

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERIA**  
***FACULTAD DE INGENIERIA DE PETROLEO***



**RECUPERACIÓN ASISTIDA DEL PETRÓLEO MEDIANTE EL  
USO DE BACTERIAS (MEOR)**

**TITULACION POR ACTUALIZACION DE CONOCIMIENTOS PARA  
OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE INGENIERO DE PETROLEO**

**ELABORADO POR:**  
**MAX CIRO MOLINA ROJAS**

**PROMOCION 95 - I**

***LIMA – PERU***  
**2005**

## **INDICE**

### **SUMARIO**

#### **INTRODUCCIÓN**

### **CAPÍTULO I**

#### **LA BIOTECNOLOGIA**

1. CONCEPTO
2. PROPOSITO DEL USO DE LA BIOTECNOLOGIA EN LA INDUSTRIA DEL PETROLEO
3. CONTEXTO Y ENTORNO ACTUAL

### **CAPÍTULO II**

#### **LAS BACTERIAS**

1. CONCEPTO
2. CLASIFICACION DE LAS BACTERIAS
3. MORFOLOGIA Y ESTRUCTURA DE LAS BACTERIAS
4. NUTRICION DE LAS BACTERIAS
5. REPRODUCCION DE LAS BACTERIAS
6. CRECIMIENTO BACTERIANO

### **CAPÍTULO III**

#### **RECUPERACION ASISTIDA DE PETROLEO POR BACTERIAS (MEOR)**

1. CONCEPTO
2. RESEÑA HISTORICA
3. MICROBIOLOGIA DEL PETROLEO
  - 3.1 CONCEPTO
  - 3.2 EL PETRÓLEO
  - 3.3 ORIGEN BIOLÓGICO DEL PETRÓLEO
4. METABOLISMO DE LAS BACTERIAS EN EL RESERVORIO
  - 4.1 BACTERIAS INDIGENAS
  - 4.2 BACTERIAS INYECTADAS
  - 4.3 INTERACCIONES ENTRE LAS BACTERIAS INDIGENAS Y INYECTADAS
  - 4.4 SUB-PRODUCTOS OBTENIDOS DE LA DEGRADACION MICROBIAL
5. MECANISMOS DEL MEOR
  - 5.1. GENERA GASES
  - 5.2. GENERA ACIDOS
  - 5.3. ALTERA LA MOJABILIDAD
  - 5.4. PRODUCE BIOSURFACTANTES
  - 5.5. REDUCE LA VISCOSIDAD DEL PETROLEO Y AUMENTA EL GRADO API
6. TRATAMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS EN EL LABORATORIO
  - 6.1. OBJETIVOS DEL TRATAMIENTO DE BACTERIAS
  - 6.2. ALGUNOS PROCEDIMIENTOS A CONSIDERAR

## 7. RESULTADOS OBTENIDOS CON LA APLICACIÓN DEL MEOR

### **CAPÍTULO IV**

#### **FACTORES CLAVES A CONSIDERAR EN UN MEOR**

1. PROPIEDADES DEL RESERVORIO
  - 1.1 FACTORES DE FORMA
  - 1.2 ESTRUCTURA PORAL
  - 1.3 PERMEABILIDAD
2. PROPIEDADES QUIMICAS
  - 2.1 ALTERACION BACTERIAL
  - 2.2 LAVADO POR AGUA
  - 2.3 BIODEGRADACION DE PETROLEOS
  - 2.4 EMULSIFICACIONES
  - 2.5 METALES EN EL PETROLEO
3. MICROBIOLOGIA
  - 3.1 BACTERIA INDIGENA
  - 3.2 FISIOLOGIA DE LAS BACTERIAS BAJO CONDICIONES DEL RESERVORIO

### **CAPÍTULO V**

1. CRITERIOS DE SELECCIÓN
2. TECNOLOGIAS ACTUALES
3. ENSAYOS DE CAMPO
4. PROBLEMAS COMUNES

### **CAPÍTULO VI**

#### **ANALISIS ECONOMICO E IMPACTO ECOLOGICO**

1. ANALISIS ECONOMICO DEL MEOR
2. IMPACTO ECOLOGICO DE LA LIBERACION AL MEDIO AMBIENTE DE MICROORGANISMOS MODIFICADOS GENETICAMENTE

### **CONCLUSIONES**

### **BIBLIOGRAFIA**

## SUMARIO

Considerando que las principales fuerzas que impulsan actualmente la industria petrolera en el mundo son: la creciente demanda de combustibles, la necesidad de procesar crudo pesado, el desarrollo de productos con mayor valor agregado, el daño económico y en infraestructura causado por la corrosión, la búsqueda de un mayor nivel de rentabilidad, el cumplimiento de una reglamentación cada vez más exigente y la necesidad de producir combustibles más limpios; se avizora que las industrias, entre ellos el sector petrolero, se encontrarán sujeto a una normatividad ambiental cada vez más estricta, por lo que el propósito de la técnica de Recuperación Asistida de petróleo Mediante el Uso de Bacterias es hacer frente a estos factores, como una alternativa en el área de producción.

La idea de producir petróleo mediante el uso de micro-organismos se remonta al año de 1913 cuando J.B. Davis escribió por vez primera acerca del uso de microbios en la naciente industria petrolera en su libro, Petroleum Microbiology ó La Microbiología del Petróleo. Después en 1926, el inglés Beckham propuso la teoría de crear un "nuevo flujo" del crudo inerte que permanece en el yacimiento después de que el gas en solución haya sido agotado, inyectando microorganismos que ingirieran hidrocarburos en el yacimiento, a medida que metabolizaran el crudo ingerido, producirían gases y otros bio-productos que podrían causar que el crudo inerte fluyera de nuevo.

A este concepto ahora se le llama "Microbial Enhanced Oil Recovery (MEOR)" Recobro Mejorado de Petróleo por Microorganismo. Aunque todavía sea considerado por varios como un método experimental de recobro secundario, o incluso, terciario, con la cantidad de investigaciones científicas que se han realizado junto con las aplicaciones del método, repetido una y otra vez siguiendo ciertos criterios aprendidos y establecidos, este método ha estado dando continuamente resultados muy satisfactorios.

Asimismo se indica que esta técnica ha evolucionado en etapas por más de 60 años y ahora está recibiendo un renovado interés alrededor del mundo, debido a que resulta una tecnología de bajo costo lo cual la hace particularmente compatible con los precios actuales del petróleo. A pesar de que las investigaciones sobre MEOR han sido realizadas durante muchos años, estas han pasado prácticamente ocultas para la industria del petróleo debido a que la mayoría de los resultados fueron publicados en congresos y foros biológicos usando un punto de vista biológico y sin importar la visión del ingeniero de reservorios, el operador o el dueño del yacimiento.

## INTRODUCCION

La recuperación asistida es generalmente considerada como la tercera o última etapa de la secuencia de procesamiento del petróleo, en ciertos casos se la considera como una producción terciaria. La técnica que emplea microorganismos y sus productos metabólicos para la estimulación de la producción de petróleo en ciertos reservorios candidatos es conocida como recuperación asistida por bacterias o en inglés "microbial enhanced oil recovery (MEOR) or microbial oil recovery enhancement (MORE)". Esta técnica consiste en la inyección de microorganismos seleccionados dentro del reservorio y la posterior estimulación y transporte de sus productos metabólicos generados in situ a fin de obtener una reducción del petróleo residual dejado en el reservorio. Estos microorganismos pueden actuar como agentes mobilizantes de petróleo residual o agentes tapón para aislar selectivamente zonas no deseadas del reservorio.

Básicamente lo que se busca es la estimulación de pozos y de reservorios para aumentar las tasas de producción y el recobro total del petróleo original in situ, y/o para extender la vida productiva del pozo o reservorio.

A pesar de la larga historia que tiene la investigación de técnicas de MEOR, los resultados que dieron lugar al desarrollo de la tecnología han pasado mayormente desapercibidos para la industria petrolera. Esta falta de reconocimiento por la industria del petróleo se ha debido a varias razones, en muchos casos la investigación e información de campo no han sido debidamente divulgados. Además el MEOR requiere la interacción de disímiles disciplinas científicas tales como la biología y la ingeniería de reservorios que abordan de diferente manera el tema. Por lo tanto ha sido muy difícil de presentar en la industria del petróleo una imagen comprensiva y cohesiva de la tecnología de MEOR, no obstante su pasado, el proceso de MEOR es una tecnología de bajo costo bien sustentada y técnicamente practicable, la cual ofrece muchas aplicaciones útiles en la industria del petróleo. Las innovaciones continuas, las nuevas herramientas mejoradas de simulación de procesos biológicos, los enfoques más prácticos y los resultados rentables en las técnicas de estimulación de pozos individuales, limpieza y taponamiento de capas sugieren un alentador futuro y una actividad sostenida durante los próximos años.

## CAPITULO I

### LA BIOTECNOLOGIA

#### 1. CONCEPTO

Se puede conceptualizar a la biotecnología, como una serie o conjunto de tecnologías que tienen como objetivo la producción de bienes y servicios mediante la utilización de sistemas biológicos o sus productos. En los últimos años como consecuencia de los avances tecnológicos en la manipulación del ácido desoxirribonucleico ha permitido la industrialización de nuevos bioprocesos.

El área de impacto de la biotecnología es amplia y diversa, abarca ramas industriales como la agroalimentaria, la ambiental, la farmacéutica, la agroquímica, la química y la energética.

