

Ölabbauende Mikroorganismen in Natur und Technik

KARL HEINZ WALLHÄUSSER

*Mikrobiologisches Untersuchungslabor, Farbwerke Hoechst AG,
Frankfurt/M.-Höchst*

ABSTRACT: Oil decomposing microorganisms in nature and technique. The paper deals with the isolation of microorganisms from oil fields, underground gas reservoirs, sulfur springs, oil tanks, jet fuel tanks, and cutting oils. The role of *Desulfovibrio desulfuricans* in secondary oil recovery is discussed. Experiments regarding the oil degradation by microorganisms were conducted. Possibilities of "assisting nature" by adding cultures of bacteria to oil polluted waters are discussed.

EINLEITUNG

Der Ölabbau durch Mikroorganismen, von welcher Seite man ihn auch betrachtet, spielt heute eine bedeutende Rolle. Während es der Erdölindustrie bei der Ölförderung zunächst darum geht, diese mikrobiellen Einflüsse, die zu einer Porenverengung in der Lagerstätte und zu Korrosionserscheinungen in den Förderanlagen führen können, weitmöglichst auszuschalten, trägt sie sich auf der anderen Seite mit dem Gedanken, mit Hilfe dieser eben noch unliebsamen Mikroorganismen Erdöl zu fraktionieren, um so aus bisher unverwertbaren Rückständen Futtereweiß zu gewinnen. In den Endprodukten der Erdölraffinerien wiederum sind Mikroorganismen unerwünscht, da sie in den Lagertanks, in den Treibstofftanks der Flugzeuge und in Heizöltanks zu Korrosionserscheinungen (Lochfraß) und Emulsionsbildung führen können. Was aber geschieht nun beispielsweise mit dem Heizöl im Erdboden, wenn ein Ölheizungstank undicht geworden ist oder ein Tankwagen bei einem Unfall ausläuft? Wird das Öl, das sich wie eine Linse im Erdreich ausbreitet, durch die dort vorhandenen Mikroorganismen abgebaut, und welche Zeiträume sind dazu nötig? Dieser Frage wird in der vorliegenden Darstellung nachgegangen. Es muß betont werden, daß wir bei unseren Untersuchungen nur an kleinere Katastrophenfälle gedacht haben, wobei höchstens einige tausend Liter Öl auslaufen. Zur Vernichtung der dabei auftretenden Öllinsen haben wir zwei Möglichkeiten untersucht: (1) die Beimpfung dieser Öllinsen mit ölabbauenden Mikroorganismen unter aeroben und anaeroben Verhältnissen und (2) den Zusatz von Trockenzellen oder Enzympräparaten aus solchen ölabbauenden Mikroorganismen zu der ausgebagerten Erde, um so (eventuell unter Belüftung) zu einem rascheren Ölabbau zu gelangen. Im folgenden soll über die dazu durchgeführten qualitativen Laboratoriumsversuche berichtet werden. Die quantitative Auswertung der

noch nicht abgeschlossenen Untersuchungen wird zu einem späteren Zeitpunkt mitgeteilt werden.

MATERIAL UND METHODEN

Die bei unseren Abbaueversuchen eingesetzten Mikroorganismen wurden aus Erdölgaslagerstätten, Erdgaslagerstätten, Untertagegasspeichern, Schwefelquellen, Raffinerietanks, Düsentreibstofftanks von Flugzeugen, Heizöltanks und aus Bohr- und Schneidölen isoliert. Bei diesen Isolierungen galt unser Hauptaugenmerk jedoch zunächst jenen Organismen, welche durch die von ihnen verursachten Störungen der erdölfördernden Industrie erheblichen Schaden zufügen. Dies führte zwangsläufig zu einer gewissen Einseitigkeit, da die Begleitmikroorganismen vernachlässigt wurden. Erst zu einem späteren Zeitpunkt, bei der Untersuchung von Untertagegasspeichern und Ölspeichern, wurde die an Ort und Stelle vorliegende Mikroflora in ihrer Gesamtheit betrachtet.

