die Verluste der niedrigsiedenden Komponenten des „Öls“ niedrig

zu halten. Erfolgt die Bestimmung spektralphotometrisch im Infrarot-Bereich zwischen 3,3 und 3,5 μ , so wählt man Tetrachlorkohlenstoff – das einzige Lösungsmittel, das in diesem Bereich keine Eigenabsorption hat (SIMARD et al. 1951).

Quantitative Bestimmungen

Die IR-Methode ist die schnellste und genaueste „Öl“bestimmungsmethode. Obwohl die Überlegenheit dieser Methode wegen ihrer Anwendbarkeit auf alle Mineralölprodukte und ihrer einfachen Handhabung anderen Verfahren gegenüber durch verschiedene Untersuchungen bestätigt wurde (HEADINGTON 1953, LUDZACK & WHITFIELD 1956, LINDGREN 1957, RATHER 1958), blieb der Methode die allgemeine Anwendung wegen der hohen Kosten der IR-Spektralphotometer versagt. Es werden derzeit Versuche unternommen, ein Photometer zu bauen, mit dem Messungen auch im IR-Bereich durchgeführt werden können und das nur einen Bruchteil der heutigen IR-Geräte kosten soll.

Bei Analysen von Wasserproben (SAWYER & BEHNKE 1959, BÜRNER 1964, FASTABEND 1964, RÜBELT et al. 1967) nehmen wir die Proben von 1 l in Vierkantflaschen mit 1,5 l Fassungsvermögen, geben im Labor 25 ml CCl_4 zu und rühren mit einem hochtourigen Flügelrührer 30 sec. Der abgesetzte CCl_4 -Extrakt wird über wasserfreies Na_2SO_4 filtriert und je nach Konzentration in 50-, 10- oder 5-mm-Quarzküvetten im IR-Spektralphotometer zwischen 3,3 und 3,5 μ gemessen. Die Extinktion ist der Konzentration an „Öl“ direkt proportional.

Bei Analysen von Bodenproben wird von der feuchten Bodenprobe 1 kg in ein Probenglas eingewogen, mit 15 bis 20 g wasserfreiem Na_2SO_4 versetzt und das Glas mit Gummiring und Klammer verschlossen. Das Na_2SO_4 bindet das im Boden enthaltene Wasser in Form von Kristallwasser. Nach 12 Std. ist der Glasinhalt trocken, ohne daß flüchtige Mineralölteile verlorengehen. Die Proben werden dann mit CCl_4 versetzt. In den meisten Fällen reichen 150 ml für 1 kg Probe. Durch Umschütteln wird erreicht, daß sich der Tetrachlorkohlenstoff gleichmäßig verteilt. Für die Messung ist es ausreichend, wenn man von dem in der Bodenprobe verteilten 150 ml CCl_4 -Extrakt 15 ml (für 50-mm-Küvetten) herauspreßt. Die Messung erfolgt wieder im IR-Spektralphotometer zwischen 3,3 und 3,6 μ . Aus den Extinktionswerten läßt sich dann die Gesamtmenge „Öl“ pro kg Bodenprobe errechnen.

Bei Proben, die nicht mineralölspezifische organische Substanzen enthalten, z. B. Abwasser mit pflanzlichen und tierischen Fetten, Boden mit Huminstoffen oder Bodenwachsen, kann man durch Perkolation einer Säule von 5 g Al_2O_3 die Nichtkohlenwasserstoffe abtrennen. Auch hier muß nur eine Küvettenfüllung die Säule passieren.

In unserem Versuchsgelände bei Trier, wo vor 7 Jahren verschiedene Mineralölprodukte im Untergrund infiltriert wurden, konnten wir bei Bohrungen (vgl. Abb. 1, Bohrung C und D) mit diesem Verfahren die vertikale und horizontale Ausbreitung der Produkte im Boden feststellen.

Durch laufende Wasseranalysen in den Peilrohren können wir die weitere horizontale Ausbreitung des Öls verfolgen. Mit dieser Methode haben wir auch Schlammproben vom Bodensee auf ihren Mineralölgehalt hin untersucht.