- **Alimentos y forrajes**
- **Productividad Agrícola**
- **Productividad Agropecuaria**
- **Salud Humana y Ambiental**
- **Energía y petróleo**
  - Recuperación microbiana del petróleo
  - Tratamiento de biocorrosión
  - Bioconversiones
  - Productos biopetroquímicos (polímeros Tensoactivos)
  - Producción de biocombustibles (biodiesel, metano, etanol, hidrogeno)
- **Medio Ambiente**
  - Tratamientos de efluentes y emisiones gaseosas
  - Biorremediación de suelos y acuíferos
  - Biodegradación de desechos agrícolas, animales, urbanos, etc.
  - Lixiviación microbiana de metales

Campos prioritarios de la biotecnología

#### 2. LA BIOTECNOLOGIA EN LA INDUSTRIA DEL PETROLEO

Teniendo en consideración que las principales fuerzas que impulsan actualmente la industria petrolera en el mundo son: la creciente demanda de combustibles, la necesidad de procesar crudo pesado, el

desarrollo de productos con mayor valor agregado, el daño económico y en infraestructura causado por la corrosión, la búsqueda de un mayor nivel de rentabilidad, el cumplimiento de una reglamentación cada vez más exigente y la necesidad de producir combustibles más limpios.

Ante esta situación, en la actualidad y se prevé que en el futuro las industrias, entre ellos el sector petrolero, se encontrarán sujeto a una normatividad ambiental cada vez más estricta, por el aumento en el procesamiento de petróleo pesado (rico en azufre) y por la reducción de las reservas probadas. Por lo que el propósito de la biotecnología es hacer frente a estos factores, como una alternativa a las diferentes áreas que forman la industria petrolera: exploración, producción, refinación, y petroquímica.

Recientemente, la industria petrolera se ha interesado en los procesos biotecnológicos no sólo para tratar los efluentes y sitios contaminados que genera, sino como una serie de tecnologías alternativas en las áreas de exploración, producción, refinación y petroquímica.

Asimismo, la disminución en las reservas internacionales de crudo y la sobreproducción agrícola en los países industrializados han catalizado la investigación en fuentes alternativas de combustibles y materiales. Estos esfuerzos no se ven aún consolidados en la práctica por falta de competitividad. Sin embargo, se considera que la biotecnología tendrá un impacto importante en el mediano y largo plazo.

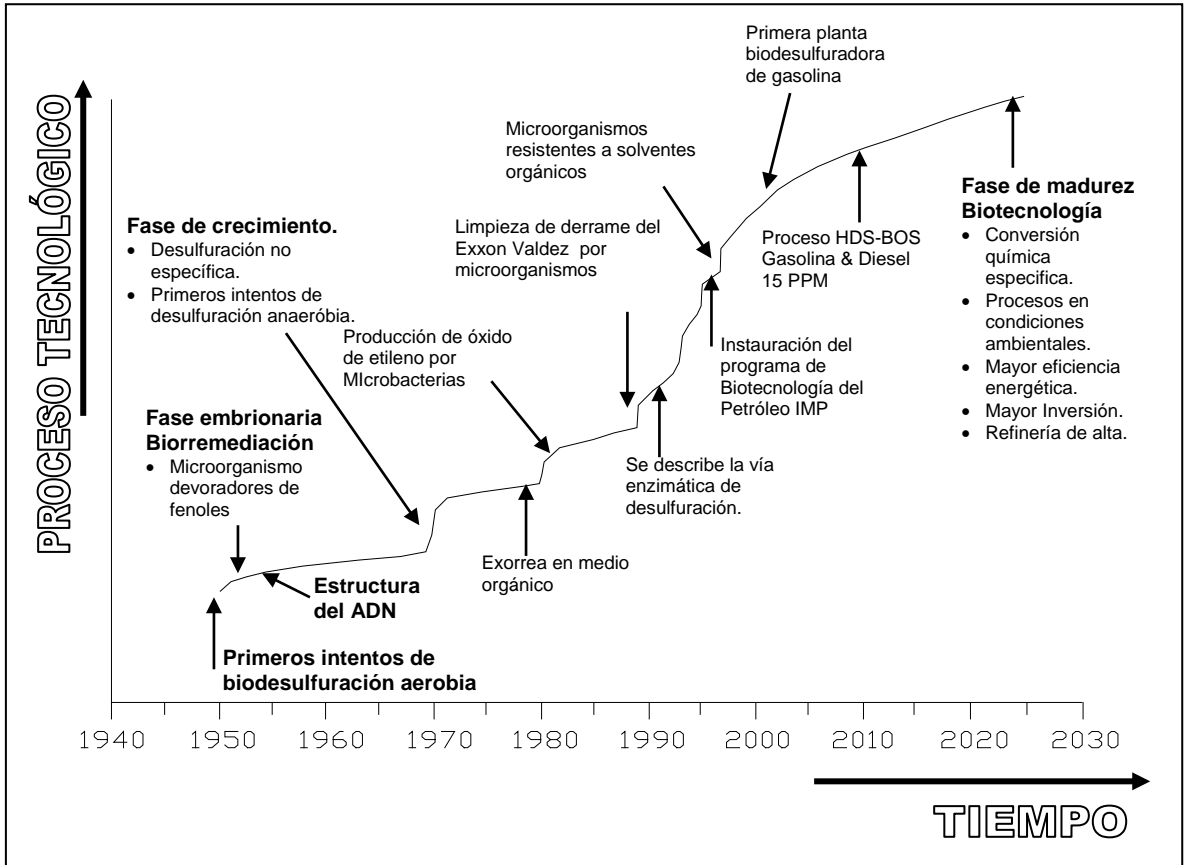
### **3. CONTEXTO Y ENTORNO ACTUAL**

La biotecnología del petróleo surgió como una respuesta al reto de generar tecnologías innovadoras que ayuden a alcanzar las metas de sustentabilidad, de acuerdo con la política nacional ya sea de un país en particular o a nivel mundial. Si bien es cierto que la biotecnología del petróleo es un área de reciente creación, los sistemas biológicos son y pueden ser utilizados en las diferentes plataformas que integran el sector petrolero:

- **La Prospección Geomicrobiológica (exploración)**
- **La Recuperación Microbiana de Petróleo (producción)**
- **El Bioprocesamiento del Petróleo (refinación)**
- **La Bioconversión del Petróleo y Gas (petroquímica)**
- **Biocorrosión (daño por corrosión a infraestructura y líneas de producción generado por microorganismos)**
- **Biotecnología Ambiental (permiten reducir el impacto ambiental generado durante la cadena productiva del petróleo).**

El conocimiento empírico generado desde tiempos remotos como por ejemplo la fermentación alcohólica y láctica, aunado al conocimiento científico producido desde el descubrimiento de la estructura del ADN, nos

permite afirmar que la biotecnología tendrá un impacto favorable en la industria petrolera.  
 La siguiente figura muestra como el Instituto Mexicano del Petróleo (IMP) proyecta desarrollar la biotecnología en la industria del petróleo.



Mapa tecnológico de la biotecnología del petróleo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Aburto A Jorge A., Rojas A Norma, Quintero R Rodolfo. **BIOTECNOLOGIA** (Capítulo 6). México



## CAPITULO II

### LAS BACTERIAS

#### 1. CONCEPTO

Las bacterias, son microorganismos procarióticos unicelulares que poseen un solo cromosoma circular además muchas de ellas pueden tener también DNA extracromosomal (plásmidos), su tamaño es variable cuyo límite inferior está en los  $0,2\mu$  y el superior en los  $50\mu$  sus dimensiones medias oscilan entre  $0,5$  y  $1\mu$ . Su importancia radica en el hecho de haber desarrollado una pared celular o membrana externa que les confirió, desde el principio, de autonomía y protección con respecto a su medio ambiente.

Las bacterias constituyen un factor fundamental para la vida como parte de la microbiota normal de los seres humanos, induciendo, facilitando procesos metabólicos e impidiendo la colonización por parte de agentes patógenos. Su origen dataría de 3,25 billones de años atrás (3,1 billones según algunos autores) y el de las Algas Verde-Azuladas de 2,7 billones de años atrás.

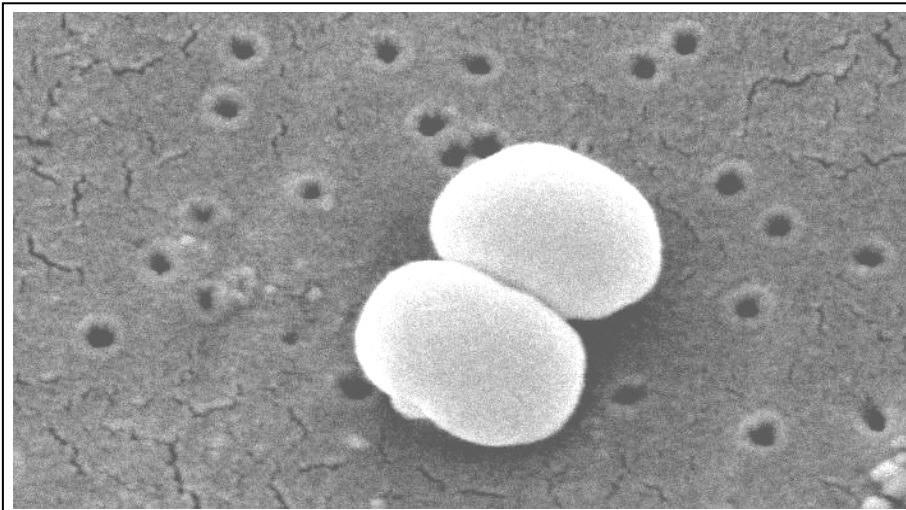
Análogamente tienen un papel importante en la industria y permiten desarrollar importantes progresos en la investigación, concretamente en fisiología celular y en genética. El examen microscópico de las bacterias nos permite identificarlas, ya que existen pocos tipos morfológicos, cocos (esféricos), bacilos (bastón), espirilos (espiras) y es necesario por lo tanto recurrir a la microscopía óptica y electrónica.

