

CHEMISCHE ÄNDERUNGEN WÄHREND DER MIKROBIOLOGISCHEN ENTPARAFFINIERUNG VON ERDÖLPRODUKTEN

Von

E. NEUMANN und E. VÁMOS

Lehrstuhl für Chemische Technologie, Technische Universität Budapest
und Institut für Hochdruckforschung

(Eingegangen am 25. Juli 1968)

Vorgelegt von Dr. I. SZEBÉNYI

Einleitung

Ein viel untersuchtes Problem der Erdölindustrie ist in letzter Zeit die mikrobiologische Verarbeitung von Kohlenwasserstoffen [1—7, 11—16] unter gleichzeitiger Herstellung von Futterhefen. Bisher wurde jedoch den Änderungen der Zusammensetzung des Öles und der wasserlöslichen Produkte wenig Aufmerksamkeit gewidmet [8, 9, 10]. Die nach mikrobiologischer Behandlung zurückbleibende Ölfraction wird zumeist als Abfallprodukt betrachtet und daher nicht eingehend untersucht. Demgegenüber ist zu bemerken, daß ja einerseits selbst die Zusammensetzung dieser Abfallprodukte wichtig sein kann, da sie mindestens noch als Heizmittel zu verwerten sind, andererseits aber muß noch erwähnt werden, daß in gewissen Fällen das entparaffinierte Öl zu wertvollen Produkten verarbeitet werden kann. Der Erdöltechnologe interessiert sich für diese Produkte, da diese als arktische Treibstoffe oder Öle eingesetzt werden können, falls eine entsprechende Nachraffination möglich ist. Der Mikrobiologe interessiert sich für die Zusammensetzung dieser Produkte wegen der Möglichkeiten, die zur Aufklärung des Mechanismus der mikrobiologischen Oxidation dadurch geboten werden.

Insbesondere kann die bei dem Prozeß anfallende wässrige Phase und deren Zusammensetzung besonders aufschlußreich sein.

Vom Standpunkt des Erdöltechnologen ist es wichtig, zu wissen, daß in der Literatur den kohlenwasserstoffassimilierenden Mikroorganismen zumeist eine Selektivität gegenüber Normalparaffinen zugeschrieben wird. Es ist jedoch bekannt, daß der technische Paraffingehalt von Schmieröldestillaten, also jener Anteil, der den hohen Stockpunkt verursacht, nicht ausschließlich aus Normalparaffinen besteht. Nach Literaturangaben [8, 9] enthalten aus Schmieröldestillaten hergestellte Paraffinwachse bis zu 30% Moleküle, in welchen Ringstrukturen vorhanden sind. Es können mono- oder sogar polyzyklische Naphthene und Aromaten vorhanden sein.

Unter Anwendung der in der Literatur erwähnten Stämme und Versuchsbedingungen, kann dementsprechend eine ausreichende Herabsetzung

des Stockpunktes von höheren Schmieröldestillaten nur in Spezialfällen erreicht werden. Es besteht also eine gewisse Analogie zur Entparaffinierung nach der Harnstoffaddukt-Methode, mit der bekannterweise Schmierölfractionen ebenfalls nicht vollständig entparaffiniert werden können, da wachsartige Bestandteile mit Ringstrukturen zurückbleiben.

Ein technologisch besonders wertvoller Prozeß ist die mikrobiologische Entparaffinierung von Übergangsfractionen, deren Siedebereich zwischen den Dieseltreibstoffen und den Schmierölfractionen liegt und die etwa in das Gebiet niedrigsiedender Spindelölfractionen fallen. Es soll im folgenden ausschließlich über Fermentationsuntersuchungen berichtet werden, die an derartigen Produkten ausgeführt wurden. Zweck dieser Untersuchungen, deren mikrobiologischer Teil im Institut für Pharmazeutische Chemie durchgeführt wurde, war gerade die Herstellung solcher mittlerer Ölprodukte. An dieser Stelle wird aber ausschließlich über solche Nebenprodukte des Verfahrens berichtet, die für die Erdölindustrie entweder als Zielprodukte, oder als schädliche korrosive Verunreinigungen von Interesse sind.

Versuchsmethoden

Zur Ermittlung der Strukturänderungen von Schmierölen während einer mikrobiologischen Behandlung wurden Leichtöle ungarischer und sowjetischer Herkunft untersucht. Tabelle 1 zeigt die Eigenschaften der Rohstoffe einer zu diesem Zweck ausgeführten Versuchsreihe.