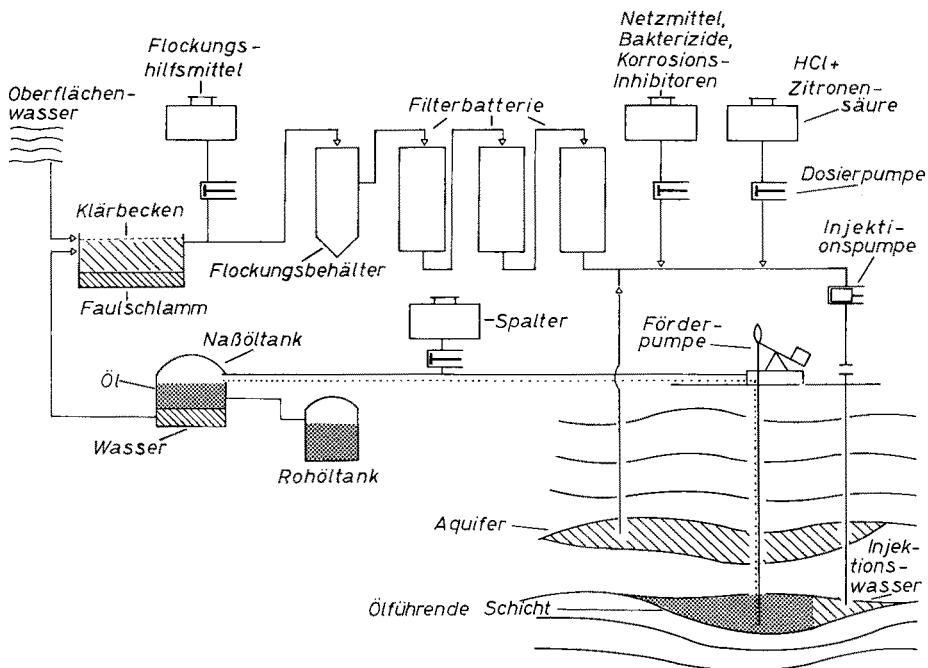


Abb. 1: Schema einer Sekundärförderung zur Gewinnung von Erdöl

BASTIN (1926) fand in 28 von 30 untersuchten Wasserproben aus amerikanischen Ölfeldern *Desulfovibrio desulfuricans*. Sicherlich kommen in diesen Ölfeldwässern noch zahlreiche andere Mikroorganismen vor, doch konzentrierte sich das Interesse auf diese anaeroben H₂S-produzierenden Desulfovibrionen, weil sie für die mikrobielle Korrosion in Erdölförderanlagen, besonders bei der sogenannten Sekundär-

förderung, verantwortlich sind. Weiterhin können sie in den Ölsandlagerstätten zu einer Reduzierung der Permeabilität führen, wobei nach MERKT (1943) die Minderung der Durchlässigkeit bis zu 30 % betragen kann. Das Vorkommen dieser Bakterien in Öllagerstätten berechtigt zur Annahme, daß sie in der Lage sind, Öl abzubauen oder sich von Ölbegleitstoffen zu ernähren. Aus deutschen, österreichischen, rumänischen, afrikanischen, arabischen und mittelamerikanischen Öllagerstätten sowie deutschen und österreichischen Untertagegasspeichern und Schwefelquellen wurden in der Folgezeit mehr als 100 *Desulfovibrio*-Stämme isoliert. Hinsichtlich der Unterdrückungsmöglichkeiten solcher Infektionen wurden einige Stämme näher untersucht (WALLHÄUSSER 1965). Dabei zeigte sich, daß sich diese Organismen hinsichtlich ihrer Hitze- und Kochsalztoleranz ganz erheblich unterscheiden, sich aber verhältnismäßig schnell an