Identifizierung der Ölprodukte

Für die Identifizierung des nachgewiesenen Öls haben wir den folgenden Analysengang entwickelt: Der Extrakt wird strichförmig auf eine Dünnschichtplatte von Kieselgel aufgetragen. Je nach der vorhandenen Menge arbeitet man mit Schichtdicken

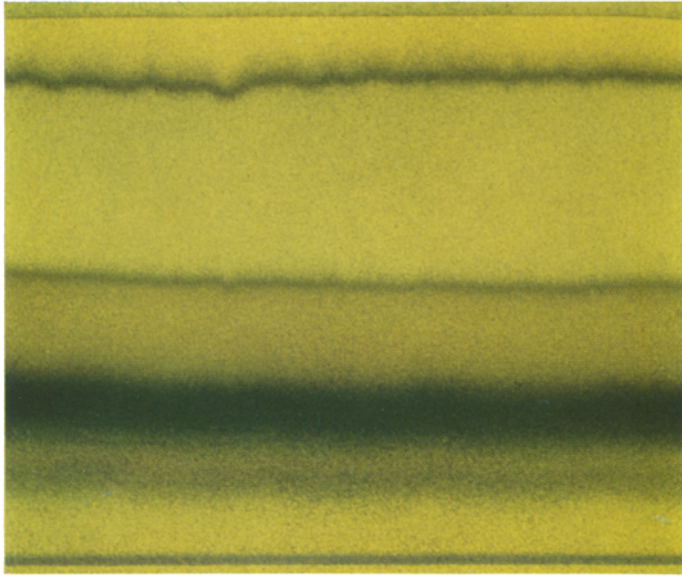


Abb. 2: Auftrennung von 100 μ l Dieselöl (Rheinpreußen) durch Adsorptions-DC an Kieselgel G, 0,5 mm Schichtdicke, Laufmittel n-Hexan, Laufzeit 35 min, Sprühreagenz 0,03 ‰ Uranin in Wasser

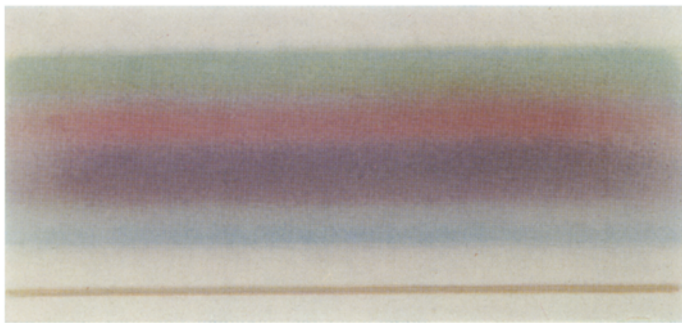


Abb. 3: Auftrennung wie in Abbildung 2 angegeben, unterer Teil mit Sprühreagenz 0,2 ml Formaldehydlösung (37 ‰) in 10 ml konz H_2SO_4

von 0,3 oder 0,5 mm. Zum strichförmigen Auftragen sollte man unbedingt eines der auf dem Markt befindlichen Auftragegeräte benutzen, da nur bei völlig gleichförmiger Startlinie eine Trennung in einzelne Banden erfolgen kann. Die Platte wird in n-Hexan

entwickelt. Nachdem das Laufmittel verflüchtigt ist, besprüht man mit einer 0,03%igen wäßrigen Uraninlösung und kann die Platte im UV-Lichtkasten betrachten (Abb. 2).

Der Extrakt hat sich in verschiedenen polare Verbindungsklassen getrennt. Aus diesem Bild lassen sich schon Rückschlüsse ziehen, ob es sich um eine Verunreinigung mit einem Teeröl- oder Mineralölprodukt handelt (KRIEGER 1960).

Besprüht man mit Schwefelsäure/Formaldehyd-Reagenz (KUCHARCZYK et al. 1963), so erkennt man die Aromaten als verschiedenfarbige Banden mit jeweils gleicher

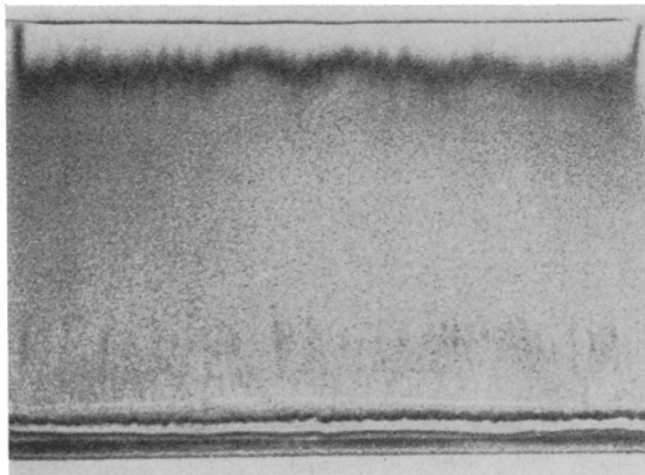


Abb. 4: Auftrennung der Paraffinfraktion aus Dieselöl (Rheinpreußen) in n- und iso-Paraffine auf Harnstoff-impregnierter Kieselgelplatte. Sprühreagenz 0,03 % Uranin in Wasser

Kernzahl (Abb. 3). Da alle Dieselöle und Heizöle EL im UV das gleiche Bild ergeben, erhält man mit diesem Reagenz eine Differenzierungsmöglichkeit.