#### 2. CLASIFICACION DE LAS BACTERIAS

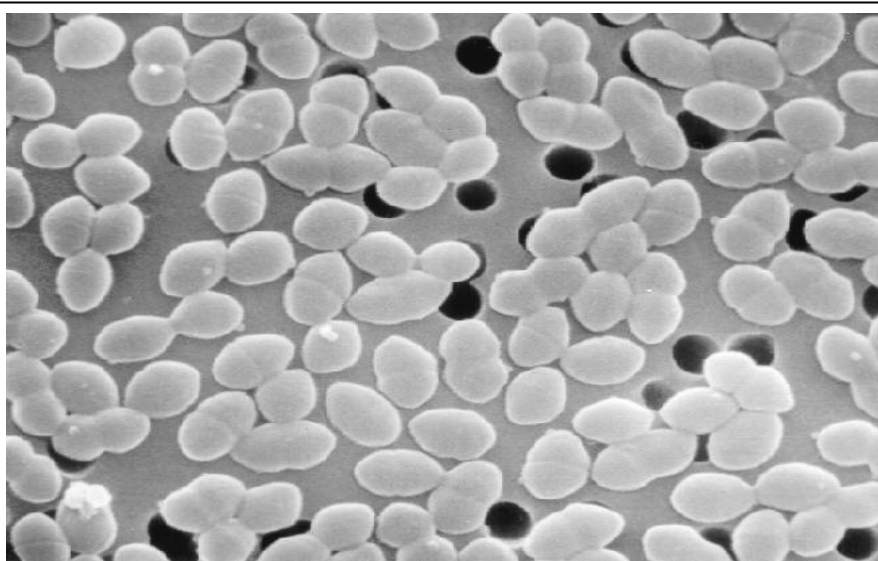
La identificación de las bacterias es tanto más precisa cuanto mayor es el número de criterios utilizados, esta identificación se realiza en base a modelos, agrupados en familias y especies en la clasificación bacteriológica. Las bacterias se reúnen en 11 órdenes:

- a. **Las eubacteriales, esféricas o bacilares;** que comprenden casi todas las bacterias patógenas y las formas fotótrofas.
- b. **Las pseudomonadales;** orden dividido en 10 familias entre las que cabe citar las Pseudomonae y las Spirillaceae.
- c. **Las espiroquetales** (treponemas, leptospiras).
- d. **Las actinomicetales** (micobacterias, actinomicetes).
- e. **Las rickettsiales.**

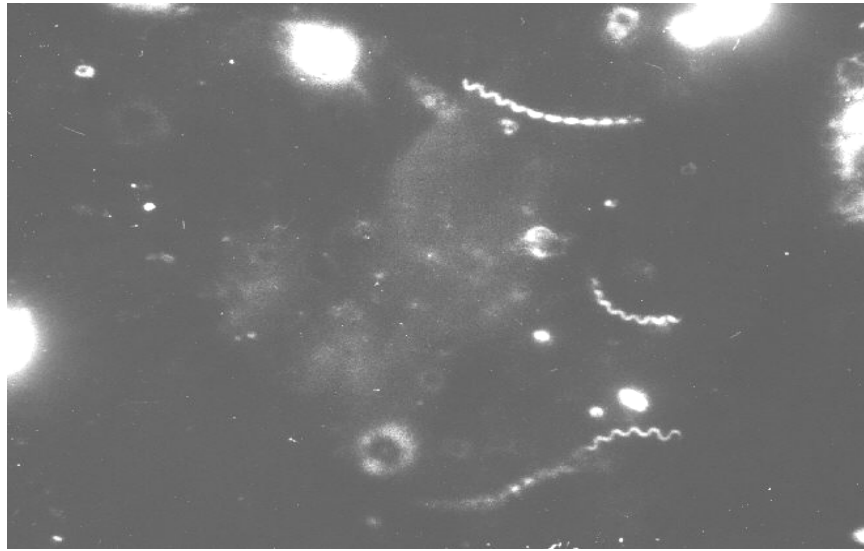
- f. **Las micoplasmales.**
- g. **Las clamidobacteriales.**
- h. **Las hifomicrobiales.**
- i. **Las begiatoales.**
- j. **Las cariofanales.**
- k. **Las mixobacteriales.**



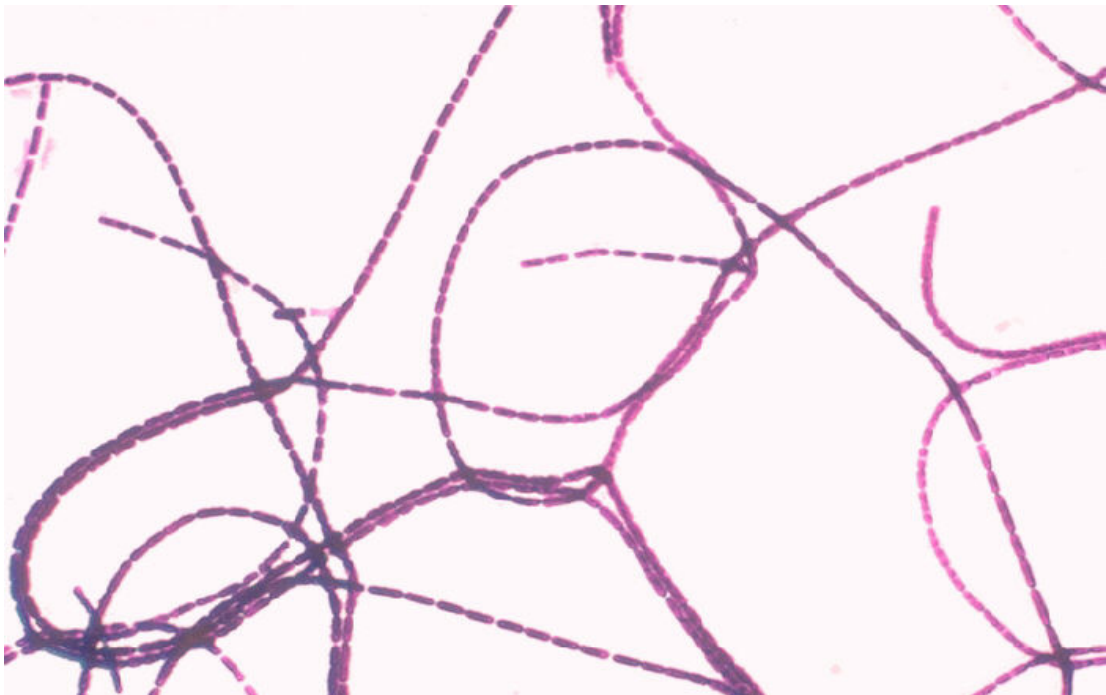
SEM. *Staphylococcus epidermidis*. Cocos gram positivos, agrupados en racimos.



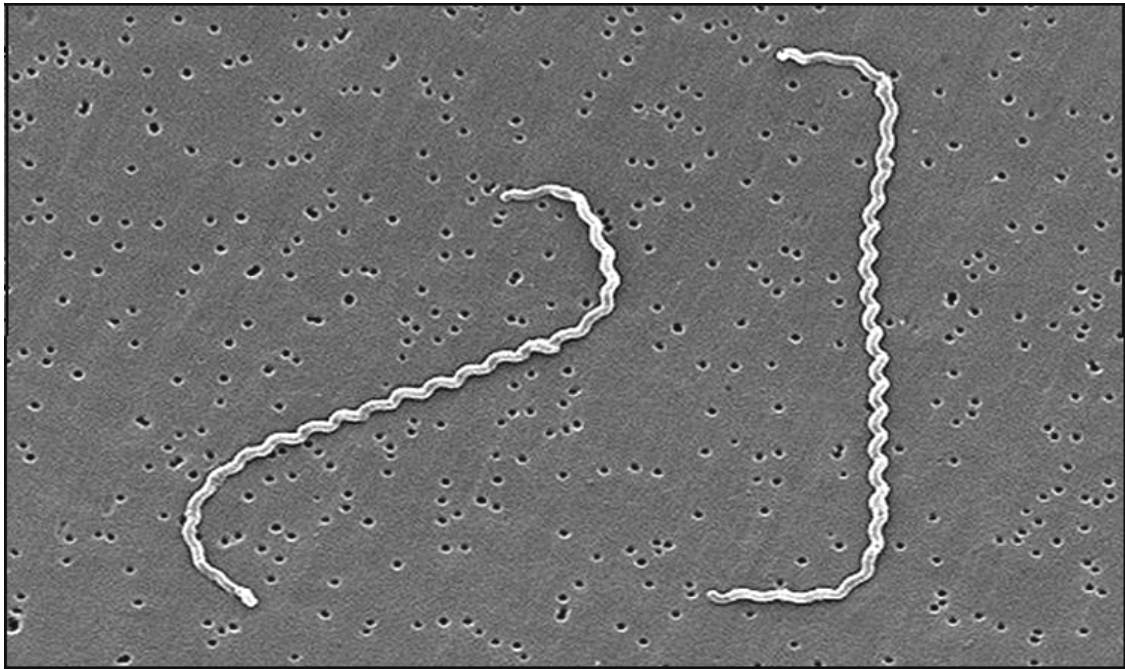
SEM. *Escherichia coli*. Bacilos cortos gram negativos organizados en cadenas



Campo oscuro. *Treponema pallidum*. Se le ubica dentro de las espiroquetas.



Tinción Gram. *Bacillus anthracis*. Bacilo aeróbico gram positivo. Forma esporas. Se agrupa en cadenas



SEM. *Leptospira interrogans* Con *Borrelia* y *Treponema* conforma las familias de espiroquetas patógenas.