Tabelle 1
Eigenschaften der Rohstoffe

	Romasch- kinsker Leichtöl	Ungarisches Leichtöl	Muchanowsker	
			Leichtöl	Mittelöl
Dichte, d_4^{15}	0,890	0,875	0,885	0,898
Viskosität cSt/50	11,53	10,89	3,17	9,47
Stockpunkt °C	+14	+34	+39	+15
Säurezahl mg KOH/g	0,82	0,84	0,66	0,60
S gew.%	0,50	0,20	0,34	0,31
C gew.%	86,7	86,4	87,1	86,8
H gew.%	12,8	13,3	12,6	12,8
IR Ringanalyse				
C_P %	56,4	65,2	59,5	56,6
C_A %	17,1	16,0	6,6	13,9
C_N %	26,5	18,8	33,9	29,5

Über die angewendeten mikrobiologischen Methoden wird an anderer Stelle berichtet, da die Entparaffinierung im Institut für Pharmazeutische Forschung Budapest durchgeführt wurde. Wir möchten hier nur über erdöltechnologische und analytische Ergebnisse berichten.

Zur Analyse der Kohlenwasserstoffprodukte wurden folgende Methoden eingesetzt:

klassische erdöltechnologische Prüfmethode (Dichte, Viskosität, Flammpunkt usw.)

klassische fettchemische Methoden (Säurezahl, Verseifungszahl, Carbonsäurezahl usw.)

Elementaranalyse

IR-Spektroskopie

nDM-Ringanalyse

Zur Analyse der wasserlöslichen Produkte wurde die Dünnschichtchromatographie eingesetzt.

Ergebnisse der Untersuchung durch IR-Spektroskopie

Die in Tabelle 1 angegebenen Ölsorten wurden mit Hefen (*Candida*) und Bakterien (*Pseudomonas*) behandelt. Über die bezüglichen mikrobiologischen Arbeiten wird — wie bereits gesagt — an anderer Stelle berichtet. Die nach der mikrobiologischen Behandlung gewonnenen entparaffinierten Öle wurden infrarotspektroskopisch untersucht und die gruppenanalytischen Werte festgestellt. Tabelle 2 zeigt die Meßwerte.

Es geht aus den Ergebnissen hervor, daß beide Mikroorganismen-Gruppen unter gewissen Umständen entparaffinierend selektiv wirksam sind. Es geht auch aus Tabelle 2 hervor, daß alle untersuchten Öle bis zu einem gewissen Grade entparaffiniert werden können, da ja die Werte für C_p in allen Versuchen nach der Behandlung abnehmen.

Es kann aber auch festgestellt werden, daß Bakterien unter Umständen gewisse Aromaten assimilieren oder dermaßen abbauen, daß die Konzentration in der Ölphase nachweisbar abnimmt. Es soll z. B. beachtet werden, daß im Falle des Romaschkinsker Leichtöles der Wert C_A für Hefen der Erwartung entsprechend zunimmt, während derselbe Wert für Bakterien parallel zu dem abnehmenden C_p -Wert ebenfalls abnimmt. Auch bei anderen Ölen ist ein Unterschied zwischen den durch Hefen und Bakterien erzielten Aromatenwerten zu bemerken, und zwar sind die C_A -Werte für die Hefe stets höher, als die für Bakterien.

Es kann nach der mikrobiologischen Behandlung im IR-Spektrum qualitativ die Anwesenheit von $=CO$ -Gruppen nachgewiesen werden. Zum Teil ist die $=CO$ -Bande recht intensiv und weist auf verhältnismäßig hohe Konzentra-

Tabelle 2

Eigenschaften der Produkte nach mikrobiologischer Behandlung
(Bestimmung auf IR-spektroskopischem Weg)

	Rohstoff	Behandelt mit	
		Hefe (Candida)	Bakterien (Pseudomonas)
Romaschkinsker Leichtöl			
C _P	56,4	52,4	51,2
C _A	17,1	18,4	16,2
C _N	26,5	29,2	32,6
Ungarisches Leichtöl			
C _P	65,2	50,4	51,7
C _A	16,0	19,9	19,3
C _N	18,8	29,7	29,0
Muchanowsker Leichtöl			
C _P	59,5	51,7	52,0
C _A	6,6	7,9	6,8
C _N	33,9	42,4	41,2
Muchanowsker Mittelöl			
C _P	56,6	47,4	49,4
C _A	13,9	17,9	16,2
C _N	29,5	34,7	34,4

