

Untersuchungen zur Erdölbakteriologie I.

von Adelheid Müller und W. Schwartz.

I. Einleitung.

Die Mikrobiologie des Erdöls und seiner Trägergesteine ist merkwürdigerweise in Deutschland kaum bearbeitet worden, im Gegensatz zur mikrobiologischen Erforschung der Kohle und ihrer Lagerstätten, die vor allem durch Lieske erfolgt ist. Die umfangreichen Untersuchungen Lieskes über das Vorkommen von Mikroorganismen in Kohle hätten auch zu einer Erkundung der Verhältnisse beim Erdöl anregen müssen, zumal ausländische Forscher, Amerikaner und vor allem Russen, schon seit zwei Jahrzehnten auf diesem Forschungsgebiet arbeiten.

Die ersten Untersuchungen über Erdölmikrobiologie wurden 1924 von der russischen Mikrobiologin Ginsburg-Karagitschewa (1927/1927) durchgeführt, die eine lebende Mikroflora in den Tiefen der Erdöllagerstätten von Apsheron entdeckte und die verursachten biochemischen Prozesse im Laboratorium verfolgte. Fast gleichzeitig untersuchte unabhängig von ihr Bastin (1926) Öl und begleitendes Ölwasser der Ölfeder in Californien ^{und} Illinois. Auch er fand lebende Bakterien und zwar Sulfatreduzierer in 37 von 61 untersuchten Proben.

Im Vordergrund stand zunächst die Erforschung der bakteriellen Desulfurikation in den Ölwassern, veranlaßt durch die Tatsache, dass Ölwasser stets reich an Schwefelwasserstoff, Karbonaten und in einzelnen Fällen auch an Mercaptanen sind, während Sulfate fast völlig fehlen. In einer zweiten Arbeit, ebenfalls 1926, wies Bastin zusammen mit Greer, Merrit und Moulton erneut das Vorhandensein von Sulfatreduzierenden Bakterien in den Ölwassern von Illinois nach und bestätigte diese Ergebnisse nochmals zusammen mit Greer (1930). Er macht die Sulfatreduzierer verantwortlich für den geringen Sulfatgehalt der Ölwasser, da er gleichzeitig durch eine Reihe von Versuchen bewies, daß eine Reduktion von Sulfaten durch totes organisches Material bei gewöhnlicher Temperatur wie sie in den Lagerstätten vorherrscht, unmöglich ist, somit also im Gegensatz zur vorherrschenden Meinung der Geologen und Chemiker nur auf bakterielle Lebensprozesse zurückgeführt werden ^{kan} muß. Gahl und Andersen (1928) ergänzten Bastins Untersuchungen über californische Ölwasser und wiesen in 17 von 40 verschiedenen Ölwasserproben *Vibrio desulfuricans* nach, der im gleichzeitig untersuchten Oberflächenwasser

dieser Gebiete fehlte.

Und schließlich fand Ginter (1930) in pennsylvanischen Ölwassern (Mississippian und Ordovician) sulfatreduzierende Bakterien. Er stellte sich ebenfalls auf die Seite der Forscher, die das Fehlen der Sulfate in Ölwassern auf biologische Prozesse zurückführen.

Bis zu diesem Zeitpunkt waren an der Forschung der Erdölmikrobiologie noch vorwiegend amerikanische Forscher beteiligt. Die weitere Entwicklung lag fast nur in den Händen russischer Forscher.

Wieder war es Ginsburg-Karagitschewa (1932/1933), die Bohrproben auch nach anderen Bakterienarten untersuchte. Sie isolierte aus Proben von Apsheron, Salisny, Grozny und Naphthalen neben *Vibrio thermodesulfuricans* Bakterien. (Ansonsten gelang es ihr, mit Giltay - Lösung) die aus S-haltigen Proteinen neben H_2S und FeS Merkaptane bilden. Ansonsten gelang es ihr, mit Giltay - Lösung + 3% $NaCl$ das Vorhandensein von Denitrifizierern nachzuweisen. In den Ölwassern von Apsheron waren Vertreter der anaeroben Wasserstoff- und Methangärung des Eiweisses vorhanden, während Zellulosevergärer fehlten. Diese wiederum wies sie in anderen Proben nach. (1933).

Da sie keinem sterilen Erdöl oder Ölwasser begegnet ist, nimmt sie an, daß Bakterien gewöhnliche Bewohner der Öllagerstätten sind. Sie konnte nachweisen, daß die Mikroflora der Ölschichten reicher ist als die der darüberliegenden Schichten, die nicht selten steril sind. Es müssen demnach Öl und Ölwasser ein geeignetes Substrat für Bakterien darstellen, die mindestens bestimmte Komponenten des Erdöls als Nährstoffe verwerten können, wie es dann auch Tausson und Shapiro (1934) kulturell nachwiesen. Sie liessen Baba-Rohöl und Baku-Schmieröl, (zur Hauptsache aus Naphthenen und Polynaphthenen bestehend) durch Bakterien oxydieren und bestimmten nach 7 Monaten die verbrauchte Menge quantitativ. Vom Rohöl waren 45 % , vom Schmieröl 12 % oxydiert worden. Tausson allein hatte schon vorher die Oxydation von Paraffin (1925), Naphthalin (1927), Phenanthren (1928) und verschiedenen Benzolkohlenwasserstoffen (1929) durch Bakterien untersucht. In allen Fällen war es ihm gelungen, Bakterien zu isolieren, die diese im Erdöl vorkommenden Verbindungen als einzige Kohlenstoffquelle im Bau- und Betriebsstoffwechsel verwerten können. Paraffin wurde zersetzt von zwei nicht näher bestimmten Bakterienarten neben *Aspergillus flavus*, Naphthalin von *Bacterium naphthalinum*, *Bacterium naphthalinum liquefaciens* und *Bacterium naphthalinum non liquefaciens*; Phenanthren von *Bacterium phenanthrenicum*, *Bacillus phenanthrenicus bakensis* und *Bacillus tenuicollis* a, b, c, d, (Tab. I)

Bacillus tenuicollis a, b, c, d, (Tab. I)

Tabelle 1. Verhalten von Bacterium toluolicum gegenüber Kohlenwasserstoffen. (nach Tausson 1929)

	angegriffene Kohlenwasserstoffe	nicht angegriffene Kohlenwasserstoffe
Bacterium toluolicum a und b	Toluol, (m-Xylol) ^{†)} Äthylbenzol, (o-Xylol) Diphenyl	Benzol, p-Xylol, Pseudocumol, Cumol, p-Cymol, Dibenzyl, Stilben, Naphthalin, Phenanthren, Anthracen, Paraffin
Bacterium toluolicum c	Benzol, Toluol, m-Xylol, (o-Xylol), p-Xylol, Äthylbenzol, (Pseudocumol), (Cumol), (p-Cymol), Stilben, Phenanthren, Paraffin.	Diphenyl, Dibenzyl, Naphthalin, Anthracen
Bacterium toluolicum d	Toluol, (m-Xylol,) (o-Xylol), Äthylbenzol	Benzol, p-Xylol, Pseudocumol, Cumol, p-Cymol, Diphenyl, Diphenyl, Dibenzyl, Stilben, Naphthalin, Phenanthren, Anthracen, Paraffin.

†) Klammer bedeutet: nur teilweise angegriffen

Die Diagnose der einzelnen als neu beschriebenen^{cy} Bakterienarten ist leider in keiner dieser Arbeiten so vollständig, daß es möglich wäre zu prüfen, ob es sich wirklich um neue Bakterienarten handelt oder nur um gewisse längst bekannte Arten, die auch Kohlenwasserstoffe angreifen können.

Die Tatsache, daß Kohlenwasserstoffe, vor allem Paraffine, von einer ganzen Reihe von Mikroorganismen angegriffen werden können, ist an sich nicht neu. Soweit Kohlenwasserstoffe des Erdöls in Frage kommen, wären auch die Arbeiten von Peter (1919), Tausz (1919) und Tausz und Donath (1930) zu nennen. Peter gelang es, mit Hilfe bestimmter Bakterien die sie aus Gartenerde isolierte, die sonst nicht durchführbare Trennung von Paraffinen und Naphthenen durchzuführen. Tausz liess Welser Bitumen durch Schlamm-Bakterien zersetzen. Tausz und Donath untersuchten bestimmte, aus Boden isolierte Bakterien auf ihre Fähigkeit, Kohlenwasserstoffe zu oxydieren.