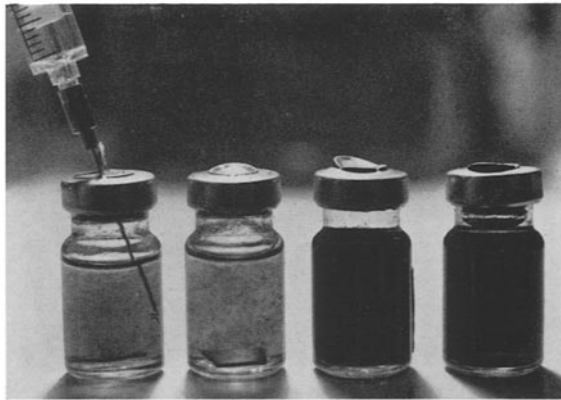


Abb. 2: Testbesteck zum Nachweis von *Desulfovibrio desulfuricans*. In die linke Flasche wird die zu untersuchende Wasserprobe mit einer Injektionsspritze eingebracht. Die beiden rechten Flaschen zeigen eine positive Reaktion, das heißt die Bildung von Eisensulfid

die abiotischen Gegebenheiten anpassen können. Dabei ist das Verhalten im Laboratoriumsversuch nicht immer mit den natürlichen Gegebenheiten in Übereinstimmung zu bringen. So fand WALLHÄUSSER (1965), daß der aus einer Lagerstätte mit einer Temperatur zwischen 120–140° C isolierte Stamm Landau im Laborversuch nur 70° C toleriert und bei 80° C bereits nach 15 Minuten abstirbt.

Nicht immer sind diese Desulfovibrionen autochthon, häufig werden sie mit dem Einpreßwasser bei der Sekundärförderung in die Lagerstätte eingeschleppt (Abb. 1). Eine Bekämpfung einer solchen Lagerstätteninfektion mit Bakteriziden hat jedoch nur dann Erfolg, wenn das Injektionswasser nach Passieren des Klärbeckens und der Filteranlagen behandelt wird.

Das aus Oberflächenwässern (Bächen, Teichen), aus einem über der Öllagerstätte liegenden Aquifer oder aus den Naßöltanks stammende „Injektionswasser“ ist häufig mit Desulfovibrionen infiziert. Rührt man ein Klärbecken auf, in dem die Wässer verschiedener Herkunft meistens vorher vereinigt werden, so beobachtet man die auf die Tätigkeit der Desulfovibrionen zurückzuführende Schwarzfärbung durch Bildung von Eisensulfid.

Beim Nachweis dieser Mikroorganismen in dem Einpreßwasser stößt man dann auf Schwierigkeiten, wenn es sich um Wasser verschiedener Herkunft mit unterschiedlichem Kochsalzgehalt handelt. Der Kochsalzgehalt wird vor dem Einpressen auf eine für die Lagerstättenverhältnisse optimale Konzentration eingestellt, die sich nach den für das Porenvolumen wichtigen Quellungsverhältnissen der darin vorkommenden Tonbestandteile richtet. Der optimale Kochsalzgehalt schwankt dabei zwischen 4 bis 15 ‰. Wird das Injektionswasser nun mit einem Testbesteck geprüft (Abb. 2), dessen Kochsalzgehalt dem des Injektionswassers von z. B. 6 ‰ NaCl entspricht, so lassen sich damit die aus dem zugeführten Süßwasser stammenden Desulfovibrionen nicht

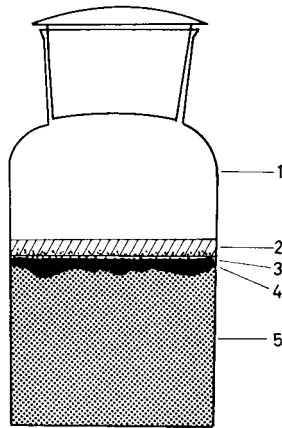


Abb. 3: Laborversuch zur Demonstration des Ölabbaues durch *Desulfovibrio desulfuricans*. In der Wachstumszone tritt infolge der Schwefelwasserstoffbildung und dessen Reaktion mit Eisensulfat eine Schwarzfärbung ein. Öl wird hier als alleinige Kohlenstoffquelle verwertet. 1 = Glasflasche (500 ml), 2 = Ölschicht (1 cm hoch), 3 = Grenzschicht Öl-Sand, 4 = Schwarzfärbung durch Wachstum von *Desulfovibrio desulfuricans*, 5 = Quarzsand (mit Mineralsalzlösung angefeuchtet)