tionen hin. Dies kann einerseits durch die Säurezahl und Verseifungszahl kontrolliert werden, doch zeigt es sich, daß nach Spaltung und Extraktion der Ester restliche =CO-Mengen IR-spektroskopisch nachzuweisen sind. Es ergibt sich aufgrund derartiger Bestimmungen, daß in den mikrobiologisch behandelten Ölen der Tabelle 2 3–5% öllösliche organische Säuren frei und gebunden vorhanden sind, während im entsäuerten Öl noch 1–2% =CO-haltige Moleküle (Keton oder Aldehyd berechnet aus der =CO-Zahl) vorhanden sind.

Es geht aus dem bisher Gesagten hervor, daß paraffinische Seitenketten gewisser zyklischer Moleküle unter Bildung von Säuren, Estern und Carbo-nylverbindungen mikrobiologisch abgespalten werden können. Technologisch weist diese Tatsache darauf hin, daß ein derartiges Produkt an und für sich weder als Schmierstoff noch als Kraftstoff stabil genug und anwendbar ist. Soll also das Produkt der biologischen Entparaffinierung z. B. als Gasöl (DK) eingesetzt werden, so muß mit einer hohen Korrosivität und niedriger Lagerungsbeständigkeit gerechnet werden. Sollte dies durch Nachraffination behoben werden, so liegen die Kosten so hoch, daß bei dem niedrigen Preis der Dieselmotorkraftstoffe ein derartiges Produkt kaum mehr wirtschaftlich erscheint.

Bei Schmierölen von genügend niedrigem Stockpunkt ist eine Nachraffination demgegenüber durchaus nicht unhaltbar.

Elementaranalyse und Gruppenanalyse nach der Methode nDM

In der im folgenden beschriebenen Versuchsserie wurde ein paraffin- und schwefelhaltiges Spindelöldestillat sowjetischer Provenienz untersucht.

Der Rohstoff wurde 96 Stunden lang mit einer Hefe (*Candida*) behandelt, bei einem p_H -Wert von 5,5. Tabelle 3 zeigt das Fortschreiten der Entparaffi-

Tabelle 3

Änderung der Eigenschaften während der Fermentation

	Säurezahl mg KOH/g	Stockpunkt °C
Rohstoff	0,64	+17
Nach 20 Stunden	0,67	+ 8
Nach 44 Stunden	1,08	- 2
Nach 96 Stunden	5,70	-22

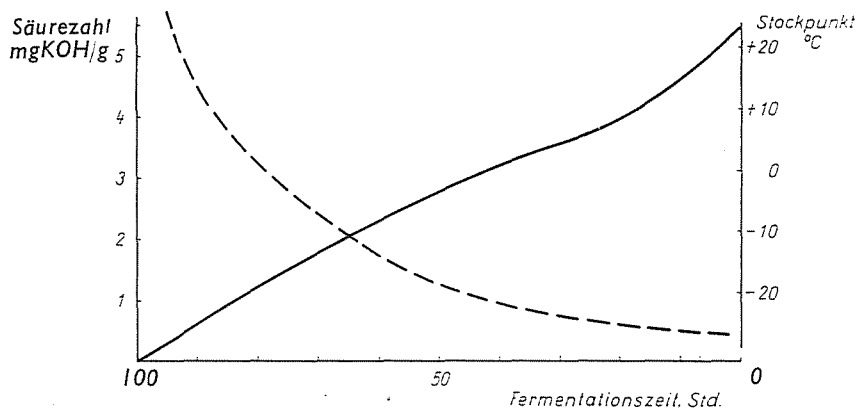


Abb. 1. Zusammenhang zwischen der Fermentationszeit, der Säurezahl und dem Stockpunkt. Stockpunkt ———; Säurezahl - - - -

nierung und der Säurebildung. Abb. 1 zeigt die entsprechenden Kurven; das Abnehmen des Stockpunktes ist annähernd linear, die Zunahme der Säurezahl exponential.