Ginsburg-Karagitschewa (1933) blieb nicht bei der bloßen Feststellung des Vorhandenseins von Mikroorganismen im Erdöl und dem Studium der durch sie ausgelösten biochemischen Prozesse stehen, sondern versuchte, daraus das Problem der Erdölgenese bakteriologisch zu klären. Schon die Tatsache daß Mikroorganismen regelmäßig in den Öllagerstätten vorkommen und mit dem Öl hochsteigen, dagegen in den Deckschichten fast stets fehlen, oder, wenn vorhanden, anderer Art sind, scheint ihr dafür zu sprechen, daß diese Organismen unmöglich von aussen eingedrungen sein können, sondern schon seit der Bildung des Erdöls in der Lagerstätte eingeschlossen leben und somit direkte Nachkommen der an der Bildung beteiligten Organismen sind.

Nach ihrer Ansicht sind die gegenwärtigen Öllagerstätten in früheren geologischen Epochen aus sapropelartigen Ablagerungen am Grunde von Gewässern mit besonders starker H_2S -Gärung unter Sauerstoffmangel hervorgegangen. Dies sprach schon 1927 Archangelaki aus, der eine analoge Entstehung der nordkaukasischen Öllagerstätten und der Ablagerung am Boden des Schwarzen Meeres annimmt. Um ihre Theorie zu stützen, führte Ginsburg-Karagitschewa zusammen mit Priahishnikov und Rodionowa (1934/1935) bakteriologische Untersuchungen an Tiefsee-Schlammproben des Schwarzen Meeres durch, das infolge seiner eigentümlichen Boden-Gestaltung eine besonders starke H_2S -Gärung aufweist. Sie fanden im Schlamm bituminöse, kohlenwasserstoffhaltige, vaselineartige Substanzen und eine Mikroflora, die aus Erdölen isolierten sehr ähnlich ist. Aus den Schlammproben isolierten sie Sulfatreduzierer, Eiweisspalter, Zellulose- und Fettzersetzer, und sie nahmen an, daß die ^{Entstehung der} nachgewiesenen bituminösen Substanzen auf die ~~Lebens-~~ ^{Lebens-} ~~tätigkeit~~ ^{tätigkeit} dieser Mikroorganismen zurückzuführen seien und daß sich somit am Grunde des Schwarzen Meeres noch heute Prozesse abspielen, die der Erdölbildung vergleichbar sind.

In ihrer letzten und zugängigen Veröffentlichung (1937), entwickelt Ginsburg-Karagitschewa noch einmal ihre Theorie: die in den Erdöllagerstätten entdeckte Mikroflora bewohnt das Erdöl seit seiner Entstehung und ist verantwortlich für alle Prozesse, die unter bestimmten physiko-chemischen Bedingungen zur Bildung von Erdöl, Ölwasser und Erdgas führten. Sie will beweisen, daß die gefundenen Erdölbakterien nicht erst während der Bohrung und des Aufschlusses in die Lagerstätte gelangt sind, sondern mit dem Erdöl aus der Lagerstätte hochsteigen. Ihr Beweis lautet folgendermaßen: Von einem frischen Aufschluß einer Ölschicht mit Gasantrieb und nachfolgendem Springer entnahm sie nacheinander Proben und untersuchte diese in Bezug auf das Vorhandensein ^{von} und sulfatreduzierenden Bakterien (Microspira) und auf ihren Keimgehalt:

1. Probe: ausgeschleuderter Bohrschlamm
2. Probe: erster Ölaustritt
3. Probe: nachfolgendes Ölwasser

Ergebnis: Die Microspira trat nur im Ölwasser auf, sie fehlte im Bohrschlamm und in den ersten Ölproben, was beweist, das sie nicht von aussen eingedrungen sein kann. Keimgehaltsbestimmungen, die an dem mit Erdöl versetzten Ölwasser ausgeführt wurden, ergaben am ersten Tage des Auftretens von Ölwasser 2 529 783 Zellen und nach 5 Tagen seit Beginn der Eruption (3 Tage später) schon 6 899 410 Zellen je cm^3 . Hätte eine Infektion von aussen stattgefunden, so müßten sich die Keimzahlen gerade umgekehrt verhalten: die ersten Proben hätten die höchsten Keimzahlen aufweisen müssen, da sie mit dem Bohrschlamm, der bekanntlich von oben in das Bohrloch eingepumpt wird, in Berührung standen. Eine weitere Analogie zu der Gesellschaft der Erdölmikroben dürfte in der Zusammensetzung der in Schlammvulkanen vorkommenden Mikroflora bestehen. Nach Taussion, Veselov, Aleshin und Goldin (1934) sind die Schlammvulkanwasser wie die Ölwasser stets arm an Sulfaten und enthalten sulfatreduzierende Bakterien. Daneben treten ^{Zieler} Denitrifikanten, Cellulose- und Fettzersetzer auf, die zu den gleichen physiologischen Bakteriengruppen gehören wie die aus Erdölen isolierten entsprechenden Bakterienarten. Die aus Schlammvulkanen entweichenden Gase sind ebenfalls stets brennbar und in ihrer Zusammensetzung den, in Verbindung mit Erdöllagerstätten auftretenden Ölgasen identisch. (zur Hauptsache CH_4 , daneben CO_2 , N_2 und H_2S). Da Schlammvulkane ~~stets~~ nur in Erdölgebieten vorkommen, manchmal sogar mit dem Schlamm eine organische, bituminöse Substanz eruptieren, ist diese Feststellung nicht weiter verwunderlich. Taussion und Mitarbeiter nehmen an, daß die Schlammvulkanwasser mit den Ölwassern in der Tiefe in Verbindung stehen und daß beide identisch sind. In Deutschland wurde man erst 1937 auf die Erdölbakteriologie aufmerksam. Lieske hatte zwar schon 1933 in einer kurzen Notiz mitgeteilt, daß er in Rohölproben aus der Gegend von Hannover, die direkt aus dem aus etwa 900 m Tiefe ausströmenden Öl entnommen worden waren, zahlreiche Bakterien nachweisen konnte. Diese Mitteilung scheint aber keinerlei Beachtung gefunden zu haben. 1937 ließ Krejci-Graf durch Baier bakteriologische Untersuchungen an Erdölen und Bohrkernen des Nienhagener Ölfeldes durchführen, deren Ergebnisse sehr bemerkenswert sind. Baier kannte offenbar einen Teil der russischen Arbeiten sowie die Mitteilung Lieskes nicht.

Es gelang ihm weder mikroskopisch noch kulturell in den Bohrkernen und im Erdöl, Mikroorganismen nachzuweisen. Er rechnete anscheinend auch nicht sonderlich damit wegen der bekannten bakteriziden Wirkung niedrig siedender Kohlenwasserstoffe.

Mit dieser einen negativen Feststellung wurde die bakteriologische Erforschung des Erdöls in Deutschland abgetan; weitere Nachprüfungen unterblieben. Dagegen wies Rejnfeld (1939), ohne seinerseits von Baiers negativen ^{Befunden} ~~Befunden~~ Notiz zu nehmen, erneut in Erdölproben und begleitendem Wasser Bakterien nach und bestätigte damit alle früheren positiven Ergebnisse. Es läßt sich nun nicht ohne weiteres annehmen, daß die negativen Ergebnisse Baiers gegenüber den vielen, stets positiven Ergebnissen der amerikanischen und russischen Forscher falsch sein müssen. Es könnten beispielsweise Unterschiede in den bakteriologischen ^{Herkunft} ~~Befunden~~ in der Zusammensetzung und ^{Herkunft} ~~Tiefenlage~~ der verschiedenen Ölproben begründet sein.

Als erste Aufgabe ergab sich daher, noch einmal Erdöle möglichst verschiedener ^{Beschaffenheit} ~~Herkunft~~ bakteriologisch zu untersuchen und festzustellen, ob sie keimhaltig sind oder nicht und ob sich etwa vorhandene Keime im Erdöl vermehren und Erdöl-Bestandteile verwerten können. Gegebenenfalls war die ^{Herkunft} ~~Herkunft~~ der Keime festzustellen und abzumägen, was für ihr primäres Vorhandensein in der Lagerstätte und was etwa für eine sekundäre Einwanderung in das Erdöl sprechen könnte. Dagegen wurde die systematische Bearbeitung der isolierten Bakterien und die eingehende Untersuchung ihrer Stoffwechselphysiologie noch zurückgestellt.

Ein weiteres wichtiges Problem schien uns die Frage nach der allgemeinen Verbreitung von Erdölbakterien in der Natur zu sein, besonders in oberflächlichen Bodenschichten oberhalb und außerhalb von Erdöllagerstätten, über die hierüber bereits durchgeführten umfangreichen ^{Untersuchungen} ~~Untersuchungen~~ und ihre praktische Bedeutung soll später berichtet werden. Die ^{Untersuchungen} ~~Untersuchungen~~ wurden in den Jahren 1943/44 im Botanisch-Mikrobiologischen Institut der technischen Hochschule Karlsruhe ausgeführt.