nachweisen. Das Wasser wird dann oft als „einwandfrei“ injiziert, enthält aber Süßwasserstämme, die sich in der Lagerstätte innerhalb kürzester Frist an die neuen Bedingungen, den höheren Kochsalzgehalt, anpassen und später Porenverengung und Lochfraß verursachen. Eine solche Fehlbeurteilung läßt sich nur vermeiden, wenn man mit verschiedenen Testbestecken mit abgestufter Kochsalzkonzentration (0; 1; 3; 10 und 15 ‰) arbeitet.

Auch bei den von WALLHÄUSSER & PUCHELT (1966) untersuchten Schwefelquellen spielt Öl zum Teil als Nährstoff für die schwefelwasserstoffproduzierenden Desulfovibrionen eine Rolle (Bad Wiessee). Dabei ist jedoch in jedem Falle der Sulfatgehalt des Wassers von ausschlaggebender Bedeutung und tritt als begrenzender Faktor auf. Unter Bakterizidbehandlung niedergebrachte Bohrungen zur Erschließung von Untertagegasspeichern haben in den beiden letzten Jahren gezeigt (WALLHÄUSSER, in Vorbereitung), daß nicht immer „sterile Speicher“ erschlossen werden können, sondern daß häufig, insbesondere wenn in dem Lagerstättenwasser Spuren von Erdöl oder Erdgas und Sulfat vorhanden sind, bereits Desulfovibrionen und 2 bis 3 weitere

Bakterien in einer Gesamtkeimzahl bis zu 1 Million/ml anzutreffen sind. Es muß angenommen werden, daß es sich hier um Mikroorganismen handelt, die durch Verwerfungszonen in die etwa 400 bis 600 m unter der Erdoberfläche im Buntsandstein und Keuper liegenden, für die Untertagegasspeicherung vorgesehenen Schichten eingewandert sind.

Neben *Desulfovibrio* wurden in den verschiedensten Lagerstätten und Öltanks sowie in Bohr- und Schneidölen Arten der Gattungen *Pseudomonas*, *Micrococcus* (vermutlich *Micrococcus paraffinae*), *Sarcina* und *Hormodendron* im Düsentreibstoff nachgewiesen.

In den vorliegenden Untersuchungen haben wir uns zunächst auf den Ölabbau durch *Desulfovibrio desulfuricans*-Stämme und *Hormodendron spec.* beschränkt. Für die Durchführung der Versuche wurden praxisnahe Bedingungen gewählt (Abb. 3).



Abb. 4: Das in einem Bohrkern enthaltene Öl dient hier als Kohlenstoffquelle für *Desulfovibrio desulfuricans*. Die Vergleichskultur links verwendet Calciumlactat als C-Quelle

Glasflaschen (500 ml) wurden mit Quarzsand gefüllt und nachher mit einer Mineralsalzlösung ($0,2 \text{ g MgSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$; $0,1 \text{ g Fe (NH}_4)_2 (\text{SO}_4)_2 \cdot 6 \text{ H}_2\text{O}$; $0,1 \text{ g Fe SO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$; 1000 ml Aqua dest; pH 7,2) bis etwa 1 cm unter der Oberfläche aufgefüllt (Abb. 3). Bei den *Desulfovibrio*-Versuchen wurden dem Sand 20 Eisenplättchen (je 1 cm^2) zugesetzt. Anschließend wurde mit einer mehrere Tage (3 bis 5 Tage) alten Kultur von *Desulfovibrio desulfuricans*-Stämmen beimpft und der Ansatz dann mit 25 ml Öl überschichtet. Auf diese Weise wurde der Abbau von Rohöl und Heizöl durch 20 verschiedene *Desulfovibrio*-Stämme untersucht.