Tabelle 4 zeigt die vollständige Analyse des Rohstoffes und Produktes. Es geht aus der Tabelle hervor, daß infolge einer weitgehenden Entparaffinie-

Tabelle 4

Eigenschaften eines paraffinischen Leichtöldestillates

	Unbehandelt	Behandelt
Dichte d_4^{20}	0,872	0,904
Dichte d_4^{15}	0,817	—
Brechungsindex n_D^{20}	1,4708	1,4850
Viskosität cSt/50 °C	7,65	10,17
Molekulargewicht	463	456
Stockpunkt °C	+17	-22
Säurezahl mg KOH/g	0,64	5,7
C gew.%	86,1	85,5
H gew.%	13,5	14,5
S gew.%	0,40	0,50
C_A %	15,8	18,0
C_R %	23,3	52,1
C_N %	7,5	34,1
C_P %	76,7	47,9
R_A	0,91	1,53
R_N	1,57	2,16

zung ein großes Ansteigen der Ringe zu verzeichnen ist. Besonders wichtig ist die Erscheinung, daß bei so tiefgehender mikrobiologischer Behandlung der Schwefelgehalt kaum geändert wird.

Da in diesem Versuch eine Ölausbeute von etwa 60% erzielt wurde, weist die Unveränderlichkeit des Schwefelgehaltes darauf hin, daß wenigstens ein Teil des Schwefels assimiliert wird.

Ganz anders verhalten sich diese Öle mit den gleichen Mikroorganismen bei niedrigem p_H (3—3,5) behandelt. In diesem Falle ist die Säure- bzw. Verseifungszahl der Ölphase sehr niedrig, es sind also wenig öllösliche Säuren vorhanden. Hingegen ist der Säuregehalt der Wasserphase recht hoch. Von Bedeutung ist, daß im beschriebenen Versuch die Ölausbeute sehr niedrig, ungefähr 20% war. Zur gleichen Zeit entstand auch sehr wenig Hefe, jedoch sehr viel CO_2 . Die Kennzahlen der Ölkomponente ändern sich fast gar nicht. Sie wurden daher in der Tabelle 4 nicht aufgezeichnet. Der Stockpunkt der Ölkomponenten sinkt von +17 bloß auf +15,5, der Schwefelgehalt steigt von 0,40 auf 0,43% an. Die Elementaranalyse und Ringanalyse schwanken innerhalb der Fehlergrenzen.

Aus den Ringanalysen und Elementaranalysen konnten die Durchschnittsstrukturen der Moleküle des Rohstoffes und der Produkte für die bei-

den angegebenen Fälle annähernd berechnet werden. Abb. 2 zeigt die Struktur der schwefelhaltigen und nichtschwefelhaltigen Durchschnittsmoleküle, für den Fall der selektiven und der unselektiven Assimilation.

Es kann für den Fall der selektiven Assimilation ausgesagt werden, daß ein bedeutender Anstieg des aromatischen Charakters des Öles im Laufe der mikrobiologischen Verarbeitung zu verzeichnen ist. Zur gleichen Zeit entstehen in großen Mengen Säuren, welche zum Teil zyklisch sind.

Selektive Assimilation (stufenweise)

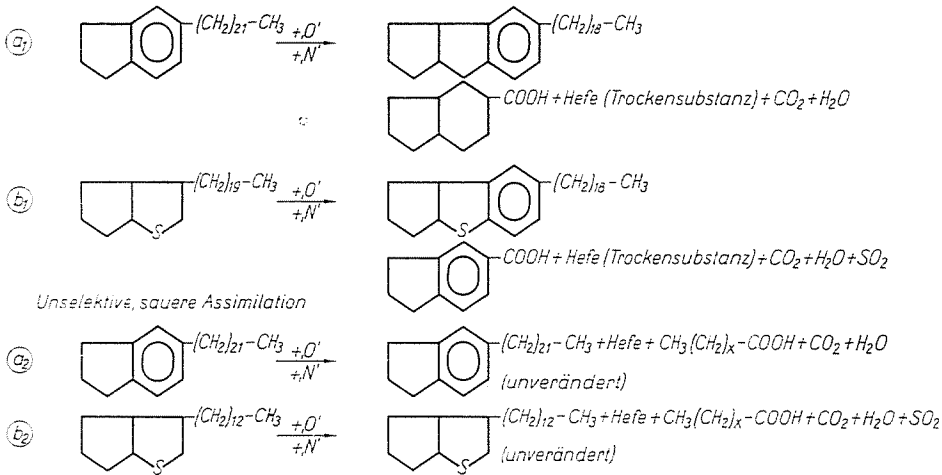


Abb. 2

Es ist weder ein Abnehmen noch ein Anstieg in der Konzentration der schwefelhaltigen Moleküle zu verzeichnen. Eigentlich ist auch kein Anstieg zu vermerken. Der Schwefel wird also im Gesamtprozeß proportional assimiliert, was auch durch eine dem gesamtaromatischen Charakter proportional ansteigende Aromatizität der schwefelhaltigen Moleküle bemerkbar ist.