Im obersten Band von Abbildung 2 befinden sich die Paraffine. Das Band wird von der Glasplatte abgesaugt, eluiert und die Paraffinlösung auf eine mit Harnstoff imprägnierte Kieselplatte wieder strichförmig aufgetragen. Bei der Entwicklung bilden die n-Paraffine an der Startlinie mit dem Harnstoff Einschlußverbindungen, während die iso-Paraffine mit der Laufmittelfront wandern (Abb. 4). Die n-Paraffine werden eluiert und gaschromatographisch aufgetrennt (Abb. 5). Eine direkte Einspritzung des verunreinigenden Produktes ohne Vortrennung ergibt kein klares Bild (Abb. 6). Aus dem Gaschromatogramm läßt sich der Siedeverlauf der Verunreinigung ermitteln und damit das Mineralölprodukt. Die Analyse dauert 4 Stunden.

Bei dem in den Abbildungen dargestellten Beispiel handelt es sich um einen massiven Öleinbruch in die Kläranlage einer Stadt am Bodensee, der die biologische Stufe und damit die ganze Kläranlage zum Erliegen brachte. Wir erhielten eine schwarzbraune, mit Wasser, Fett und Feststoffen vermischte abgeschöpfte Probe, die stark faulig roch. 100 μ l dieser Probe wurden für die Analyse benutzt. Die n-Paraffinverteilung erstreckte sich von $C_{13}H_{28}$ bis $C_{37}H_{76}$, mit dem Maximum bei $C_{22}H_{46}/C_{23}H_{48}$. Daraus ließ sich der Siedebereich der Probe von 200–500° C ableiten. Es muß ein leichtes bis

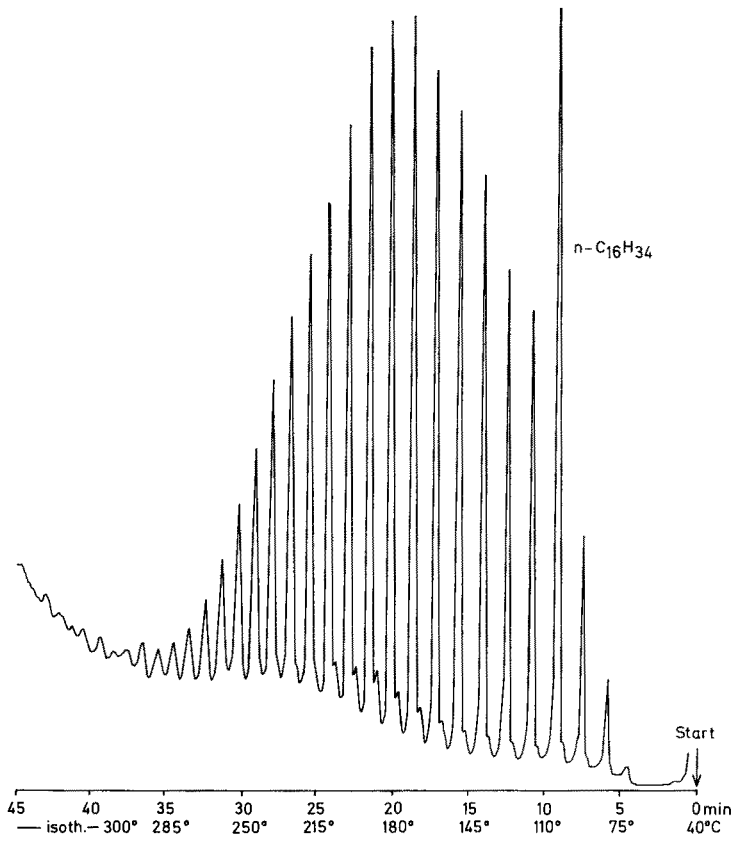


Abb. 5: Gaschromatogramm der n-Paraffinfraktion eines zu identifizierenden Mineralölproduktes. Zur Identifizierung wurde n-Hexadecan zugesetzt. Säule 1/8" Edelstahl, 120 cm, 0,5 %/o SE-30 auf Chromosorb W 60-80 mesh. Die Banden entsprechen den C_{13} - C_{37} -n-Paraffinen