II. Bakteriologische Untersuchung von Erdölen.

1. Methode:

Wenn nachgewiesen werden soll, daß ^{erst} ~~erst~~ lebende Keime beim Hochsteigen aus der Lagerstätte mit sich führt, so müssen bei der Probenahme unbedingt die Regeln der Asepsis eingehalten werden, um sekundäre Infektionen zu verhüten. Handelt es sich jedoch nur darum, zu untersuchen, wie die im Erdöl vorhandenen Keime, gleichgültig ob sie im Öl bereits enthalten waren oder erst in Kontakt mit der Luft oder den obersten Bodenschichten aufgenommen wurden, die einzelnen Erdölbestandteile, z.B. bestimmte Kohlenwasserstoffe, abzusuchen (Tausz 1919), so spielt dieser Gesichtspunkt

naturgemäß keine Rolle.

Leider finden wir in den ^{uns} zugängigen russischen Arbeiten, die das Hochsteigen der Keime mit Erdöl nachweisen wollen, keine oder nur unbestimmte Angaben über die Einhaltung der Asepsis. Bestin fing die Ölproben am Sendenkopf in sterilen Glasstopfenflaschen auf. Baier sagt nur, daß die Probenahme unter sterilen Kautelen erfolgte. Wir gingen, wenn irgend möglich, von der fließenden Sonde aus und griffen nur in besonderen Fällen und zu Vergleichszwecken auf das Erdöl der Sammelleitung und der Tanks zurück, in denen sich das Öl verschiedener Sonden vermischt. Eine trocken sterilisierte, sorgfältig verpackte Glasstopfenflasche oder ein größeres Präparatenglas mit Glas- oder Korkstopfen dient zum Auffangen des Öls aus der Sonde oder aus einem Hahn der Sammelleitung. Stets ließen wir erst eine Weile das Öl frei ausfließen. Zur Entnahme aus Tanks dienten sterile Pipetten mit weiter Öffnung. Die Verarbeitung und Untersuchung der Proben erfolgte bei den in Deutschland genommenen Proben meist wenige Tage nach der Probenahme im Laboratorium.

a) Eine direkte mikroskopische Untersuchung im durchfallenden Licht im Deckglas präparat war nur bei ganz leichtflüssigen Ölen möglich. Zähflüssige, dicke Öle ließen sich nicht genügend dünn auf Objektträgern ausstreichen.

b) Die direkte Färbung mit den üblichen Bakterienfarbstoffen gelang nicht.

c) Zum kulturellen Nachweis von Bakterien und anderen Mikroorganismen wurde ein Tropfen Erdöl auf Nähragar oder einem synthetischen Agarnährboden ohne C_n-Quelle von folgender Zusammensetzung mit dem gegebenen Glasstab ausgestrichen:

NH ₄ Cl	0,05 %
K ₂ HPO ₄	0,05%
MgSO ₄	0,02%
CaCO ₃	0,02%
Agar-Agar	1,5 %

Von diesen Platten ließen sich einzelne Kolonien abimpfen und weiter kultivieren. Auch die von Baier benutzten Substrata wie Nährbouillon, Magermilch und synthetische Nährlösungen wurden zum Nachweis oder zur Isolierung von Keimen herangezogen, erwiesen sich jedoch als weniger brauchbar.

d) Keimgehaltsbestimmungen nach der Koch'schen Plattenmethode stießen auf erhebliche Schwierigkeiten, soweit mehr als eine angenäherte Schätzung des Keimgehaltes erreicht werden sollte: 1 ccm Erdöl wurde in 99 ccm sterilen Wasser in einer mit Gummistopfen verschlossenen Rollflasche 30 Minuten lang in der Schüttelmaschine kräftig geschüttelt. Eine

Emulgierung des Öls gelang jedoch nur unbefriedigend. Von der Aufschwemmung wurden Verdünnungen bis 1:10⁶ hergestellt, die sich zum Teil nur ungenügend mit dem Nährboden mischten, so daß viele Platten wegen der lokalen Häufung von Kolonien nicht ausgewertet werden konnten. Um diese Schwierigkeiten umgehen zu können, müßte man einen geeigneten Emulgator finden, der gute Öl-in-Wasser-Emulsionen herstellt, nicht bakterizid wirkt und selbst keimfrei ist. Leider erwies sich keiner der bisher geprüften Emulgatoren als geeignet.

e) Für den Nachweis spezifischer Keime standen einige ganze Reihe von Wegen und Möglichkeiten zur Verfügung. Wir beschränkten uns zunächst auf den Nachweis von Sulfatreduzierern, Denitrifizierern, Kohlenwasserstoffspaltern und Anaerobiern. Die angewandten Methoden waren folgende:

Sulfatreduzierende Bakterien wurden nachgewiesen mit van Deldens' Nährlösung unter Zusatz von 3 % NaCl bei Kultur-Temperaturen von 30 und 55 °C,

Denitrifizierende Bakterien mit Giltay-Lösung bei 30°C. Von Kohlenwasserstoffspaltern wurden Paraffinspalter mit Söhngen-Lösung (modifiziert nach Plotho) bei 30°C nachgewiesen, ~~und~~ Hexan- und Cyclohexanspaltern ebenfalls bei 30°C mit folgenden Nährlösung nach Tausson (1929).

Ca(NO ₃) ₂	0,1 %
KNO ₃	0,025 %
KH ₂ PO ₄	0,025 %
MgSO ₄	0,025 %
Fe ₂ (SO ₄) ₃	0,0025 %

+ 0,2 % eines Hexan-Cyclohexangemisches (1:1).

Da sich verschiedene reine Kohlenwasserstoffe als keimhaltig erwiesen, wie eine Kontrolle (Einsatz in Fleischbouillon) zeigte, ~~mußten~~ sie vor Verwendung im Rückfluskkühler gekocht, oder besser keimfrei filtriert unter Benutzung eines Gangglasbakterienfilters der Firma Schott/oder in einer geeigneten Glasapparatur, ähnlich der von Tausson (1929) angegebenen, destilliert und keimfrei aufgefangen werden.

Anaerobier wurden nachgewiesen mit frisch bereiteter Leberbouillon.

2. Ergebnisse:

Unsere Untersuchungen erstreckten sich auf 43 Erdölproben vom westlichen Flügel des Maikoper Gebietes auf der Taman Halbinsel (6), aus Weingarten in Baden (6), Nienhagen, Mölme, Rietze auf den Hannoverschen Ölfeldern (23), Pechelbronn im Elsaß (4) und Heide in Holstein (4). Nach ihrer geologischen Herkunft, ihrem Wassergehalt ihren chemischen und physikalisch-chemischen Daten waren die Proben von ganz verschiedener Beschaffenheit. wie die folgende Übersicht zeigt. (Tab.2)