Es geht aus dem Gesagten hervor, daß durch mikrobiologische Entparaffinierung Produkte entstehen, welche unter Umständen zur Herstellung gewisser niedrigviskoser Öle mit tiefem Stockpunkt geeignet sind. Im Treibstoffgebiet ist dies nicht so eindeutig, da durch ansteigende Aromatizität eine niedrige Cetanzahl erzielt wird.

Im Falle der unselektiven Assimilation bei niedrigem p_H entstehen keine öllöslichen Säuren, jedoch viel CO_2 und viele wasserlösliche Säuren. In Hinsicht der Ölzusammensetzung ist der Prozeß unselektiv, in Hinsicht der Hefeproduktion unproduktiv.

Zusammensetzung der wasserlöslichen Fraktion

Bekannterweise entstehen während der mikrobiologischen Verarbeitung wasserlösliche Produkte, welche größtenteils organische Säuren enthalten.

Es wurden von der Hefe getrennte entölte, filtrierte Schlempen untersucht. Die Schlempe stammte aus den eingangs besprochenen, mit *Pseudomonas* Stämmen ausgeführten selektiven Fermentationsprozessen. Die Schlempe wurde mit Methanol entölt und es bildete sich hierbei auch ein Niederschlag, der durch Filtration abgetrennt werden konnte. Hiernach wurden die flüchtigen Säuren nach der klassischen Methode qualitativ nachgewiesen

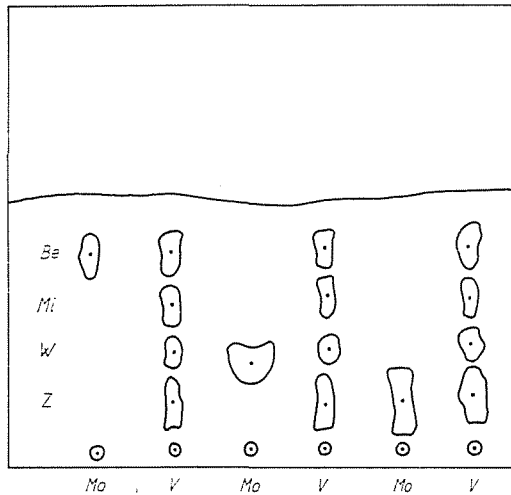


Abb. 3. Zitronensäure (Z), Weinsäure (W), Milchsäure (Mi) und Benzoesäure (Be). Nachweis von organischen Säuren in der wäßrigen Phase der mikrobiologischen Verarbeitung von Kohlenwasserstoffen. (Mo = Modellverbindung, V = Versuchsgemisch)

(Ameisensäure und Essigsäure), während die restliche Lösung durch Dünnschichtchromatographie untersucht wurde. Es wurde Kieselgel G nach Stahl auf 20×20 cm Glasplatten eingesetzt. Das Auftragen geschah nach der üblichen Methode, die Aktivierung bei 110°C . Als Elutionsmittel wurde ein Gemisch von Methanol : $5n \text{ NH}_4\text{OH}$ (82 : 20) eingesetzt. Als Indikator konnte Bromkresolgrün angewendet werden [17, 18].

Abb. 3 zeigt das Chromatogramm der gereinigten Schlempe. Es geht aus dem Chromatogramm hervor, daß neben den flüchtigen Säuren (HCOOH , CH_3COOH) Zitronensäure, Weinsäure, Milchsäure und Benzoesäure vorhanden sind. Obgleich die bisher zur Verfügung stehenden Versuchsdaten zu einer genauen Bestimmung des Mechanismus des Prozesses noch nicht geeignet sind, kann auf dieser Grundlage doch folgendes angedeutet werden: wenigstens ein Teil des Fermentationsprozesses verläuft mehr oder weniger im Sinne des

Krebs-Zyklus. Das Vorhandensein der flüchtigen Säuren und der Zitronensäure (von der iso-Zitronensäure in unserem Fall nicht zu unterscheiden) weist auf diesen Verlauf hin. Das Vorhandensein der Milchsäure deutet an, daß im Fermentationsprozeß die Belüftung wahrscheinlich nicht hoch genug war. Dadurch besteht die Möglichkeit, daß anaerobe Prozesse parallel zu den übrigen verlaufen. Dies weist auch darauf hin, daß die mikrobiologische Entparaffinierung von Erdölprodukten bei richtiger Ausführung einen äußerst hohen Luftbedarf hat.