### 3. MORFOLOGIA Y ESTRUCTURA DE LAS BACTERIAS

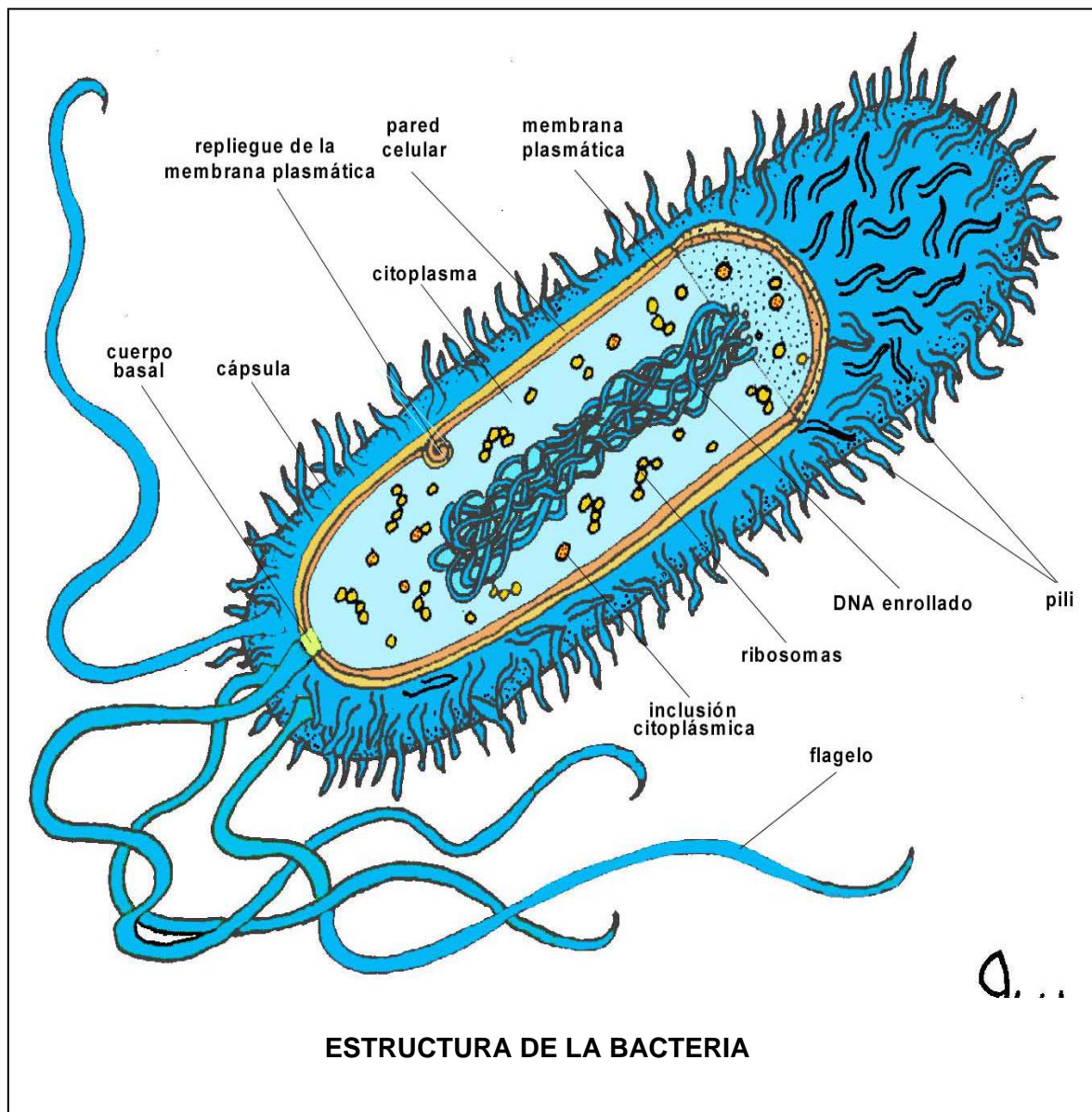
La célula bacteriana consta:

#### a. Nucleoide

El cromosoma procariótico (DNA constituido por cadenas complementarias antiparalelas de nucleótidos asociados a proteínas) es circular y en algunos casos lineal, presenta dominios de superenrollamiento debido a que se dobla y tuerce para ser almacenado en la célula, que en promedio mide 1 micrómetro, este genoma mide entre 1 - 6 millones de pares de bases de DNA (es decir, de 1 - 6 Mb); el nombre nucleoide sirve para identificar a este DNA no confinado por una membrana. Cuando la célula se encuentra en fase logarítmica (de crecimiento rápido) pueden encontrarse varias copias cromosómicas, completas o parciales. Las bacterias, organismos haploides y de reproducción asexual, intercambian material genético en forma de fragmentos de cromosoma (casi siempre), y en un sentido, es decir, "la célula que da no puede recibir". Estos mecanismos de transferencia se llevan a cabo por: conjugación, transformación, transducción y transposición.

Otros fragmentos de DNA que se localizan en la célula bacteriana son los plásmidos, pequeños fragmentos circulares de DNA, se encuentran en el citoplasma de una gran cantidad de bacterias, se replican de manera independiente y son transmitidos a otras bacterias durante la división binaria, por lisis de la célula o durante la conjugación. Estos fragmentos de información pueden determinar la resistencia a

antibióticos y a otros inhibidores del crecimiento (Plásmidos R). También hay plásmidos que determinan la virulencia, otros que transmiten información sobre rutas bioquímicas. Se consideran una herramienta muy útil en trabajos de biología molecular y genética. Las secuencias de inserción, pequeños fragmentos de DNA que codifican para una enzima requerida en la excisión de DNA y su posterior reincisión en otro sitio (transposición). Los transposones son secuencias de inserción de mayor tamaño; codifican para genes de resistencia a antibióticos, virulencia, y se mueven fácilmente entre secuencias de DNA.



## **b. Citoplasma**

Como estructura, de ella dependen las funciones de división, metabolismo y crecimiento, cuenta con ribosomas de menor tamaño en relación a células eucariotas no presenta mitocondrias, retículo endoplásmico ni cuerpo de Golgi; las enzimas para el transporte de electrones se encuentran en la membrana citoplásmica. Los pigmentos requeridos por bacterias fotosintéticas se localizan en vesículas o bolsas aplanadas debajo de la mencionada membrana. Las reservas se observan como gránulos insolubles (azufre, glucógeno, fosfatos y otros). La base del citoplasma es parecida a un gel en el que se ubican enzimas, vitaminas, iones, agua, nutrientes, gases, desechos, el nucleoide y plásmido.

## **c. La membrana citoplásmica**

También llamada membrana celular, es la capa más interna y está compuesta por proteínas y fosfolípidos (carece de esteroides, pero presenta ácidos grasos saturados o monoinsaturados, con excepción de los icoplasmas). Sus funciones son la permeabilidad selectiva y transporte de solutos (la mayor parte de las moléculas que la atraviesan no lo hacen de forma pasiva), la fosforilación oxidativa en los organismos aeróbicos, la liberación de enzimas hidrolíticas, el desplegamiento de receptores.

## **d. Pared celular**

Se encuentra entre la membrana citoplásmica y la cápsula, da forma a la célula. Su composición varía entre bacterias, en bacterias gram positivas, consta principalmente de una gruesa capa de peptidoglicano que retiene el cristal violeta utilizado en la tinción de Gram, ácidos teicóicos y teicurónicos (polímeros solubles en agua). En bacterias gram negativas cuentan con una capa delgada de peptidoglicano y en su parte externa presentan moléculas de lipopolisacárido (capa de lipopolisacárido o LPS) un componente único. Las bacterias ácido - alcohol resistentes (*Mycobacterium*), presentan en la pared una gran cantidad de glicolípidos, principalmente ácidos micólicos (60%) responsables en parte de la ácido - alcohol resistencia y la impermeabilidad de estos organismos. Los peptidoglicanos les confieren una forma estable e impiden la ósmosis lítica. La tinción ácido - alcohol utilizada para visualizar las bacterias es una mezcla de fucsina básica y fenol, calor y contraste con azul de metileno; al finalizar la técnica, los organismos ácido - alcohol resistentes se aprecian rojos, mientras que el fondo se tiñe de azul.

## **e. Espacio periplásmico**

Es el espacio entre la membrana interna y la externa de las células Gram negativas. Contiene la capa de mureína y una solución gelode de proteínas; incluye proteínas de unión para los sustratos específicos,

enzimas proteolíticas y quimiorreceptores. En ausencia de este espacio, las bacterias Gram positivas secretan exoenzimas.

#### **f. Cápsula**

Es una cubierta de grosor variable formada principalmente por polisacáridos y poliproteínas, también llamada glucocálix cuando es menos definida. De acuerdo a su estructura química, puede ser flexible o rígida, la rigidez le confiere la característica de una matriz impermeable. Determina la adhesión a superficies, constituye una barrera de protección contra la fagocitosis e impide la desecación y la acción de otros agentes.

#### **g. Flagelos**

Son apéndices filamentosos y muy finos compuestos por la proteína flagelina dispuesta en fibras helicoidales y con apariencia lisa, anclados a la pared celular. Presenta un gancho, que une el filamento al cuerpo basal (parte motora), su función es el desplazamiento de la célula mediante movimientos variables de rotación. Su distribución es variable: polar, peritrica, así como su número. Independientemente del mecanismo de locomoción que desplieguen las bacterias, éste les permite responder en sentido positivo o negativo a gradientes fisicoquímicos (quimiotropismo, fototropismo).

#### **h. Fimbrias**

Son estructuras proteicas semejantes a los flagelos, pero muy cortas; se relacionan con la fijación a ciertas superficies y la formación de biopelículas.

#### **i. Pili - o "pelos"**

Son semejantes a las fimbrias, pero más largos y escasos. Participan en la conjugación.