Tab. 2 : Geologische und chemische Daten über die untersuchten Erdölproben

Bezeichnung	Feld und Sonde	Geologische Formation und Tiefe	Ort der Probenahme	Wassergehalt	Paraffin-gehalt
R 1	Maikop	Sarmat.Schichten	tropfende Sonde	gering	-
R 2	Maikop	Sarmat.Schichten	Öltümpel	etwa 80 %	-
R 3	Maikop Melichowski 9	Sarmat.Schichten	Sonde	gering	-
R 4	Maikop Melichowski 13	Sarmat.Schichten	Sonde	-	-
R 5	Maikop Kesslerowo 58	Sarmat.Schichten	Tank	Spuren	-
R 6	Maikop Kesslerowo 1	Sarmat.Schichten	Öltümpel	-	-
P 1	Kutzenhausen 4311	Dolom. Zone (= Obereozän bis Unteroligozän)	Sonde	21 %	4,4 %
P 2	Kutzenhausen 4235		Sonde	11,5 %	6,0 %
P 3	Heidenbösch 4285		Sonde	7 %	3,6 %
P 4	Heidenbösch 4053		Sonde	6,4 %	4,7 %
W 1	Weingarten WD 7	Pechelbronner Sch. 408-418 m	Sonde	1,5 %	-
W 2	Weingarten WD 7a	Melettaschichten 212-233 m	Sonde	1,0 %	-
W 3	Weingarten WD 111	Pechelbronner Sch. 404-427 m	Öltümpel	0,5 %	-
W 4	Weingarten WD 24a	Niederrödener Sch. 78-83 m	Sonde	20 %	-
W 5	Weingarten WD 24a	" "	Sonde	100 %	-
W 6	Weingarten WD 57	Melettaschichten 465-482 m	Sonde	1,0 %	-
Ho 67	Holstein 67	Präneokone Schuttbildung ohne Zechstein 835 m	Sonde	0,3 - 15,6 %	3,14 %
Ho 74	Holstein 74	Unterer und mittlerer Zechstein 840 m	Sonde	0,4 - 6,4 %	3,88 %
Me 21	Meldorf 21	Präneokone Schuttb. mit Zechstein 1105 m	Sonde	0,3 %	3,83 %
Me 29	Meldorf 29	ebenso 1035 m	Sonde	0,4 %	3,80 %
H 1	Rietze Greiser 89	oberes Unteralb. aus Toneisensteinknollen	Sonde	0 %	11,04 %
H 2	Eicklingen 114		Sonde		
H 3	Wienhausen 16		Sonde	Spuren	6,82 %
H 4 #	Wachtel 109		Sonde	50,0 %	5,47 %
H 5	Wachtel 35		Sonde	4,8 %	7,22 %
H 6 z	Eicklingen 4		Sonde	0,15 %	4,74 %
H 7	Wachtel 5		Sonde	8,0 %	8,87 %
H 8	Wachtel 117		Sonde	0,15 %	3,82 %
H 9	Feldbergen 11		Tank	0 %	3,92 %
H 10	Feldbergen 9		Tank	0 %	4,12 %
H 11	Eicklingen 110		Sonde		
H 12	Wachtel 33		Sonde	0,8 %	9,62 %
H 13	Eicklingen 57		Sonde		
H 14	Frechlich 5	Wealdensandstein 1471-1500 m	Sonde	10,0 %	3,98 %
H 15	Frechlich 38		Sonde	-	-
H 16	Eicklingen 15		Sonde	0,35 %	5,67 %
H 17	Eicklingen 189	Valendis	Sonde		
H 18	Frechlich 5	Wealdensandstein 1471-1500 m	Sonde	-	-
H 19	Büthenhorst 1		Sonde	0 %	4,43 %
H 20	Frechlich 33		Sonde	0 %	4,25 %
H 21	Wachtel 126		Sonde	Spuren	6,88 %
H 22	Wachtel 124		Tank	Spuren	10,35 %
H 23	Wachtel 101		Sonde	1,6 %	6,88 %

Schwefelgehalt	spez. Gew.	Bemerkungen
-	-	Chemische Untersuchungen kann wegen der geringen Menge des Materials nicht durchgeführt werden
-	-	
-	-	
-	-	
-	-	
-	-	
4,74 %	0,899	458 m
0,56 %	0,877	478-507 m (mehrere Lager)
0,77 %	0,884	565 m
0,85 %	0,891	552 m
-	0,885	Daten über Wassergehalt und spez. Gew. von Febr. 1944 Probenahme März 1943
-	0,882	
-	0,881	
-	0,930	
-	-	Sonde WD24a fördert nur zeitl. Öl (W4), sonst nur Ölwasser
-	0,885	
0,49 %	0,855	Gasbildung (Methan u. Stickst.)
0,82 %	0,860	ebenso
1,0 %	0,858	kein Gas
1,17 %	0,869	ebenso
0,25 %	0,844	dünnflüssig, huc lichtgrün
-	-	zäh
0,62 %	0,866	dünnflüssig
0,35 %	0,879	
0,48 %	0,867	
0,62 %	0,859	dünnflüssig, stark merkaptan-
0,45 %	0,874	Ölwasser mit Ölpuren
0,64 %	0,879	
0,64 %	0,868	
0,73 %	0,864	
-	-	äußerst zäh
0,61 %	0,862	Ölwasser mit Ölpuren
-	-	stark wasserhaltig
0,85 %	0,868	
-	-	
0,65 %	0,861	merkaptanhaltig
-	0,923	
-	-	vgl. H 14, jedoch Salzwasser Eisenspuren
0,91 %	0,865	
0,49 %	0,865	
0,51 %	0,856	
0,58 %	0,857	
0,40 %	0,873	

Keimgehalt: Schon die mikroskopische Untersuchung ^{läßt} ^{liep} in einem Teil der Proben die Gegenwart von Bakterien erkennen, die sich, wenn das Öl Wasserspuren enthält, ^{sehr} häufig in den winzigen Wassertröpfchen angesammelt hatten. In stärker wasserhaltigen Ölen waren in der Wasserschicht die sich im Aufbewahrungsgefäß unterhalb des Öles absondert, stets größere Mengen von Bakterien enthalten.

Auch in den Ausstrichen kam es stets zu einer mehr oder weniger reichen Entwicklung von Bakterien, auf Nähragarplatten stärker als auf synthetischem Agar. Auf Nähragar waren die Kolonien meist über die ganze Platte verstreut, sie fanden sich in dicken Ölschichten wie auch an Stellen, wo nur eine feine Ölhaut über dem Nährsubstrat lag. Auf synthetischem Agar kamen dagegen die Kolonien ausschließlich in dicker aufgestrichenen Erdöl oder am Rande von Öltropfen zur Entwicklung. Die Bakterien müssen demnach irgend welche Erdölkomponenten als einzige Kohlenstoff-Quelle verwerten können.

Mit Hilfe des Koch'schen Plattenverfahrens gelang es, von den Ölausstrichen eine ganze Reihe von Bakterienstämmen zu isolieren, deren systematische Bearbeitung noch nicht abgeschlossen ist. Soweit sich bis jetzt erkennen läßt, ist vor allem die *fluorescens - pyocyanum*-Gruppe unter den auf Nähragar aerob wachsenden Erdölbakterien vertreten.

Ausstriche auf Würze-Agar-Platten blieben meist steril. In einzelnen Fällen kamen jedoch Pilze zur Entwicklung, darunter zwei Hefen, (*Rhodotorula mucilaginosa* (Jörgl.) Harrison und *Torulopsis albida* (Saito) (Lodder) und *Cephalosporium acremonium* Cda, *Paecilomyces varioti* Bain, und *Tritirachium roseum* v. Beyma¹⁾). Es können also auch Pilze zum mindesten im Kontakt mit Erdöl leben.

In den Ausstrichen auf Nähragar war festgestellt worden, daß keines der untersuchten Erdöle steril ist. Aus einem Überblick über die mit einzelnen Ölen durchgeführten Keimzahlbestimmungen geht hervor, daß der Keimgehalt verschiedener Öle unterschiedlich ist. (Tab. 3) Die höchsten Keimzahlen wiesen die Maikoper Ölproben auf, die aber nicht aus Sonden selbst sondern aus Sammelbehältern entnommen waren, so daß sehr gut die Möglichkeit einer zusätzlichen Infektion besteht. Bei längerer Aufbewahrung im Laboratorium kann der Keimgehalt allmählich abnehmen. Wie weit sich etwa Beziehungen zwischen Keimgehalt und Tiefenlage bzw. Wassergehalt der Ölproben ^{herleiten} aufstellen lassen, läßt ^{an} ~~an~~ Hand dieser Versuche noch nicht entscheiden. Zu diesem Zweck ist es erforderlich, eine erheblich größere Anzahl von Bestimmungen durchzuführen. - Interessant ist das Ergebnis von H 18. Es handelt sich um eine Sonde, deren Öl 1937 auch von Baier untersucht und als keimfrei erwiesen worden war.

1) Für die Bestimmung der Kulturen danken wir dem Centralbüro für Pilzkulturen in Berlin.

Jetzt fördert die Sonde allerdings nur noch Ölwasser mit Ölspuren, das in unserer Bestimmung bis zu 4000 Keimen je ccm enthielt.

Tab. 3, Keimgehalt verschiedener Erdölproben.

276

Bezeichnung der Probe	Feld und Sonde	Ort der Probenahme	Zeitpunkt der Bestimmung nach Probenahme	Keimzahl/ccm
R 5	Maikop Kessle- rowa 1	Tank	3 Monate	1,3-3, 5 x 10 ⁶
R 5	"	"	10 Monate	1,2 x 10 ⁵
R 6	Maikop Kessle- rowa 58	Öltümpel	3 Monate	1,0 x 10 ⁵
W 2	Weingarten W D 7a	Sonde	10 Wochen	8,0-10, 0 x 10 ⁴
H 1	Rietze Greiser 89	Sonde	4 Wochen	bis 6,0 x 10 ⁴
H 16	Eicklingen 15	Sonde	4 Wochen	bis 8,0 x 10 ⁴
H 18	Nienhagen Fröhlich 5	Sonde mit öl wasser	4 Wochen	bis 4,0 x 10 ⁴
	Eicklingen 4	Sonde	4 Wochen	bis 2,0 x 10 ⁴

Nachweis spezifischer Keime:

Sulfatreduzierende Bakterien traten in 10 der untersuchten Ölproben auf. Positiv waren 2 russische Ölproben (R 2 und R 5), 6 Weingartener (W 1 - 6) und 2 hannoversche (H 4 und H 17). Die Keime entwickelten sich ausschließlich bei 30°C. und ließen sich auf Subkulturen übertragen. Sämtliche Kulturen bei 55°C blieben steril. Nach dem mikroskopischen Bild handelt es sich um Spirillen, der Organismus dürfte ^{mit} Microspira (Vibrio) dasulfuricans identisch sein. Sporenbildung wurde bei 30°C nicht beobachtet.