Ganz besonders wichtig ist aber der Befund, daß in der Schlempe Benzoesäure vorhanden ist. Dies weist eindeutig darauf hin, daß im Prozeß mindestens auch monozyklische Aromaten mit langer Seitenkette angegriffen werden. Es muß also gründlichst untersucht werden, ob die Hefe nicht auch Abbauprodukte von Aromaten enthält, da diese gesundheitsschädlich wirken können. Angaben von MUNK über Untersuchungen der Hefesubstanz stehen mit unseren Vermutungen im Einklang und weisen darauf hin, daß eine Selektivität im absoluten Sinne gegenüber n-Paraffine eine übertriebene Annahme ist. Da also Aromaten mitangegriffen werden, muß bei dem Einsatz der Futterhefe sehr sorgfältig die Frage der Gesundheitsschädlichkeit untersucht werden.

*

Wir möchten Herrn Prof. Dr. László Vajta für die Unterstützung unserer Versuche und Herrn Dr. Károly Magyar für die zur Untersuchung zur Verfügung gestellten Muster und für die mikrobiologische Arbeit unseren Dank aussprechen.

Zusammenfassung

Es geht aus unseren Untersuchungen hervor, daß die Ölprodukte der mikrobiologischen Entparaffinierung oxidierte Substanzen enthalten, welche zur Korrosion- und Schlammabildung neigen. Diese müssen durch eine Nachraffination entfernt werden, die die Rentabilität des Prozesses beeinträchtigt.

Es konnte gezeigt werden, daß auf Grund der Untersuchung der in der Öl- und Wasserphase vorhandenen oxidierten Produkte auf den Mechanismus des oxidativ-mikrobiologischen Abbaus der Kohlenwasserstoffe geschlossen werden kann. Es konnte gezeigt werden, daß auch Aromaten angegriffen werden, und daß dadurch Produkte entstehen, welche unter Umständen gesundheitsschädlich wirken.

Literatur

1. CHAMPAGNAT, A., VERNET, CH., LAINE, B., FILOSA, J.: World Petr. Congr., Sec. 4, 4 1963
2. JERUSALIMSKY, N. D., SKRYABIN, G. K.: Zschr. für Allg. Mikrobiol. **6**, 23 (1966)
3. MAGYAR, K.: Magyar Kémikusok Lapja (Zschr. Ung. Chem.) **10**—**11**, 535 (1964)
4. Nourriture à partir de produits pétroliers: La revue pétrolière **48**, 1086, 68 (1966)
5. TAKASHI IGUCHI, SHIRO HAYAKAWA, ISAO TAKEDA: Amino Oleic & Nucl. acid. **13** (1966)
6. MASAYUKI MIZUNO, YUKIJI SHIMOJIMA, TAKASHI IGUCHI, ISAO TAKEDA, SABURO SENOH: Agr. Biol. Chem. **30**, 506 [1966]
7. VAMOS, E., VAMOS, L.: Magyar Kémikusok Lapja (Zschr. Ung. Chem.) **10**, 521 (1965)
8. NORD, F. F.: Advances in Enzymology, Vol. 27. Interscience Publishers, N. Y., 1965
9. HOCKENHULL, D. J. D.: Progress in Industrial Microbiology, Vol. 4. Heywood & Co., London 1963

10. BEERSTECHEER, E.: Petroleum Microbiology, Elsevier, Houston 1954
11. VAMOS, E., VAMOS, L.: Schmierstoffe und Schmierungstechnik **21**, 71 (1967) und **22**, 83 (1968)
12. GATELLIER, C.: Hydrocarbon Processing Petr. Ref.: **34**, 11, 143 (1964)
13. MOLINSKY, S.: Nafta (Polen), 121 (1964)
14. ROTSCCHILD, F.: Chem. and Ind. **25**, 1004 (1966)
15. HITSMAN, D. O., MILLS, A. M.: USA Pat. 3.084.106, 1963
16. Französisches Pat.: No 1,297.619; 1,320.058; 1,316.506; 1,334.466 (1962—65)
17. BRAUN, D., GREENEN, A.: J. Chrom. **7**, 56 (1962)
18. STAHL, E.: Dünnschichtchromatographie. Springer, Berlin, 1962

Dr. Ernő NEUMANN }
Dr. Endre VAMOS } Budapest XI., Budafoki út 8, Ungarn