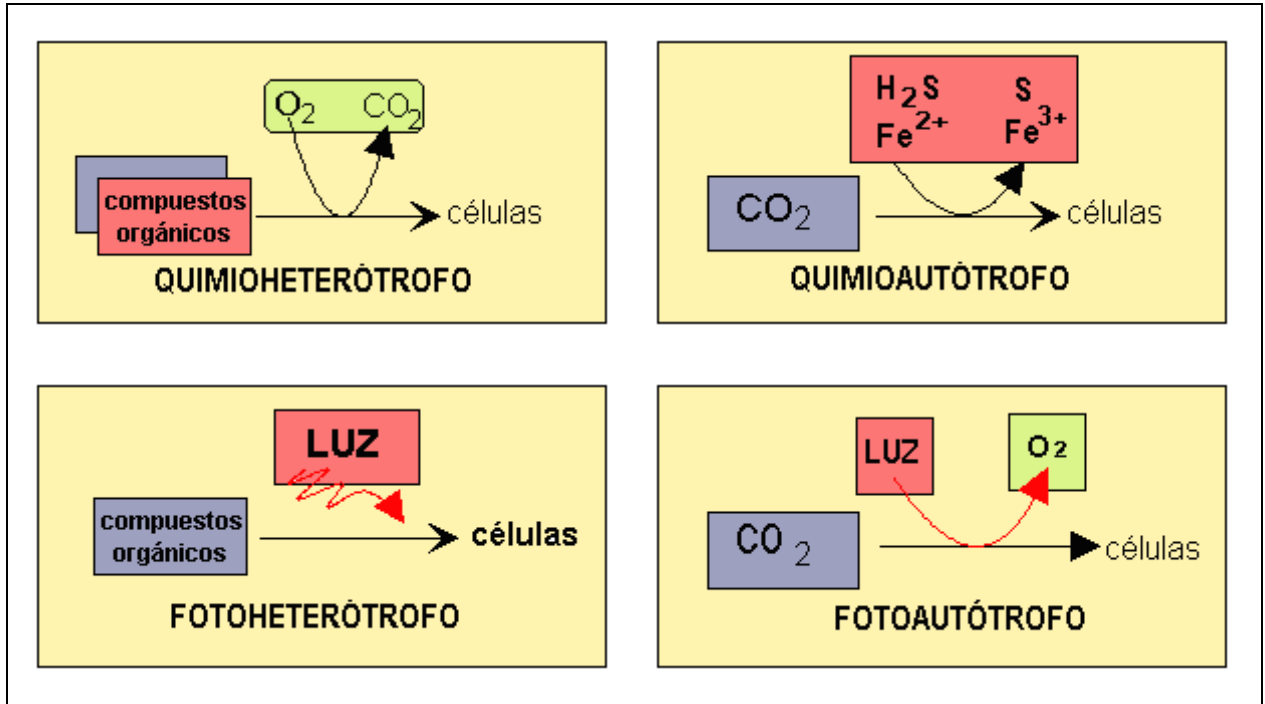
#### **j. Espora**

Estructura de varias capas formada por algunas especies de bacterias. Es una célula altamente diferenciada cuyas características le confieren gran resistencia ante el medio ambiente y agentes nocivos. Denominada endospora debido a que se forma dentro de la bacteria.

### **4. NUTRICION DE LAS BACTERIAS**

El éxito evolutivo de las bacterias se debe en parte a su versatilidad metabólica, todos los mecanismos posibles de obtención de materia y energía podemos encontrarlos en las bacterias. Según la fuente de carbono que utilizan, los seres vivos se dividen en autótrofos, cuya principal fuente de carbono es el CO<sub>2</sub>, y heterótrofos cuando su fuente de carbono es materia orgánica. Por otra parte

según la fuente de energía, los seres vivos pueden ser fototrofos, cuya principal fuente de energía es la luz, y los organismos quimiotrofos, cuya fuente de energía es un compuesto químico que se oxida. La siguiente figura ilustra los procesos indicados.



Atendiendo a las anteriores categorías, entre las bacterias podemos encontrar las siguientes formas, como puede apreciarse en el esquema:

**a. Las bacterias quimioheterótrofas**

Utilizan un compuesto químico como fuente de carbono, y a su vez, este mismo compuesto es la fuente de energía. La mayor parte de las bacterias cultivadas en laboratorios y las bacterias patógenas son de este grupo.

**b. Las bacterias quimioautótrofas**

Utilizan compuestos inorgánicos reducidos como fuente de energía y el  $CO_2$  como fuente de carbono. Como por ejemplo, Nitrobacter, Thiobacillus.

**c. Las bacterias fotoautótrofas**

Utilizan la luz como fuente de energía y el  $CO_2$  como fuente de carbono (Bacterias purpúreas).

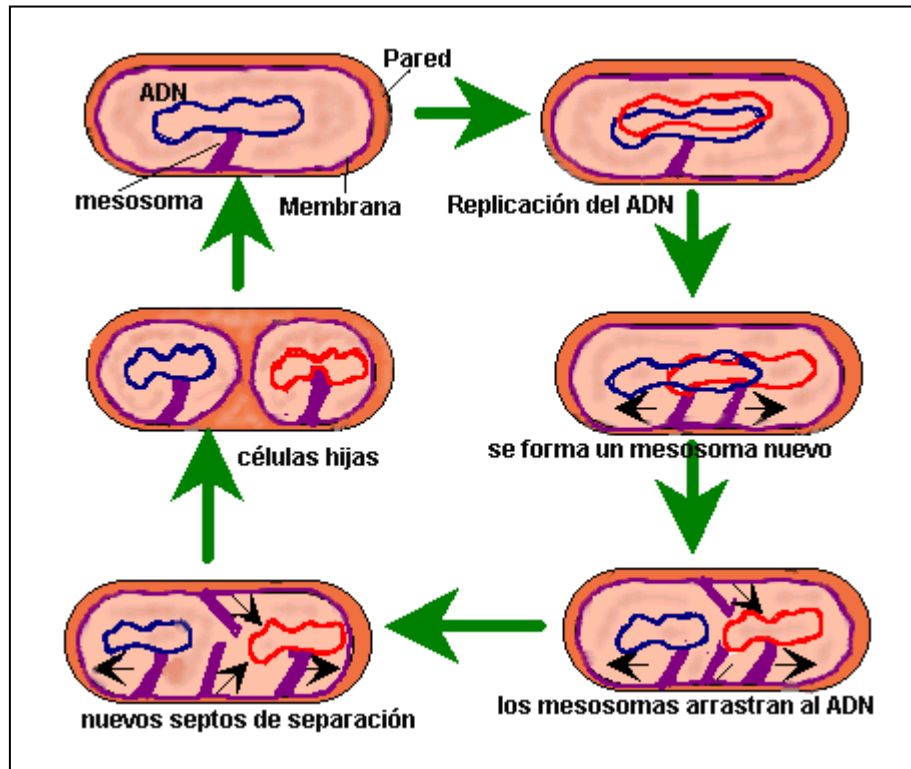
**d. Las bacterias fotoheterótrofas**

Utilizan la luz como fuente de energía y biomoléculas como fuente de carbono. Ejemplos como Rodospirillum y Chloroflexus.



## 5. REPRODUCCION DE LAS BACTERIAS

Generalmente las bacterias se reproducen por bipartición, como se ve en el siguiente esquema:



Tras la duplicación del ADN, que esta dirigida por la ADN-polimerasa que se encuentra en los mesosomas, la pared bacteriana crece hasta formar un tabique transversal separador de las dos nuevas bacterias.

Pero además de este tipo de reproducción asexual, las bacterias poseen unos mecanismos de reproducción sexual o parasexual, mediante los cuales se intercambian fragmentos de ADN.

## 6. CRECIMIENTO BACTERIANO

El crecimiento de una población o cultivo bacteriano, básicamente esta expresada en el "aumento de masa de cultivo" y el "aumento de numero de células" siendo estos equivalentes cuando se trata de cultivos que estén en crecimiento balanceado.

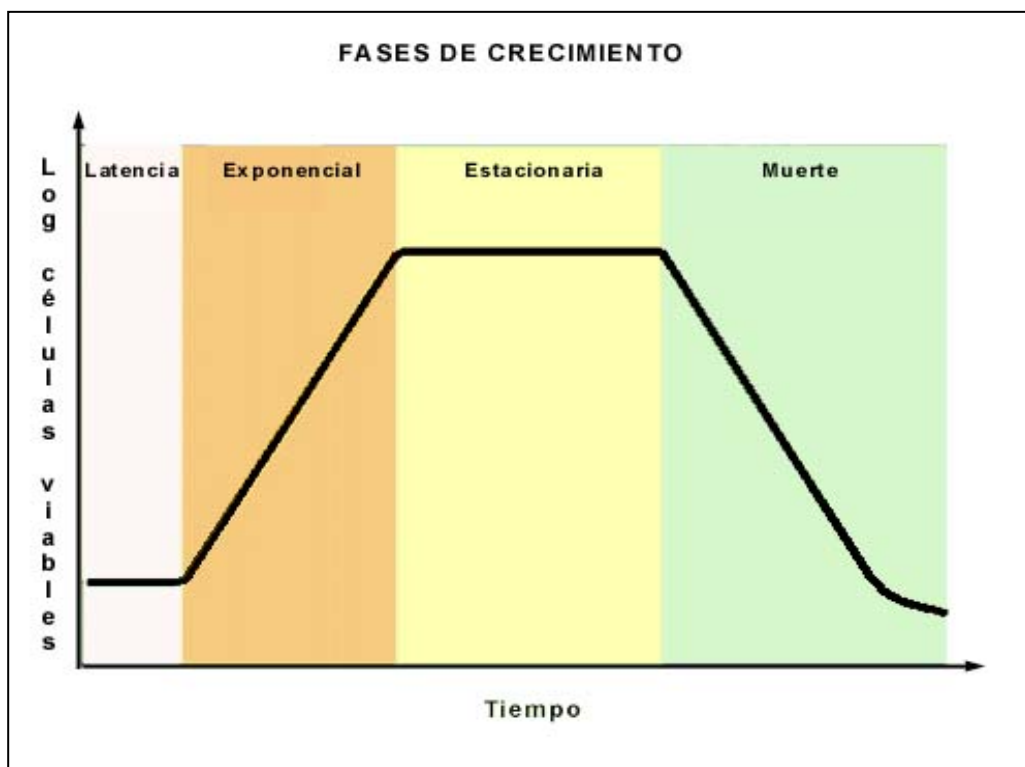
Existe una serie de métodos (directos e indirectos) que permiten evaluar los parámetros de crecimiento, dichos métodos dependen del tipo de cultivo efectuado (cultivos continuos, cultivos en sistemas cerrados, etc.); para el presente trabajo se detalla los procesos de un cultivo en un sistema cerrado en medio liquido ya es el que se asemeja a un reservorio de petróleo.

La multiplicación celular es una consecuencia directa del crecimiento (incremento ordenado de los componentes de un organismo), y da lugar, en el caso de las bacterias, a colonias mediante un sistema de reproducción asexual

denominado división (fisión) binaria. Los procesos sintéticos involucrados en el crecimiento bacteriano incluyen más de 2000 reacciones bioquímicas.