Weiterhin versuchten wir, ^{die} isolierten Spirillen auf der gleichen Nährlösung (van Delfen) jedoch ohne Kohlenstoff-Verbindung unter Zusatz von reinem, sterilisiertem Kohlenwasserstoff ^{zu} zu kultivieren, z.B. von Hexan, Cyclohexan Hepten. Die modifizierte Nährlösung hatte folgende Zusammensetzung:

Aqu. dest. (dopp. dest.)	100 ccm	
K ₂ HSO ₄	0,05%	Kohlenwasserstoff ¹⁾ 0,1%
MgSO ₄ 7H ₂ O	0,1 %	
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,1 %	
NaCl	3,0 %	
FeSO ₄	Spur	

¹⁾ den Gehalt durch
Berittlich nach
Tauson (1929)

✓ Uns gelang der Nachweis, daß auch Hexan und Cyclohexan von diesen Bakterien verwertet werden können, 277

Durch Tausson und Vesselow (1934) war nachgewiesen worden, daß sulfatreduzierende Bakterien viele Verbindungen der aliphatischen Reihe (Salze der niederen Fettsäuren, der Oxysäuren, Asparagin und Fette, höhere Paraffin-Kohlenwasserstoffe, z.B. Wachs und einige Kohlenwasserstoffe des natürlichen Erdöls) als einzige Kohlenstoff- und Energiequelle verwerten können, ✓allerdings nur in einem Fall und zwar mit den aus der Ölprobe W 1 isolierten Sulfatreduzierern.

Denitrifizierende Bakterien: Da Stickstoff ein häufiger Begleiter von Erdöllagerstätten ist, lag die Vermutung nahe, daß für seine Entstehung Denitrifizierer verantwortlich zu machen sind. Es gelang uns jedoch bisher nicht, im Erdöl Stickstoff frei machende Denitrifizierer kulturell nachzuweisen. In einzelnen Fällen fand wohl eine Entwicklung von Bakterien in Giltay-Lösung mit eingepfitem Öl statt in Form von Bakterienhäuten, die wie Schleier am Öl hingen; die charakteristische Gasbildung dagegen wurde nicht beobachtet.- Bemerkenswert ist ferner, daß in 5 Fällen Veränderungen am Öl auftraten, derart, daß das Öl fester, wachsartiger wurde und schließlich in der Nährlösung zu Boden sank. Diese Veränderungen müssen auf Bakterien-Tätigkeit zurückzuführen sein, da sie in den übrigen 38 Kulturen nicht auftraten.

Kohlenwasserstoffspalter:

a) Paraffinabbauende Bakterien sind im Erdöl weit verbreitet. Fast in jeder untersuchten Ölprobe waren Mikroorganismen vorhanden, die das Paraffin angriffen und auch in Subkulturen wuchsen. Es handelt sich dabei zum Teil um Mykobakterien, jedoch traten daneben auch andere Eubakterien und sogar Pilze auf. Die Bestimmung dieser Organismen, sowie die Untersuchung ihres Stoffwechsels und der chemischen Vorgänge beim Abbau des Paraffins sollen in einer späteren Arbeit behandelt werden.

b) Hexan-Cyclohexanspalter waren weniger weit verbreitet. In einigen Kulturen kam es zu Wachstum von Pilzen oder Bakterien. Die Entwicklung war nur gering und ging vom eingepfitem Öl aus, sodaß nicht bestimmt werden kann, ob das zugesetzte Hexan-Cyclohexan-Gemisch oder irgendwelche Erdölkomponenten als C-Quelle dienten.

Dagegen wären Anaerobier wieder häufiger. Eine Reihe der untersuchten Ölproben zeigte, eingepfitem in Leberbouillon und kultiviert bei 30°C., Bakterienentwicklung (Trübung), die meist schon nach wenigen Tagen eintr.

An der Tatsache, daß sich Mikroorganismen trotz des Vorhandenseins bakterizider Bestandteile im Erdöl entwickeln können, ist nicht zu zweifeln. Der größte Teil, der von uns im Erdöl nachgewiesenen Mikroorganismen, ist jedoch aerob, nur ein kleiner Teil verlangt anaerobe Lebensbedingungen (Sulfatreduzierer, Denitrifizierer und Anaerobier in Leberbouillon.) Dies Ergebnis überrascht, denn es ist schwer vorstellbar, daß in den Erdöllagerstätten, die bis in etwa 2000 m Tiefe reichen, aerobe Lebensbedingungen herrschen sollen. Issatschenko (1940) nimmt allerdings an, daß in den Untergrundwassern von Baku Sauerstoff gebildet wird und zwar durch Zersetzung mittels Radium-Mesothoriumstrahlungen (das Wasser im Gebiet von Baku ist Radium- und Mesothoriumhaltig.) Nach der Hypothese von Ginsburg-Karagitschewa ist aber gerade das Fehlen des Sauerstoffs der entscheidende Faktor bei der Erdölentstehung gewesen.

Es bleibt allerdings noch die Möglichkeit, daß ein Teil der auf Platten aerob wachsenden Bakterien sich auch fakultativ anaerob entwickeln kann. So haben auch Lieske und Hoffmann (1928) in Braun- und Steinkohlenlagerstätten aerobe Bakterien (Vertreter der Fluoreszons-, Subtilis- und Mesentericusgruppe) nachgewiesen, die sich sämtlich auch fakultativ anaerob entwickeln können.

Weiterhin ergibt sich die Frage, ob die Keime, die wir in den aseptisch am Sondenkopf entnommenen Ölproben nachgewiesen haben, aus der Lagerstätte selbst stammen und nach Abschluß des Bohrprozesses mit dem Öl hochgekommen sind, wie es Ginsburg-Karagitschewa (1937) annimmt und mit ihren Untersuchungen an einem frischen Ölaufschluß bewiesen zu haben glaubt.

Uns scheinen diese Feststellungen noch nicht genügend beweiskräftig zu sein, vor allem mit Rücksicht auf die schwer zu kontrollierenden Verhältnisse bei dem sich oft über viele Monate erstreckenden Bohrprozeß. Es ist schwer, wenn nicht möglich, hierbei eine Einwanderung von Keimen von der Oberfläche und eine Infektion des Öles in der Lagerstätten mit völliger Sicherheit auszuschließen, denn während der Bohrung wird Bohrschlamm in ununterbrochenem Kreislauf von einer Schlammgrube in das Bohrloch gepumpt, steigt wieder hoch und fließt in die Grube zurück. Wir untersuchten den Spülschlamm aus der Bohrung Meldorf 47. Der graue, tonige Schlamm enthält eine mannigfaltige Bakterienflora mit einem Keimgehalt von 1×10^7 aeroben im Koch'schen Plattenverfahren auf Fleischbouillonen nachgewiesenen Keimen.

Entscheiden läßt sich diese Frage nur, wenn eine Probenahme unmittelbar in der Lagerstätte gelingt. Die Möglichkeit hierzu ist in den 3 Ölbergwerken in Witze/Hannover, Pechelbronn/Elsaß und Heide/Holstein gegeben.

III. Untersuchung von Ölsand- und Ölkreideproben aus Erdölschächten.

1. Methode:

Die Art und Weise der Ölförderung und Ölgewinnung ist in den drei Bergwerken verschieden, weil die Trägergesteine und ihr Ölgehalt unterschiedlich sind: in Wietze und Pechelbronn ist das Erdöl an Sande gebunden, in Heide an Kreide. Die Ölgewinnung geschieht in Pechelbronn durch Sikkeranlagen, die in den Ölsand vorgetrieben werden, in Wietze durch Förderung und anschließendes Auswaschen des Ölsandes und in Heide ebenfalls durch Förderung der Ölkreide, die dann in Schwelereien entölt wird.