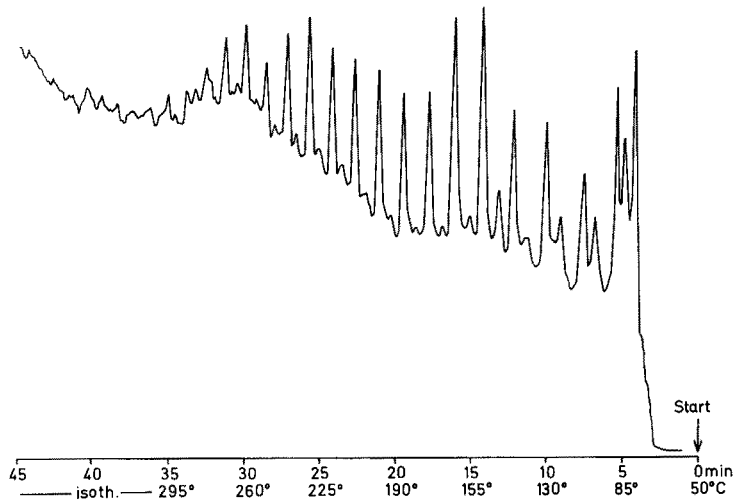


Abb. 6: Gaschromatogramm eines Mineralölproduktes ohne DC-Vortrennung. Gleiche Bedingungen wie in Abbildung 5 angegeben

mittleres Heizöl gewesen sein, das nur in größeren Anlagen, z. B. zur Kesselheizung, Verwendung findet.

Als unsere Nachweismethoden immer empfindlicher wurden und wir auch in unbeeinflussten Böden und Quellwässern Kohlenwasserstoffe fanden, standen wir vor dem Problem, herauszufinden, wie sich diese natürlich vorkommenden Kohlenwasserstoffe von solchen aus Mineralölprodukten unterscheiden. Die Analytik ist bis jetzt auf die Paraffine ausgerichtet, weil wir uns auf eine Verbindungsklasse beschränken mußten und die Paraffine den Hauptanteil der Mineralölprodukte bilden.

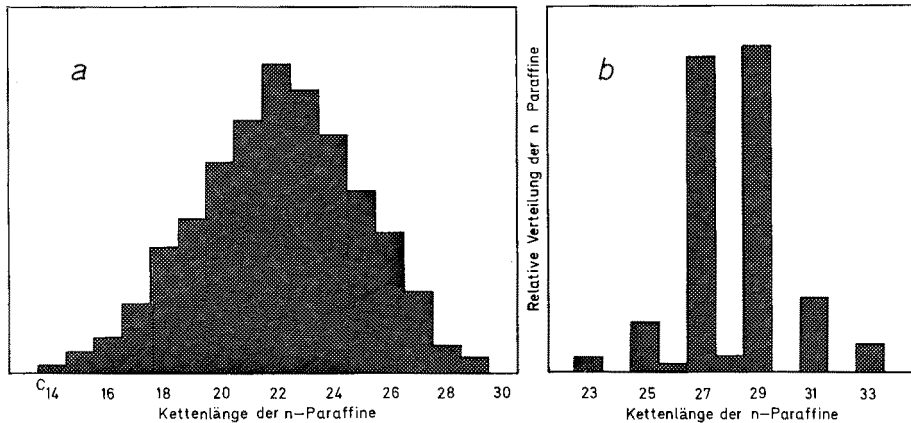


Abb. 7: Verteilung der n-Paraffine (a) in einem Mineralölprodukt, (b) in einer Bodenprobe aus 10 m Tiefe

Mit dem hier beschriebenen Verfahren ist es nicht nur möglich, Spuren eines Mineralölproduktes zu identifizieren, sondern auch zu entscheiden, ob die gefundenen Kohlenwasserstoffe natürlichen Ursprungs sind oder aus einer Verunreinigung mit einem Mineralölprodukt stammen.