La velocidad de crecimiento es el cambio en número de células por unidad de tiempo, y se expresa como el tiempo de generación, que es el tiempo necesario para que se duplique una célula o una población de ellas. Cuando se tiene una población celular individual en cultivo cerrado (es decir, no renovado), se obtiene una curva de crecimiento, que es el modelo de incremento celular bajo tales condiciones.

La curva de crecimiento se ha dividido en fases: de latencia, exponencial, estacionaria y de muerte. La fase de latencia no se presenta cuando el inóculo es nuevo; en cambio, si dicho inóculo proviene de un cultivo viejo requiere de este período de adaptación. La mayor parte de las bacterias crece de forma exponencial, aunque hay condiciones que lo influyen (nutrientes en el medio, temperatura, factores genéticos). En la fase estacionaria no hay una modificación neta en el número de células, existe un frágil equilibrio que desaparece eventualmente, cuando aún las células metabólicamente activas mueren, debido a productos tóxicos y falta de nutrientes (factores presentes en la fase estacionaria) aunados a enzimas liberadas por la lisis celular.



Se puede medir el crecimiento de las bacterias siguiendo la evolución a lo largo del tiempo del número de bacterias por unidad de volumen. Se utilizan métodos directos como pueden ser el conteo de gérmenes mediante el microscopio o el conteo de colonias presentes después de un cultivo de una dilución de una muestra dada en un intervalo de tiempo determinado. Igualmente se utilizan métodos indirectos (densidad óptica más que técnicas bioquímicas).

Existen seis fases en las curvas de crecimiento. Las más importantes son la fase de latencia (que depende del estado fisiológico de los gérmenes estudiados) y la fase exponencial, en la que la tasa de crecimiento es máxima. El crecimiento se para como consecuencia del agotamiento de uno o varios alimentos, de la acumulación de sustancias nocivas, o de la evolución hacia un PH desfavorable; se puede obtener una sincronización en la división de todas las células de la población, lo que permite estudiar ciertas propiedades fisiológicas de los gérmenes.

## CAPITULO III

### RECUPERACION ASISTIDA DE PETROLEO POR BACTERIAS (MEOR)

#### 1. CONCEPTO

La recuperación asistida es generalmente considerada como la tercera o última etapa de la secuencia de procesamiento del petróleo, en ciertos casos se la considera como una producción terciaria. El primer paso o etapa inicial del procesamiento del petróleo comienza con el descubrimiento del yacimiento, utilizando los mismo recursos que la naturaleza provee para facilitar la extracción y la salida del crudo a la superficie (generalmente se utiliza la expansión de los componentes volátiles y/o el pumping o bombeo forzado para removerlo hacia la superficie). Cuando se produce una considerable disminución de esta energía, la producción declina y se ingresa en la etapa secundaria donde energía adicional es administrada al reservorio por inyección de agua, inyección de gas etc. Cuando la inyección de agua u otros deja de ser efectiva por la evaluación entre una pequeña extracción de crudo y un elevado costo de la operación, se considera de mayor provecho el tratamiento del pozo. Se inicia en este punto el tratamiento terciario o recuperación asistida del pozo de petróleo.

La técnica que emplea microorganismos y sus productos metabólicos para la estimulación de la producción de petróleo en ciertos reservorios candidatos es conocida como recuperación asistida por bacterias o en inglés "microbial enhanced oil recovery (MEOR) or microbial oil recovery enhancement (MORE)". Esta técnica consiste en la inyección de microorganismos seleccionados dentro del reservorio y la posterior estimulación y transporte de sus productos metabólicos generados in situ a fin de obtener una reducción del petróleo residual dejado en el reservorio. Estos microorganismos pueden actuar como agentes mobilizantes de petróleo residual o agentes tapón para aislar selectivamente zonas no deseadas del reservorio.

#### 1. RESEÑA HISTORICA <sup>2</sup>

El concepto de recobrar más petróleo de los yacimientos mediante el uso de micro-organismos se remonta al año de 1913 cuando J.B. Davis escribió por vez primera acerca del uso de microbios en la naciente industria

---

<sup>2</sup> Coveñas Rafael, L. T. B. A. y Stanley L., Valdez Rojas & Hogg S: A. MEJORAMIENTO DE LA PRODUCCION DE PETROLEO MEDIANTE EL USO DE APLICACIONES BIOTECNOLOGICAS

petrolera en su libro, Petroleum Microbiology ó La Microbiología del Petróleo. Después en 1926, el inglés Beckham propuso la teoría de crear un "nuevo flujo" del crudo inerte que permanece en el yacimiento después de que el gas en solución haya sido agotado, inyectando microorganismos que ingerieran hidrocarburos en el yacimiento, a medida que metabolizaran el crudo ingerido, producirían gases y otros bio-productos que podrían causar que el crudo inerte fluyera de nuevo.

A pesar de ello, poco fue hecho hasta que ZoBell comenzó una serie de investigaciones sistemáticas de laboratorio en los años 40, las ideas y resultados presentados en los artículos de ZoBell marcaron el comienzo de una nueva era en la investigación de la microbiología del petróleo.

Su trabajo se centró en la factibilidad de separar petróleo de las rocas reservorios mediante el uso de cultivos de bacterias enriquecidas; de hecho, el demostró este concepto inyectando bacterias sulfo-reductoras de tipo anaeróbicas en una solución nutriente de lactato de sodio con la que saturó muestras de areniscas petrolíferas de Athabasca (viscosidad del crudo del orden del millón de cpoises) en botellas de vidrio selladas. La multiplicación de bacterias fue acompañada con una separación gradual de petróleo del interior de la arenisca.

En sus trabajos, se enunciaron los siguientes mecanismos de liberación de petróleo:

- Disolución de la matriz de la roca en reservorios carbonáticos. La presencia de bacterias sulfo reductoras transforman el sulfato en H<sub>2</sub>S, el cual es ligeramente ácido, este compuesto acidulado tiende a reducir el PH del medio con lo que la siguiente ecuación se desplaza hacia el lado derecho:



Si los carbonatos inorgánicos son disueltos, entonces el petróleo adsorbido a ellos es liberado.

- Generación in situ de gases. Este gas extra ayuda a empujar el petróleo fuera del espacio poral.
- Afinidad de las bacterias hacia los sólidos. Las bacterias se depositan sobre la superficie y se pegan a la misma para generar membranas biológicas que encapsulan el petróleo para así ser transportado más sencillamente.
- Reducción de la tensión superficial. Las bacterias producen substancias activas para las superficies o agentes mojantes que son parcialmente responsables de la liberación de petróleo de los sólidos.

Además, de enunciar los principales mecanismos de liberación, en sus trabajos, ZoBell presentó algunas consideraciones muy importantes:

- Más trabajo experimental debería ser conducido antes de que alguna aplicación positiva de campo pudiera ser realizada.

- Se deberían realizar ensayos de compatibilidad entre las bacterias y la formación.
- Las bacterias empleadas en estos estudios presentan un efecto altamente corrosivo sobre estructuras de hierro.

Por el comienzo de los años 50, muchas compañías americanas de petróleo se mostraron interesadas en estas tempranas ideas y dedicaron esfuerzo en expandirlas, desafortunadamente, mucho del trabajo realizado por estas compañías permanece bajo el registro de propiedad y sólo es disponible a través de patentes. Las siguientes dos décadas fueron caracterizadas por un impasse en la investigación sobre MEOR en los países industrializados occidentales debido al bajo precio del petróleo. Esto les permitió a los países europeos del este convertirse en líderes en esta área. Las investigaciones desarrolladas en este período en Checoslovaquia, Hungría, Polonia, U.R.S.S. y básicamente en Rumania fueron consideradas invaluable. Estos países realizaron muchos ensayos de campo, basados en la inyección de mezclas de cultivos de bacterias anaeróbicas, lo cual resultó en el desarrollo de la secuencia de inyección, y la identificación de los factores claves que pueden producir resultados negativos en los tratamientos con microorganismos. En los años 70 el embargo de crudo renovó el interés en cualquier tecnología de recuperación asistida de petróleo por parte de los países occidentales, dando un nuevo aire a la investigación de esta tecnología. Estados Unidos, Canadá, Gran Bretaña, Australia, Alemania e Israel se encuentran entre los países que demostraron mayor interés al respecto por ese tiempo. Para el final de los años 70, existía suficiente información de laboratorio y campo sobre mecanismos, estrategias y performances de varios enfoques de MEOR.

La estimulación de pozos individuales, el mejoramiento de la performance en la inyección de agua y el taponamiento selectivo habían sido demostrados como aplicaciones factibles de campo. Durante los años 80 la selección de objetivos y el sistema de desarrollo fueron entendidos de una manera más clara en base a una revisión de los fundamentos.

A principios de los años 90 el departamento de energía de los Estados Unidos (DOE) redujo los fondos destinados a la investigación de esta área, subvencionando trabajos que involucraran sólo pruebas en campo. Esto produjo una desaceleración en la investigación y publicación en este campo, un informe de 1996 publicado por el Oil&Gas Journal<sup>1</sup> indica que a pesar de que en ese año sólo se había recibido respuesta de que dos yacimientos (uno en China y otro en Estados Unidos) se encuentran aplicando procesos de MEOR, la universidad de Canberra menciona que esta tecnología está siendo empleada por varios operadores en el Mar de Norte. Además, una compañía que provee productos biológicos dentro de los Estados Unidos reporta que en los últimos 9 años más de 2000 pozos recibieron tratamientos con bacterias y actualmente esta compañía tiene 400 proyectos activos. El mismo informe indica que en 1994 nueve proyectos activos existían en Rumania.

## 2. MICROBIOLOGIA DEL PETROLEO

### 1.1 CONCEPTO

La microbiología del petróleo puede ser definida como el estudio de la distribución de bacterias indígenas, la fisiología de las bacterias bajo condiciones de reservorio, la interacción entre las bacterias inyectadas y las indígenas y el control de la actividad microfloral en el reservorio de manera tal que la inyección potencial de un cultivo de bacterias y/o la estimulación de la actividad de las bacterias indígenas pueda traer resultados positivos en la recuperación de petróleo.