Wir hatten die Möglichkeit, in allen 3 Ölbergwerken Proben zu nehmen. Da die Schächte in Ölfedern liegen, die gleichzeitig durch Bohrbesrieb ausgebeutet werden, ist es unerlässlich, die Probenahme nur an Stellen vorzunehmen, in deren weiterer Umgebung sich keine Sonden befinden, um die Möglichkeit einer Infektion von außen von vornherein auszuschließen. Diese Bedingung wurde in allen Fällen erfüllt. Die Probenahme erfolgte stets vor Ort an der Stelle des Stollenvertriebs und Ölsand- bzw. Ölkreideabbaues und unter strengster Wahrung des Asepsis. Die Vorbereitungen wurden im Laboratorium erledigt: Bereitung der Nährsubstrate und Sterilisieren von Gefäßen (Glas- und Metallspatel in Reagenströhrchen) und Tüchern zum Abdecken und als Gesichtsschutz. Die sterilen Nährböden (Leberbouillon-Röhrchen, Nähragar und Würzeagar-Schrägröhrchen, ferner Petrischalen mit Nähragar- und Würzeagar mit Leukoplastverschluss für Luftanalysen) und leere ^{en} Reagenströhrchen zur Aufnahme von Proben für spätere Verarbeitung sowie sterile Geräte und Tücher wurden sorgfältig verpackt mit ins ^{es} Bergwerk genommen.

Als weitere Voraussetzung für eine einwandfreie Probenahme war erforderlich, vorher die Lüftung in dem betreffenden Stollen abzustellen, da die Bergwerksluft keineswegs keimfrei ist: Luftanalysen ergaben eine ziemlich reiche Pilz- und Bakterienentwicklung, darunter vor allem Fluoreszenten.

Unmittelbar vor der Probenahme wurden an der vorgesehenen, etwa in Schulterhöhe gelegenen Stelle mindestens noch 50 cm vom anstehenden Gebirge, an dem vorher ununterbrochen abgebaut worden war, in Form eines kleinen Schichtes mit dem Preßlufthammer oder der Spitzhacke entfernt. Die frische Bruchfläche deckten wir sofort mit sterilen Tüchern ab, bis auf eine kleine Stelle, von der die Entnahme erfolgen sollte. Nach Anlegen eines Gesichtsschutzes zur Verhütung von Infektionen durch die Atemluft und nach Desinfektion der Hände mit Alkohol wurde zunächst noch eine weitere Schicht mit sterilen Geräten entfernt und erst dann das Einimpfen in die Nährsubstrate oder in sterile Röhrchen vorgenommen.

Wir nahmen in dem leicht zu bearbeitenden Ölsand nicht nur Proben von der frischen Oberfläche, sondern entfernten tunnelartig im horizontalen Vortrieb mit sterilen Instrumenten den Ölsand bis zu etwa 80 cm Tiefe und nahmen dabei in Abständen von etwa 20, 40, 60 und 80 cm ebenfalls Proben. Nach jeder Probenahme wurden die Geräte gewechselt. Die Entnahme der letzten Proben (etwa bei 80 cm) erfolgte mit sterilen Gummihandschuhen.- Im Pechelbronner und Heider Schacht schnitten wir zufällig kleine Öllinsen an; von dem auslaufenden Öl nahmen wir gleichfalls Proben. Außerdem konnten wir im Heider Schacht unter allen Kautelen Ölwasser aus der Ölkreide mit 10% Salzgehalt auffangen. (Von einem unterhalb der Ölkreide liegenden Stollen war vor einigen Jahren ein Vorbohrloch in die Ölkreide getrieben worden, aus dem seither ununterbrochen im kräftigem Stahl Ölwasser abfließt.)

Die Untersuchung der Proben erfolgte 1 bis 4 Tage nach der Probenahme im Laboratorium: Wir legten Ausstriche auf Nähragarplatten an, überschichteten einen Teil der auf Nähragar geimpften Proben mit dem gleichen Nährboden zwecks Kultur in hoher Schicht zum Nachweis von Anaerobiern. Zum Nachweis spezifischer Keime impften wir Nährlösungen nach van Delden für desulfurizierende Bakterien, nach Giltay für denitrifizierende Bakterien, nach Omelianski für Zellulosespalter. Auf Anerobier wurde außerdem im Hochvakuum, das mit einer Anaeroben-Pumpe nach Pfeiffer erzielt wurde, im Zeisslerschen Anaerobengefäß unter Verwendung von Nähragar bzw. Leber- und Fleischbouillon geprüft. Die Kulturen, sowie die direkt im Bergwerk beimpften Nährböden standen bei 30 und 50°C.

2. Ergebnisse:

Es kamen insgesamt 82 Ölsandproben, 23 Ölkreide- und 6 Ölwasserproben zur Untersuchung. Wie bei den aus Bohrlöchern stammenden Proben handelt es sich auch hier um Öle verschiedener Herkunft und chemischer Beschaffenheit. (Tab.4)

Sämtliche Proben verhielten sich im Bezug auf die Art der sich entwickelten Bakterien einheitlich: in den aeroben Kulturen (Nähragar- und Würzeagar-Schrägröhrchen, Ausstriche auf Nähragarplatten, Keimzahlbestimmungen nach Koch) trat in keinem Fall Wachstum ein, alle Kulturen blieben während mehrerer Wochen bei 30 und 50°C steril. Auch die Kulturen in hoher Schicht zeigten keinerlei Bakterienentwicklung. Mit Rücksicht auf den Keimgehalt der Bergwerksluft dürfte diese Tatsache gleichzeitig ein Beweis für eine einwandfreie Durchführung der aseptischen Probenahme sein.

Tab. 4 : Geologische und chemische Daten über die ^{untersuchten} ungesuchten Schachtöle.

Schacht	Ort der Probenahme	Anzahl der Proben	Geologische Formation	Tiefe	Art des Trägergesteins	Ölgehalt des Trägergesteins	spez. Gewicht des Öles	Wassergehalt d. Öles	Paraffingehalt	Schwefelgehalt d. Öles
Wietze	Schindler Scholle (nach Osten) Sickerölvorrichtungsstrecke, 300 m vom Querschlag	38	Wealden (unterste Unterkreide)	253m	Sande	8-10 %	0,945	10-15%	0,92%	0,72%
Pechelbronn	Stollen Georg 1. Streich. N. 30 m nördlich 2. Fall. N.	44	Obere Pechelbronner Schichten (Unteroligo)	92m	Sande	bis 20 %	0,953	0,6 %	1,0%	0,85 %
Heide	80 m Sohle 1. südl. Richtstrecke 2. Abbaustoß 1 im Süden	5 10	Kreide (ohne tertiäre Bedeckung)	80m	weiße Kreide	bis 20 %	0,95-1,0	0,3-10,0%	0,5%	1,7-3,2%
	140 m Sohle 1. Hauptförderstrecke nach Westen 2. Hauptquerschlag, 280 m westlich des Schachtes (Ölwasserprobe)	8 6	Kreide (mit tertiärer Bedeckung)	140m						

Dagegen verhielten sich die anaeroben Kulturen in Leberbouillon positiv: 38 Proben waren direkt vor Ort in Leberbouillon-Röhrchen eingimpft und anschließend bei 30°C kultiviert worden. Davon zeigten 13 Kulturen (6 Wietzer, 6 Pechelbronner und 1 Heider) bereits nach wenigen Tagen mehr oder weniger starke Trübung der Leberbouillon und zum Teil Gasbildung. Mikroskopisch konnten Bakterien festgestellt werden, die ebenfalls durch ~~Fä~~ Färbung nachgewiesen wurden. - Von diesen Rohkulturen impften wir erneut in vorher ausgekochte Leberbouillon- und in Fleischbouillon-Röhrchen ab, die im Anaerobengefäß nach Zeissler und Hochvakuum bei 30°C kultiviert wurden. Auch hier trat die Entwicklung sehr schnell ein, dagegen blieben gleichzeitig ausgeführte Ausstriche auf Nähragarplatten und Kultur unter aeroben Bedingungen steril. Bemerkenswert ist bei diesen Versuchen, daß die positiven Kulturen aus dem Pechelbronner und Heider-Schacht ausschließlich aus dem Bereich der kleinen Öllinsen stammen, die bei der Probenahme angeschnitten worden waren, in Wietze dagegen verteilen sie sich auf die ganze Probenserie (Oberfläche, 20, 60 und 80 cm tiefer).

Sulfatreduzierer kamen in 2 Fällen, wiederum in Proben aus dem Bereich ^{etwa} der Pechelbronner Öllinse, zur Entwicklung, ihr Temperaturoptimum lag bei 30°C, bei 55°C entwickelten sie sich nicht mehr, Sporenbildung trat auch bei 30°C nicht auf.