Bei unseren Untersuchungen fanden wir heraus, daß die C-Zahlverteilung bei den n-Paraffinen der natürlichen Paraffine sich von der der Mineralölprodukte unterscheidet: Die natürlich vorkommenden Kohlenwasserstoffe enthalten fast nur ungeradzahlige n-Paraffine, während bei den Mineralölprodukten die Verteilung zwischen geradzahlig und ungeradzahlig 1:1 ist (Abb. 7). Zu analogen Ergebnissen kamen u. a. STEVENS 1956, STEVENS et al. (1956) und BRAY & EVANS (1961) bei der Untersuchung von Meer- und Seesedimenten.

Analytik des mikrobiellen Ölabbaues

Gegenwärtig entwickeln wir eine Analytik, um qualitative und quantitative Aussagen über die beim mikrobiellen Mineralölabbau gebildeten Stoffe machen zu können, und zwar in Abhängigkeit von der Bakterienflora, den limitierenden Faktoren und den verschiedenen Kohlenwasserstoffen bzw. Mineralölprodukten.

Vom mikrobiellen Abbau von n-Hexadecan in belüfteten Nährsalzlösungen liegen die ersten Ergebnisse vor. Die Bakterienmasse und das Substrat werden extrahiert und der Extrakt auf der Dünnschichtplatte aufgetrennt (Abb. 8). Durch die mitgelaufenen Testsubstanzen lassen sich die einzelnen Verbindungsklassen im Extrakt identifizieren. Diese Flecken oder Banden werden von der Platte abgesaugt, eluiert und gaschromatographisch in die einzelnen Verbindungen aufgetrennt.

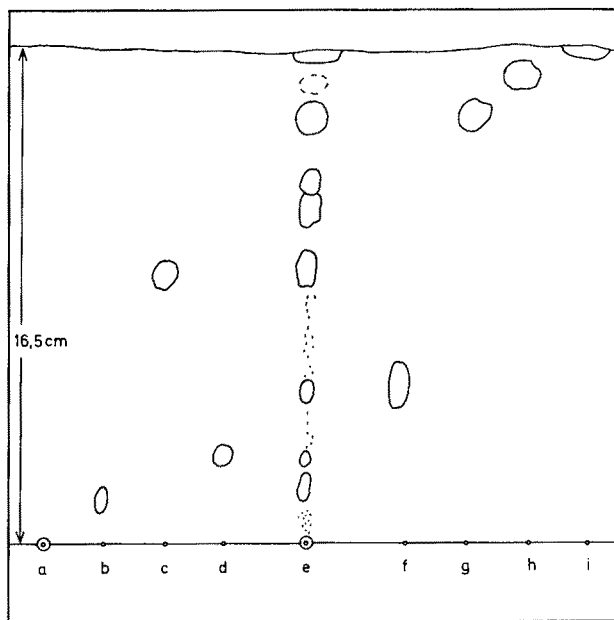


Abb. 8: Trennung der beim mikrobiellen Abbau von n-Hexadecan gebildeten Stoffe durch Adsorptions-DC an Kieselgel G sauer. Fließmittel n-Hexan-Diäthyläther, 85 + 15, Laufzeit 40 min, Sprühreagenz 0,03 % Uranin in Wasser. (a) mono-, (b) di-, (c) tri-Glycerinstearat, (d) Cetylalkohol, (e) Abbauprodukt, (f) Palmitinsäure, (h) Myristinaldehyd, (g) n-Decylstearat, (i) n-Hexadecan

Unsere Ergebnisse bestätigen die Arbeiten von STEWART & KALLIO (1959) und STEWART et al. (1959), daß beim Abbau von n-Hexadecan der Ester der C_{16} -Säure und des C_{16} -Alkohols, das Cetylpalmitat, ein Endprodukt darstellt. Zumindest in diesem einen von uns bisher untersuchten Fall kann man mit Sicherheit sagen, daß das Paraffin nicht vollständig zu CO_2 und Wasser abgebaut wird. Veränderungen in der Gasphase sowie die gasförmigen Stoffwechselprodukte werden im Massenspektrometer analysiert.

ZUSAMMENFASSUNG

1. An Hand von Anwendungsbeispielen aus der Praxis wird über die in unserem Institut angewandten Methoden zum Nachweis und zur Identifizierung von Mineralölverunreinigungen in Wasser- und Bodenproben berichtet.

2. Für die beim mikrobiellen Mineralölabbau gebildeten Stoffe wird eine Analytik entwickelt, mit der es möglich ist, Cetylpalmitat als ein Endprodukt des n-Hexadecan-Abbaus zu identifizieren.