Um die Bedeutung großer Berührungsflächen zwischen Öl und Wasser zu demonstrieren, wurden in einer weiteren Versuchsserie ölhaltige Bohrkern in einen Meß-

zylinder in die obengenannte, lediglich mit einem Zusatz von 0,2 % Agar versehene Mineralsalzlösung eingehängt (Abb. 4). Die Beimpfung erfolgte auch hier mit *Desulfovibrio desulfuricans*. Als Vergleich diente ein Ansatzgefäß, in dem Calciumlactat als C-Quelle diente.

Der aus Düsentreibstoff isolierte Pilz *Hormodendron spec.* entwickelt sich, wie Abbildung 5 zeigt, ebenfalls an der Berührungszone Treibstoff – Wasser, wobei später das Mycel in die Wasserphase absinkt. In so angelegten Standkulturen, in denen die Wasserphase (pH 5,5) auf 1 Liter 2 g NaNO₃, 1 g KH₂PO₄, 0,5 g MgSO₄ · 7 H₂O, 0,01 g FeSO₄ und 0,5 g KCL enthielt, entwickelte sich der Pilz sehr langsam. Als Kohlenstoffquelle diente hierbei Düsentreibstoff. Sichtbares Wachstum trat in diesen Ansätzen erst nach 3 bis 4 Wochen auf.

Zur Ergänzung dieser Versuche wurden von diesem aerob wachsenden Pilz Schüttelkulturen in 300 ml Erlenmeyerkolben mit 80 ml der oben genannten Mineralsalzlösung und unter Zusatz von 1 bis 5 % Düsentreibstoff, Heizöl bzw. Rohöl angelegt. Der Ölabbau wurde hierbei nicht mit chemischen Methoden bestimmt, sondern das Mycel wurde nach 10 Tagen abgeschleudert, mit Methylenchlorid gewaschen, 24 Std. bei 100° C getrocknet, und anschließend das Trockengewicht bestimmt. Gewaschenes Mycel aus diesen Ansätzen wurde anschließend zu „ölverschmutztem Sand“, entsprechend dem Versuchsansatz in Abbildung 3, zugesetzt und auch hier der Ölabbau über einen längeren Zeitraum verfolgt, wobei in einigen Versuchen der Sand (Erdboden) mit Hilfe von Sonden belüftet wurde.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

In unseren Versuchsreihen dienten Rohöl, Heizöl bzw. Düsentreibstoff oder die darin enthaltenen Produkte als einzige Kohlenstoffquelle. Bei Ausnutzung dieser C-Quellen mußte in der auf Abbildung 3 gezeigten Versuchsanordnung, bei der Entwicklung von *Desulfovibrio desulfuricans*, durch dessen Schwefelwasserstoffbildung eine Schwarzfärbung (Eisensulfidbildung) auftreten. In der Regel beobachtete man diese Reaktion nach 2 bis 3 Wochen im Bereich der Berührungszone zwischen Öl und Mineralsalzlösung. Hätten bei diesen Versuchen in den Ölen enthaltene wasserlösliche Produkte eine Rolle gespielt, so wären diese sicherlich auch in den tieferen Bereich der Sandkultur diffundiert und es hätte dann auch dort zu einer Schwarzfärbung kommen müssen. Dies wurde jedoch in keinem Falle beobachtet. Der Ölabbau erfolgte in diesen Ansätzen nur sehr langsam, und selbst nach einem Jahr war keine nennenswerte Abnahme der überstehenden Ölschicht festzustellen.

Wesentlich rascher stellte sich die Entwicklung von *Desulfovibrio desulfuricans* bei der auf Abbildung 4 gezeigten Versuchsanordnung ein. Wir führen diese Tatsache auf die größere Berührungsfläche zwischen Öl und Wasser, also die feinere Verteilung des Öls zurück. Dieser Versuch demonstriert zugleich die Verhältnisse bei der Sekundärförderung von Erdöl aus einer Ölsandlagerstätte. Durch die großen Berührungsflächen zwischen Öl und Wasser im Porenraum der Lagerstätte kommt es dort zu einer raschen Vermehrung von *Desulfovibrio desulfuricans*. Ganz anders liegen die Verhältnisse bei einer „Ölblase“ oder einer „Öllinse“, wie sie beispielsweise beim Auslaufen eines Öl-