### 1.2 EL PETROLEO <sup>3</sup>

Químicamente, el petróleo es una mezcla compleja de hidrocarburos, es decir, de compuestos ricos en carbono e hidrógeno, aunque contiene otros elementos minoritarios como azufre, oxígeno y nitrógeno, así como trazas de metales; es compleja porque dada la capacidad del átomo de carbono de formar cuatro enlaces con otros átomos de carbono, se pueden organizar como cadenas o como ciclos (Tabla 1). Las cadenas se conocen como compuestos alifáticos, y consisten en sucesiones de átomos de carbono unidos entre sí por enlaces sencillos (alcanos), dobles (alquenos) o triples (alquinos) mientras que el resto de las valencias son ocupadas por hidrógenos. Los alcanos son la familia más numerosa en el petróleo crudo y se conocen como parafinas, pueden ser lineales o ramificados y su longitud varía de 1 a 40 carbonos, aunque se ha logrado detectar cadenas de 60 carbonos. Los alquenos son conocidos como olefinas y son una fuente valiosa de reactantes para la industria sintética. Los ciclos pueden ser saturados, donde varios carbonos se unen entre sí por medio de enlaces sencillos, ó pueden ser aromáticos, donde algunos carbonos del ciclo están unidos por enlaces dobles; los ciclos saturados se conocen como cicloalcanos, ciclo-parafinas o naftenos y son un componente minoritario del petróleo crudo, los compuestos aromáticos son derivados del benceno, un anillo de seis carbonos unidos por tres enlaces sencillos y tres enlaces dobles alternados. Los anillos pueden encontrarse fusionados entre ellos o sustituidos con cadenas alifáticas. Los hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPAs) ó poli núcleo-aromáticos comprenden del 10 al 25% del petróleo crudo y son las fracciones más pesadas (Tabla 1).

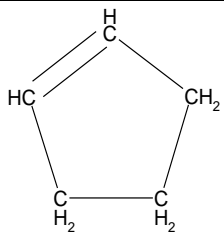
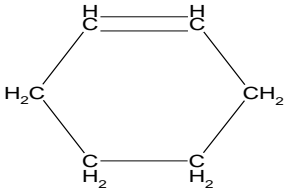
Para la industria petroquímica, la propiedad física del petróleo más importante es la temperatura de ebullición ya que sus componentes suelen ser separados por destilación mediante el incremento de la temperatura en etapas. Como se puede observar en la Tabla 1 las moléculas más pequeñas son volátiles a temperatura ambiente y conforme aumenta su masa molecular lo hace también su punto de ebullición. Una vez separadas a temperaturas específicas, cada fracción es sometida a diferentes procesos de purificación, dependiendo

---

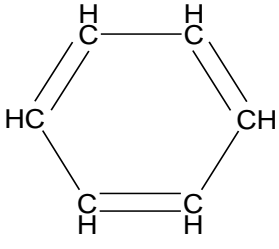
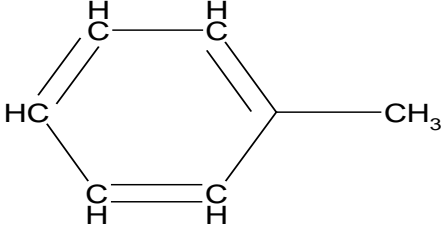
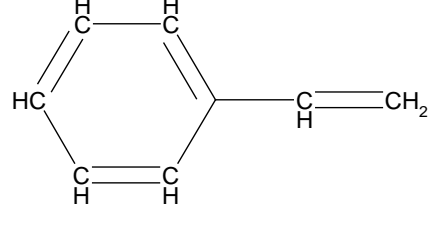
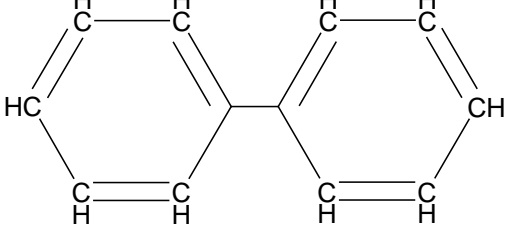
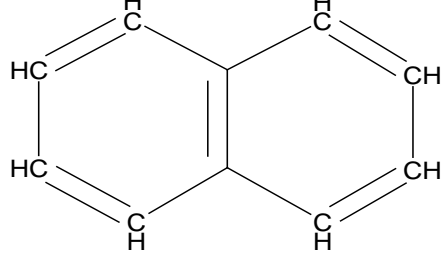
<sup>3</sup> Valderrama Brenda, Tellez-Sosa Juan; **MICROBIOLOGIA DEL PETROLEO Y SUS DERIVADOS**; Instituto de Biotecnología, UNAM; Cornavaca Mexico

el uso al que estén destinadas. El contenido de azufre y de metales pesados afecta el valor del petróleo crudo y de sus fracciones, ya que los procesos de remoción son costosos.

Existen numerosos estudios sobre la composición y el procesamiento del petróleo por lo que en este capítulo nos limitaremos a revisar aquellos aspectos donde se han utilizado microorganismos, básicamente en la producción del petróleo.

Compuesto	Estructura	Punto de ebullición (grados centígrados)
<b>n-Alcanos</b>		
Metano	CH <sub>4</sub>	-161,5
Etano	CH <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	-88,6
Propano	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-42,1
Butano	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-0,5
Pentano	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	36,1
Hexano	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	68,7
Heptano	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	98,4
Octano	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	125,7
Nonano	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	150,8
Decano	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	174,1
Pentadecano	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	270,6
Eicosano	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	343,8
<b>Alquenos</b>		
Etileno	CH <sub>2</sub> =CH <sub>2</sub>	-103,7
Propileno	CH <sub>2</sub> =CHCH <sub>3</sub>	-47,7
1-Buteno	CH <sub>2</sub> =CHCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-6,3
1-Penteno	CH <sub>2</sub> =CHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	29,9
1-Hexeno	CH <sub>2</sub> =CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	63,5
1-Hepteno	CH <sub>2</sub> =CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> CH <sub>3</sub>	93,6
1-Octeno	CH <sub>2</sub> =CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> CH <sub>3</sub>	121,3
Ciclopenteno		44,2
Ciclohexeno		82,9



Aromáticos		
Benceno		80
Tolueno		111
Estireno		145
Bifenilo		255
aftaleno		218

**TABLA 1.**

### 1.3 ORIGEN BIOLÓGICO DEL PETRÓLEO

Los combustibles fósiles, como el petróleo, reciben este nombre por provenir de estratos geológicos de origen orgánico formados hace millones de años. Según la teoría más aceptada en cuanto a que el origen del petróleo es de tipo orgánico y sedimentario es la planteada por Engler (1911), en el se indica que el petróleo proviene de grandes cantidades de plantas y animales marinos cuyos restos fueron cubiertos por sedimentos y formaron depósitos subterráneos.

El material biológico que dió origen a los depósitos de petróleo se encuentra fuertemente degradado, por lo que no es fácil inferir los primeros pasos de su conversión; sin embargo, existen otros tipos de yacimientos de hidrocarburos similares al petróleo conocidos como rocas sedimentarias químicas, a las cuáles pertenecen la turba, el lignito pardo, el lignito y el carbón o la hulla, y su estudio ha permitido elucidar sobre las primeras etapas en la conversión de restos orgánicos en hidrocarburos. Las sustancias ricas en hidrocarburos producidas por destilación de estos materiales son los kerosenos, el kerogeno se define como un complejo de materia vegetal y animal diagenéticamente transformada en el estado sólido y de origen sapropélico (Figura 1). El material de partida para los kerogenos son las plantas como los equisetos, los licopodios, los juncos, las cañas, los arbustos, los musgos pantanosos, entre otros; se cree que las plantas crecieron en pantanos y lagos de agua dulce, los cuales se inundaron ocasionalmente por mares llanos en un clima subtropical hasta tropical. Con la ausencia de aguas subterráneas circulantes la descomposición normal de los restos vegetales, que se basa en la presencia de oxígeno, termina enseguida bajo la cobertura de sedimentos y de otros restos vegetales y se forman gases como el dióxido de carbono y el metano.

A través de largos periodos de tiempo (millones de años), estos restos pasaron por dos etapas de degradación, una biológica y otra abiótica, se piensa que en la primera etapa, los microorganismos anaeróbicos convirtieron los restos orgánicos en algo parecido al keroseno actual. Durante la fase abiótica siguiente, las altas presiones y el calor cambian los sedimentos a rocas sedimentarias y el kerogeno a petróleo. Esta conversión parece haber sido catalizada por metales y por las mismas arcillas de los estratos. Gracias a la acumulación de gases (metano principalmente) que funcionan como propulsor, las pozas subterráneas de petróleo se movilizan hacia los poros y fracturas de las rocas y eventualmente afloran de manera espontánea a ras de suelo. Desde el punto de vista microbiológico, la identificación de los microorganismos participantes en la formación del kerogeno es todo un reto, ya que se trata de partículas microscópicas que existieron hace millones de años y cuyos remanentes se encuentran enterrados a cientos de metros de profundidad. Sin embargo, se ha logrado identificar algunas especies microbianas viables asociadas a depósitos de petróleo en explotación mediante herramientas moleculares, aunque no es posible asegurar que provienen del yacimiento y no de contaminación con especies contemporáneas. Una alternativa novedosa ha sido la búsqueda de

microfósiles asociados a yacimientos de keroseno, bajo condiciones muy especiales se ha podido identificar algunos de estos microfósiles como miembros de los grupos cianobacterias y protozoarios. Como una alternativa, se ha intentado la identificación de cierto tipo de moléculas orgánicas que sólo pueden provenir de organismos vivos, ya sean procariones o eucariotes. Estos fósiles moleculares se conocen como “bioindicadores” y son derivados de los lípidos celulares y de membranas, un estudio de este tipo ha sido aplicado a un yacimiento de kerogeno en Australia y permitió establecer que los tres grandes grupos de seres vivos, eubacterias, arqueobacterias y eucariotes, ya existían hace 3,800 millones de años y que son participantes potenciales en la fase biológica de la formación del petróleo.