Danitifizierer konnten auch in den Schachtproben nicht nachgewiesen werden, dagegen gelang der Nachweis von Zellulosespaltern mit Omelianski-Medium in 3 Fällen: in 2 Ölsandproben aus Wietze und in 1 Ölkreideprobe fand eine Entwicklung von Zellulosespaltern statt, was an der allmählichen Auflösung und am Verschwinden des der Nährlösung zugefügten Filtrierpapiers festgestellt wurde. In einer der Wietzer Zellulose-Kulturen färbte sich die Nährlösung schwach rötlich.

Wir führten die gleichen Kulturversuche mit der oben erwähnten Ölwasserprobe durch. Es kamen ^{submikroskopisch} Sowohl aerob wie anaerob Bakterien zur Entwicklung. Auf Schrägagarröhrchen und in Leberbouillon fand kräftiges Wachstum statt. Daneben ließen sich Sulfatreduzierer nachweisen, während Zellulosespalter fehlten.

IV. Diskussion der Ergebnisse.

Überblicken wir die Ergebnisse, so dürfte nunmehr auf Grund der Untersuchungen von Schachtöl-Proben einwandfrei erwiesen sein, daß in Erdöllagerstätten, mindestens bis zu der von uns untersuchten Tiefe von etwa 250 m, sehr wahrscheinlich aber auch in größeren Tiefen eine autochthone Bakterienflora vorkommt. Diese Bakterien verhalten sich bei der Isolierung wie obligate Anaerobier und sind teilweise Spezialisten der Desulfurikation und anaeroben Zellulosespaltung. Die positiven Ergebnisse russischer und amerikanischer Forscher werden damit zu einem Teil bestätigt.

Es muß also damit gerechnet werden, daß sich auch jetzt noch in den Erdöllagerstätten durch den Stoffwechsel dieser Bakterien bedingte chemische ^{Umsetzungen} Mischungen abspielen.

Der Nachweis von Bakterien in den Lagerstätten läßt jedoch noch keine Stellungnahme zu den weitgehenden Schlüssen Ginsburg-Karagitschewas über die ^{ursprüngliche} Herkunft dieser Mikroben zu. Wir wissen nicht, ob sie tatsächlich direkte Nachkommen der Bakterien sind, die bei der Erdölgenese beteiligt waren oder ob sie erst später das Erdöl nach einer Periode vorübergehender Sterilität vielleicht während der Wanderung zu seinen heutigen Lagerstätten erneut ^{infiziert} reinfiziert haben, oder ob schließlich die Infektion der Lagerstätte erst nach ihrer Erschließung erfolgte. Die erste, von Ginsburg-Karagitschewa vertretene Ansicht, würde jedenfalls weitgehende Konsequenzen nach sich ziehen ⁱⁿ Bezug auf die Höchsttemperaturen denen das Erdöl bei seiner ^{Entschlebung} Entschlebung und Wanderung ausgesetzt gewesen sein kann. Die dritte Annahme haben wir, soweit dies überhaupt möglich war, bei der Wahl der Entnahmestellen in den Ölbergwerken auszuschließen versucht, trotzdem muß sie mit in Erwägung gezogen werden.

Das völlige Fehlen der Aerobier in den Schachtproben zwingt dagegen zu einer kritischen Betrachtung der Feststellungen, die am Öl der Ölsonden gemacht worden sind und verstärkt die bereits dort erwähnten Bedenken. Wir neigen zu der Ansicht, daß ein erheblicher Teil der dort erfaßten Keime nicht zu den ursprünglichen Bewohnern der Erdöllagerstätten gehört, sondern sekundär in das Öl eingewandert ist und für die teilweise recht hohen ^{Keim} Keimgehalte der Sondenöle, die Werte bis 10^6 je cm^3 erreichen, verantwortlich gemacht werden muß. Die Infektion dürfte mit dem Bohrprozeß verbunden sein, denn Untersuchungen am Bohrschlamm zeigten, daß dieser selbst bereits einen mannigfaltigen und hohen Keimgehalt an Bakterien aufweist, könnte sich jedoch auch noch während der Förderung abspielen bei Sonden, die nicht ^{kontinuierlich} kontinuierlich fließen. Wenn unsere Annahme zutrifft, so würden wir also in den an der Erdoberfläche entnommenen Ölproben ähnliche Verhältnisse wie im Schlamm der Schlammvulkane antreffen, in denen Bubentschik (1936) ebenfalls eine allochthone neben einer aus der Tiefe ^{aufsteigenden} autochthone Flora unterscheidet.

VI. Zusammenfassung:

- 1.) Aus den Erdölgebieten Maikop (Taman-Halbinsel), Weingarten, Hannover (Nienhagen, Mölme, Rietze), Pechelbronn und Heide wurden insgesamt 43 aus Erdölsonden oder Erdöltanks aseptisch entnommene Ölproben bakteriologisch untersucht.
- 2.) In sämtlichen Proben ließen sich mikroskopisch und kulturell Mikroorganismen nachweisen und zwar gewöhnliche Aerobier, aerobe Parafinspalter, Anaerobier, Desulfurikanten. Vereinzelt fanden sich

sich Pilze.

- 3.) Die Keimgehalte an gewöhnlichen Aerobiern (bestimmt nach Koch auf Fleischbouillongelatine) lagen zwischen 2×10^4 und $3,5 \times 10^6$ je cm^3 .
- 4.) Die Untersuchungen von Ölsanden und Ölkreiden die in den Erdölschächten Wietze, Pechelbronn und Heide unter strengster Wahrung der Aspsis entnommen worden waren, erbrachten den direkten Nachweis, daß mindestens ein Teil der in Erdölsonden gefundenen Bakterien bereits in der Lagerstätte vorhanden ist.
- 5.) Es wurde ^{en} nachgewiesen obligate Anaerobier in 13 von 38 in Ölschächten entnommenen Proben, Desulfurikanten in 2 Proben, anaerobe Zellulose-zersetzer in 3 Proben. Der Nachweis von Denitrifikanten gelang nicht. Ebenso fehlten Pilze und aerobe Bakterien.
- 6.) Dagegen waren in einer Ölwasserprobe aus dem Schacht Heide neben obligaten Anaerobiern und Desulfurikanten auch Denitrifizierer und aerobe Bakterien vorhanden.
- 7.) Der wesentlich höhere Keimgehalt der Sonden dürfte darauf zurückzuführen sein, daß ein Teil der im Sondenöl enthaltenen Keime sekundär in das Öl eingewandert ist, vielleicht während des Bohrprozesses durch Infektion vom Bohrschlamm aus ~~oder während der Förderung~~.
- 8.) Bohrschlammproben enthalten eine reiche Bakterienflora. Der Keimgehalt an Aerobiern beträgt ^{erreichte} bis zu $1,0 \times 10^7$ je cm^3 .

Keime

Keime Kultur nachweisbare

VII: = Schriftumsnachweis:

- 1.) Archangelski, A.D. Die Entstehungsbedingungen des Erdöls im nördlichen Kaukasus. Erdölindustrie der Sowjet-Union. Moskau und Leningrad 1927. (russ.)
- 2.) Baier, C.R. Bakteriologische Erdölstudien. Kieler Meeresforschungen 2 149-156 1937.
- 3.) Bastin, E.S. The problem of the naturel reduction of sulphates. Bull.of the Amer. Assoc.of Petroleum Geologists 10 1270-1299 1926.
- 4.) Bastin, E.S., F.E. Greer, C.A.Merrit and G.Moulton, The presence of sulphate-reducing bacteria in oil field waters. Science 63 21-24 1926
- 5.) Bastin, E.S. and F.E.Greer, Additional data on sulphate-reducing bacteria in soils and waters of Illinois oil fields. Bull.of the Amer.Assoc.of Petroleum Geologists 14 153-159 1930.
- 6.) Gahl, R. and B.Anderson, Sulphate-reducing bacteria in California oil waters. Centr.f.Bakt. Abt.II 73 331-338 1928.
- 7.) Ginsburg-Karagitschewa, T.L., Microbiological research inthe sulphurous and salty waters of Apsheron. Azerbajdzanskoe Neftjance Khozjajstvo, Nos. 6-7 (Baku 1926) (russ.).
- 8.) - . - . - . The formation of hydrosulphide and mercaptans by the microflora of oil and sulphurous waters of Absheron. Ibid. No. 3 (Baku 1927) (russ.)
- 9.) - . - . - . Mikrobiologische Skizzen. Staatl.wiss.techn.Erdölverlag, Moskau 1932 (russ.)
- 10.) - . - . - . Microflora of oil waters and oilbearing formations and biochemical processes caused by it. Bull. of the Amer.Assoc. of Petroleum Geologists 17 52-65 1933.
- 11.) - . - . - . Zur Frage der Erdölentstehung (ÜberMikroben aus Erdölschichten). Priroda 22 22 - 32, Leningrad 1933.
- 12.) - . - . - ., N.D. Prianishnikov und K.F.Rodionowa, Some data on the microbiological and chemical analyses of Black-Sea deep bottom slimes. Mikrobiologie 3 522 1934 (russ.)
- 13.) - . - . - . und K.F.Rodionowa, Beiträge zur Kenntnis der im Tief-seeschlamm stattfindenden biochemischen Prozesse (Zur Frage der Erdölbildung) Biochem.Zeitschr. 275 396-404 1935.
- 14.) - . - . - . Über die Ursachen des schwachen Sulfatgehaltes der Öl-wasser. Petroleum 33 7 1937
- 15.) Ginter, R.L. Causative agents of sulphate reduction in oil well waters. Bull.of the Amer.Assoc. of Petroleum Geologists 14 1930.