tanks im Erdboden entstehen können. Hier ist die Angriffsfläche für die ölabbauenden Mikroorganismen sehr klein, und der Abbau vollzieht sich über lange Zeiträume. Wäre es anders, so hätten sich unsere Ölvorräte in den kompakten Lagerstätten wohl kaum über Jahrmillionen halten können. Dieser Versuch zeigt zugleich, daß bei der Lagerung von Kohlenwasserstoffen in Untertagespeichern (zur Vorratshaltung) dem Kavernenspeicher (kompakte Lagerung) vor dem Aquifer-Speicher (Lagerung im porösen, teilweise wassergefüllten Raum) der Vorrang einzuräumen ist.

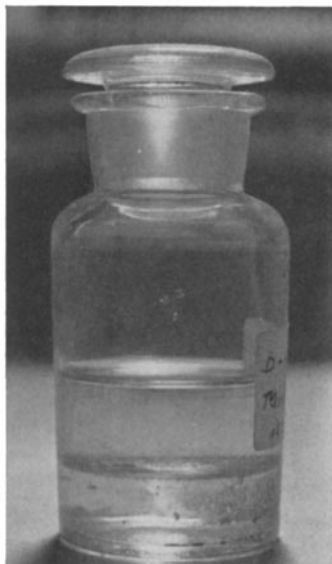


Abb. 5: An der Grenzschicht zwischen Düsentreibstoff und Wasser entwickelt sich der Pilz *Hormodendron*. Das Pilzmycel sammelt sich stets nur in der Wasserphase, nie in dem Treibstoff an

Auch die Ölabbau-Versuche im Quarzsand-Gefäß mit zugesetztem, gewaschenem Mycel von *Hormodendron spec.* verliefen unbefriedigend. Zugesetzte Emulgatoren beschleunigten zwar zunächst den Abbau, wurden aber dann, wie wir es vorher schon bei Bohr- und Schneidölen beobachtet hatten, sehr rasch von den Mikroorganismen abgebaut (Abb. 5). Über den Ölabbau durch *Hormodendron spec.* und Streptomyceten, jeweils 10 Stämmen der grauversporenden *griseus*-Gruppe und der grünversporenden *prasinus*-Gruppe, in Schüttelkulturen wird zu einem späteren Zeitpunkt an anderer Stelle berichtet werden.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Praxisnahe Versuche mit ölabbauenden Mikroorganismen, insbesondere Stämmen von *Desulfovibrio desulfuricans* und *Hormodendron spec.*, die aus verschiedenen Öllagerstätten und Öltanks isoliert wurden, haben gezeigt, daß der Abbau einer geschlossenen Ölschicht nur sehr langsam erfolgt.

2. Nach den gewonnenen Ergebnissen dürfte es unwahrscheinlich sein, eine beispielsweise durch Auslaufen eines Öltanks im Boden entstandene „Öllinse“ durch Zusatz von geeigneten, ölabbauenden Mikroorganismen innerhalb weniger Tage zu beseitigen, um so die Gefahr der Ölverschmutzung des Trinkwassers zu bannen.

ZITIERTE LITERATUR

- BASTIN, E. S., 1926. The problem of the natural reduction of sulphates. *Bull. Am. Ass. Petrol. Geol.* **10**, 1270.
- MERKT, E. E., 1943. Thesis, Austin, Univ. of Texas.
- WALLHÄUSSER, K. H., 1965. Mikrobiologische Untersuchungen über Flutwässer bei der Erdölgewinnung. *Erdöl Kohle* **18**, 357–360.
- 1968. Untersuchungen über die Tätigkeit von Mikroorganismen in Untertagegasspeichern. *Erdöl Kohle*. (In Vorber.)
- & PUCHELT, H., 1966. Sulfatreduzierende Bakterien in Schwefel- und Grubenwässern Deutschlands und Österreichs. *Contr. Mineral. Petrol* **13**, 12–30.