Mein Dank gilt Herrn Dr. SCHWEISFURTH, der die mikrobiologischen Versuche fachlich betreute, Herrn Dipl.-Ing. PENZES, der die Analytik für den mikrobiellen Ölabbau entwickelte, und Herrn GOTTHEIT für die Anfertigung der Abbildungen.

ZITIERTE LITERATUR

- BRAY, E. E. & EVANS, E. D., 1961. Distribution of n-paraffins as a clue to recognition of source beds. *Geochim. cosmochim. Acta* **22**, 2–15.
- BÜRNER, K., 1964. Quantitative Messungen im Bereich der OH-, NH- und CH-Valenzschwingungen. *Beckman Report* **3**, 14–18.
- EDELIN, M. F. & BAARS, J. K., 1967. Water pollution; analysis of hydrocarbons. *OECD-Report, Paris*, 4–5.
- FASTABEND, W., 1964. Ölverschmutzung in Wasser und Gewässern, Nachweis und quantitative Bestimmung mit dem IR-Spektrophotometer. *Dechema-Monogr.* **52**, 85–98.
- HEADINGTON, C. E., 1953. Methods for determining hydrocarbons and phenols in water. *Analyt. Chem.* **25**, 1681–1685.
- KRIEGER, H., 1960. Identifizierung von Mineralölen in Böden mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie. *Gesundheitsingenieur* **81**, 311–312.
- 1963. Über ein neues Verfahren zum Nachweis und zur Identifizierung von Mineralölen im Boden auf chromatographischem Wege. *Gas- u. WassFach* **104**, 695–698.
- KUCHARCZYK, N., FOHL, J. & VYMĚTAL, J., 1963. Dünnschichtchromatographie von aromatischen Kohlenwasserstoffen und einigen heterocyclischen Verbindungen. *J. Chromat.* **11**, 55–61.
- LINDGREN, C. G., 1957. Measurement of small quantities of hydrocarbon in water. *J. Am. Wat. Wks Ass.* **49**, 55–63.
- LUDZACK, F. J. & WHITFIELD, C. E., 1956. Determination of high boiling paraffin hydrocarbons in polluted water. *Analyt. Chem.* **28**, 157–160.
- RATHER, J. B., 1958. Determination of oil in refinery effluent waters. *Analyt. Chem.* **30**, 36–40.
- RÜBELT, C., 1966. Spurennachweis von Mineralölprodukten in Bodenproben mit der IR-Spektrophotometrie. Analytiker-Tagung vom 13. bis 16. April 1966 in Lindau/Bodensee. *Z. analyt. Chem.* **221**, 299–304.
- 1968. Aussagekraft der analytischen Methoden zur Mineralölspurenbestimmung in Boden- und Wasserproben. Saarbrücken, Math.-nat. Diss. 1968.
- SCHWEISFURTH, R. & ZIMMERMANN, W., 1967. Experimentaluntersuchungen über die Verschmutzung von Grundwasser durch Mineralölprodukte. T. 2. *Gas- u. WassFach* **108**, 893–900.
- SAWYER, R. R. & BEHNKE, F.W., 1959. Water pollution analysis using low cost infrared spectrophotometer. The Pittsburgh Conference on analytical chemistry and applied spectroscopy, March 1959. (Vgl. Abwasseranalyse mit Ultrarot-Spektrophotometern niedriger Preislage. 1960. Perkin-Elmer, Überlingen. *Tips für die Praxis* **5UR**.)
- SIMARD, R. G., HASEGAWA, J., BANDARUK, W. & HEADINGTON, C. E., 1951. Infrared spectrophotometric determination of oil and phenols in water. *Analyt. Chem.* **23**, 1384–1387.
- STEVENS, N. P., 1956. Origin of petroleum. *Bull. Am. Ass. Petrol. Geol.* **40**, 51–61.
- BRAY, E. E. & EVANS, E. D., 1956. Hydrocarbons in sediments of Gulf of Mexico. *Bull. Am. Ass. Petrol. Geol.* **40**, 975–983.
- STEWART, J. E. & KALLIO, R. E., 1959. Bacterial hydrocarbon oxidation. II. Esters formation from alkanes. *J. Bact.* **78**, 726–730.
- KALLIO, R. E., STEVENSON D. P., JONES, A. C. & SCHISSLER, D. O., 1959. Bacterial hydrocarbon oxidation. I. Oxydation of n-hexadecane by a gram-negative coccus. *J. Bact.* **78**, 441–448.