- 16.) Issatschenko, V. On the microorganisms of the lower limits of the biosphere. Journ of bact. 40 379 - 381 1940 (russ.)
- 17.) Krejci-Graf, K. Grundfragen der Entstehung des Erdöls. Öl und Kohle 13 Heft 24 1937.
- 18.) Lieske, R. Referat zu Thorpe, H. Petroleumbakterien und die Ernährung von *Psilopa petrolei*. (*Nature* 130 437 1932). Brennstoffchemie 14 16 1933.
- 19.) - . - . und H. Hofmann. Untersuchungen über die Mikrobiologie der Kohlen und ihrer natürlichen Lagerstätten: 1. Die Mikroflora der Braunkohlengruben. Brennstoff-Chemie 9 174 1928
2. Die Mikroflora der Steinkohlengruben. Brennstoffchemie 9. 282 1928
- 20.) Dieselben, Untersuchungen über den Bakteriengehalt der Erde in großen Tiefen. Centr.f.Bakt.Abt.II 77 305 1929
- 21.) Peter, M. Neue Methode der Kohlenwasserstoffanalyse mit Hilfe von Bakterien. Diss. Karlsruhe 1919.
- 22.) Rejnfeld, E.A. Mikrobiologische Untersuchungen der Erdöl-Fontäne und des begleitenden Wassers. Aserbeidschan. Erdöl-Forschungsinstitut, Geol.Abt., 21. Lieferung, Baku 1939 (russ.)
- 23.) Rabenschik, L.I., A. Contribution to the microbiology of mud of mud-volcanos. Mikrobiologie 5, 451-64 1936 (russ.)
- 24.) Tausson, W.O. Zur Frage über die Assimilation des Paraffins durch Mikroorganismen. Biochem. Zeitschr. 155 356-368 1925.
- 25.) - . - . - . Naphthalin als C-Quelle für Bakterien. Planta 4 214-256 1927.
- 26.) - . - . - . Die Oxydation des Phenanthrens durch Bakterien. Ibid 5 239-278 1928
- 27.) - . - . - . Über die Oxydation der Benzalkohlenwasserstoffe durch Bakterien Ibid. 7 735-758 1934.
- 28.) - . - . - . und S.L.Shapiro, The general trend of the process of oxydation of oil by bacteria. Mikrobiologie 3 86 1934 (russ.)
- 29.) Dieselben, Allgemeine Richtung der Naphthaoxydation durch Bakterien Mikrobiologie 3 79 1934 (russ.)
- 30.) Tausson, W.O. und W.A. Alicshina, Reduktion von Sulfaten durch Bakterien in Gegenwart von Kohlenwasserstoffen. Mikrobiologie 1 1932 (russ.)
- 31.) Tausson, W.O., I.J. Vesselov, V.J. Aleshin und M.I. Galdin, The anaerobic microflora of mudvolcano mud. Mikrobiologie 2 343 1934 (russ.)
- 32.) Tausson, W.O. und I.J. Vesselov, On the bacteriology of the decomposition of cyclical compounds at the reduction of sulphates. Mikrobiologie 3 369 1934 (russ.)
- 33.) Tausz, J. Über die Einwirkung von Mikroorganismen auf Roherdöle. Petroleum 14 1919.
- 34.) - . - . - . und P. Danath, Über die Oxydation des Wasserstoffs und der Kohlenwasserstoffe mittels Bakterien. Zeitschr.f.physiol.Chem. 190 101 1931.

- Versuche zur Erforschung des Verbrennungs-
verhaltens von Kraftstoffen im schnelllaufenden Dieselmotor.
Dr. Kraftf.-Forsch. Dt. Kraftfahrtsforschung Heft 5.
- Versuche über den Einfluss der Destillationsbedingungen auf
die Viskosität und die Löslichkeit von Dieselkraftstoffen
in Brennstoffschmelzen.
Dr. Kraftf.-Forsch. Dt. Kraftfahrtsforschung Heft 17.
- Versuche über die progressive Federung von Kraftwagen.
Dt. Kraftf.-Forsch. Dt. Kraftfahrtsforschung Heft 58.
- Versuche über die Wirkung von Schutzmitteln auf Metalle und Gummi.
Dr. Kraftf.-Forsch. Zwischenbericht Nr. 101/1941.
- Versuche über die Bestimmung der Eigenschaften von Gummikörpern.
Dr. Kraftf.-Forsch. Zwischenbericht Nr. 91.
- Versuche über die Bestimmung der Schmierfähigkeit von Ölen und Fetten.
Dr. Kraftf.-Forsch. Zwischenbericht Nr. 83.
- Versuche über die Wirkung von Treibstoff-Zusatzmitteln und ihrer
Verbrennungsprodukte auf die im Motorenbau verwendeten Metalle.
Bearbeiter: Dr. Gerhard Schikorr, Kurt Alex.
Dt. Kraftf.-Forsch. Zwischenbericht Nr. 78.
- Versuche über die Wirkung von Schutzmitteln auf Metalle und Gummi.
Berichterstatter: Dr. Gerhard Schikorr, Kurt Alex.
Dt. Kraftf.-Forsch. Zwischenbericht Nr. 75.
- Versuche über die Bestimmung der Eigenschaften von Gummikörpern.
Bearbeiter: Dipl.-Ing. V. Kirzner.
Dt. Kraftf.-Forsch. Zwischenbericht Nr. 61.
- Versuche über die Wirkung von Schutzmitteln auf Metalle.
Dt. Kraftf.-Forsch. Zwischenbericht Nr. 57.
- Versuche über die Einwirkung von Gemischbildung in Otto- und Dieselmotor.
Bearbeiter: Dr.-Ing. Karl Zinner.
Dt. Kraftf.-Forsch. Zwischenbericht Nr. 52.
- Versuche über die Bestimmung der Eigenschaften von Dieselkraftstoffen.
Bearbeiter: Dr. Kraft, V. Gross.
Dt. Kraftf.-Forsch. Zwischenbericht Nr. 54.
- Versuche über die Dauerhaltbarkeit von Federn. Der Einfluss der
Elastizitätsform auf die Dauerhaltbarkeit von Federn mit schwarzer
Oberfläche.
Bearbeiter: Dipl.-Ing. R. Zoega v. Manteuffel.
Dt. Kraftf.-Forsch. Zwischenbericht Nr. 49.
- Beschreibung eines Motorzugmessgerät, Bauweise FKES.
Bearbeiter: Dipl.-Ing. K. Staiger.
Dt. Kraftf.-Forsch. Zwischenbericht Nr. 45.
- Versuche über die Dauerhaltbarkeit von Federn. Die Dauerhaltbar-
keit von verformbeanspruchten Federn bei hohen Vorspannungen und
ihre Beeinträchtigung durch Überlastungen.
Bearbeiter: Dipl.-Ing. R. Zoega v. Manteuffel.
Dt. Kraftf.-Forsch. Zwischenbericht Nr. 42.
- Versuche zur Aufklärung des Klopfvorgangs.
Bearbeiter: Dipl.-Ing. A. Köchling.
Dt. Kraftf.-Forsch. Zwischenbericht Nr. 38.
- Versuche über das Verhalten von Brennstoffeinspritz- und Förderpumpen bei dem
Betrieb mit verschiedenen Dieselkraftstoffen.
Bearbeiter: Ing. Kurt Richter. Dt. Kraftf.-Forsch. Zwischenbericht Nr. 3

**END
OF
REEL
Roll**

*Special
for*

Mr. Darsy