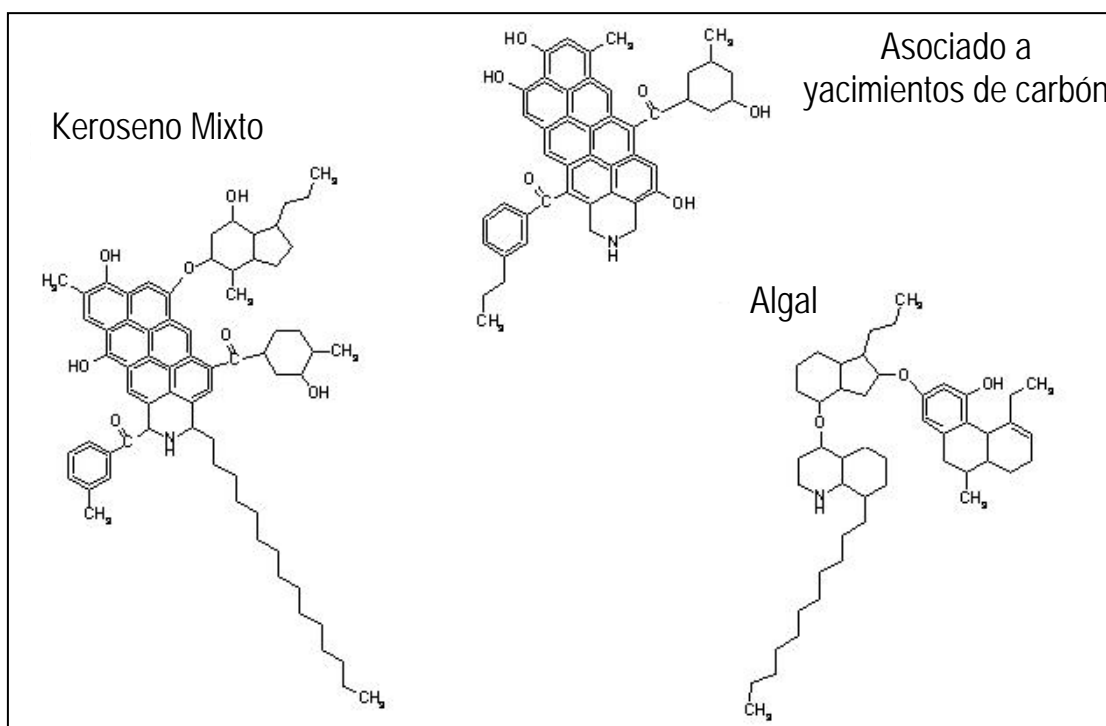


Figura 1. Estructura de moléculas de Keroseno de diferentes fuentes. <sup>4</sup>

### 3. METABOLISMO DE LAS BACTERIAS EN EL RESERVORIO

El estudio de la utilización de las bacterias con el propósito de mejorar la producción y la calidad del petróleo, que se obtiene, parte fundamentalmente porque para empezar, su origen es microbiano. En tal sentido el conocimiento del comportamiento de las bacterias dentro del pozo y/o reservorio de petróleo, es de suma importancia por cuanto de ella se obtendrán parámetros que nos permitan manejar de una manera optima los objetivos trazados; hay que tener en cuenta que existe una serie de situaciones a considerar como que, los microorganismos deben estar activos y saludables para que puedan desempeñar su tarea asimismo se deben generar condiciones ambientales optimas de tal manera que se

<sup>4</sup> Idem 3

pueda garantizar el crecimiento equilibrado de la población bacteriana para lo cual si es necesario se le proporcionara los nutrientes adecuados. El metabolismo de las bacterias en el pozo y/o reservorio de petróleo, básicamente esta relacionado a las interacciones entre las bacterias indígenas, las bacterias inyectadas y los materiales que constituyen el reservorio.

#### **4.1 BACTERIAS INDIGENAS**

Las bacterias indígenas o autóctonos son aquellas presentes en el yacimiento desde su formación. Para estimular su crecimiento, tal vez sea necesario proporcionarle una temperatura apropiada, los nutrientes adecuados, etc.

#### **4.2 BACTERIAS INYECTADAS**

Las bacterias inyectadas son aquellas preparadas en el laboratorio con un objetivo determinado.

#### **4.3 INTERACCIONES ENTRE LA BACTERIA INYECTADA Y LA BACTERIA INDIGENA <sup>5</sup>**

La interacción entre las bacterias inyectadas y las indígenas, es seguramente muy dificultoso de evaluar aunque debe ser realizado de alguna manera si se piensa inyectar alguna especie de bacteria en el reservorio. En el diseño de un proceso exitoso de MEOR, el cultivo de bacterias inyectado debe ser el dominante o la microflora en el reservorio debe formar un ecosistema simbiótico con las bacterias inyectadas para así generar un ambiente favorable para la recuperación de petróleo. A pesar de esto, poco trabajo de este tipo se ha hecho. En este caso, se debe considerar que posiblemente existirá competencia entre la bacteria inyectada y la indígena tal vez una inyección periódica de la bacteria deseada sea necesaria para poder obtener algún logro. Un enfoque novedoso para controlar especies indeseables de bacterias a través de bacterias patógenas ha sido propuesto y testeado en laboratorio.

La bacteria patógena infecta selectivamente a ciertas bacterias, se multiplica en el interior de esas células y finalmente las mata. A pesar de que aún no existen ensayos de campo, es altamente probable que su efectividad sea superior al de los biocidas convencionales.

#### **4.4 SUB-PRODUCTOS OBTENIDOS DE LA DEGRADACION MICROBIAL**

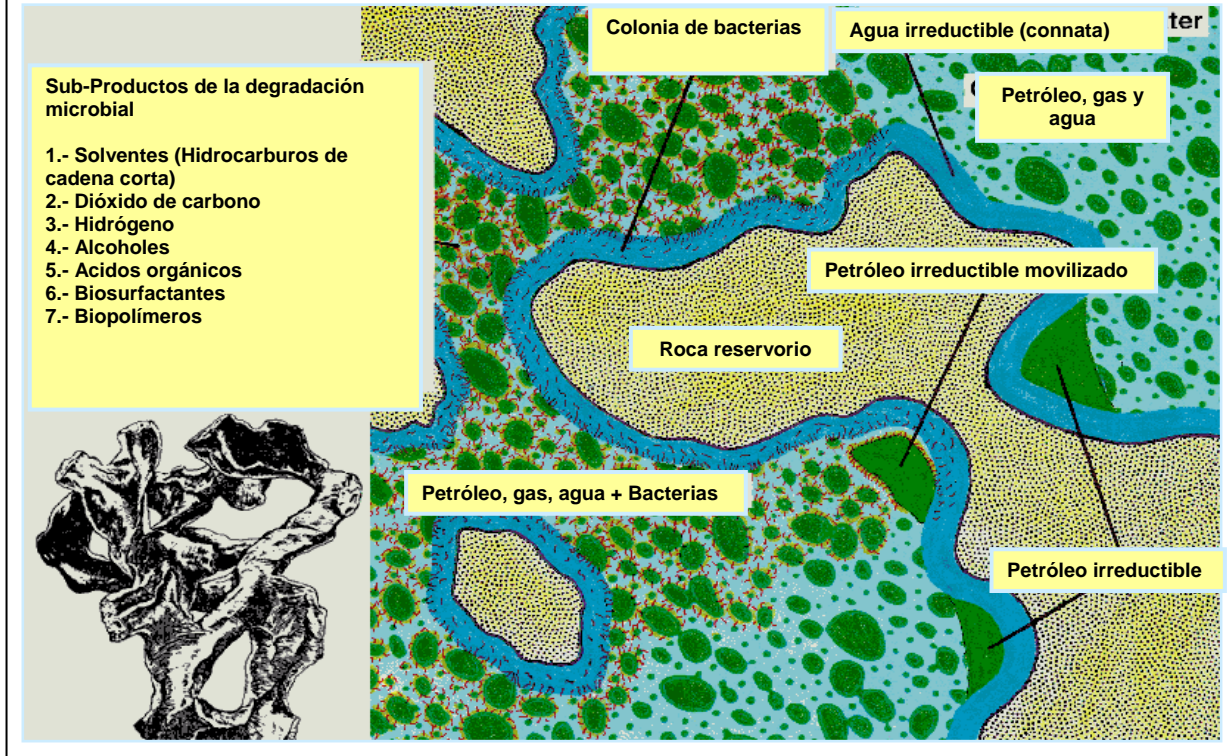
- a. Solventes (hidrocarburos de cadena corta)
- b. Dióxido de Carbono
- c. Hidrogeno
- d. Alcoholes
- e. Acidos orgánicos

---

<sup>5</sup> Idem 2

- f. Biosurfactantes
- g. Biopolímeros

## Metabolismo de las Bacterias en el Reservorio



### 4. MECANISMOS DEL MEOR

Durante el proceso de la "fermentación bacteriana in situ" una combinación de mecanismos es la responsable de la estimulación de la producción o el mejoramiento en la recuperación de petróleo. Esta combinación de mecanismos dependen fundamentalmente de la aplicación, los cultivos y nutriente seleccionados y las condiciones operacionales.

Todos los posibles mecanismos se encuentran detallados a continuación:

#### 1.4 GENERA GASES

- a. Incrementa la presión; re-presurización parcial del reservorio por la liberación de gases como el metano y el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>).
- b. Reduce la viscosidad del petróleo; proceso que se produce por la disolución de solventes orgánicos en la fase petróleo.

## **1.5 GENERA ACIDOS**

- a. Disuelve la roca; la utilización de bacterias sulfo reductoras trae como consecuencia productos acidulados que alteran la constitución de la roca reservorio, esto ocurre con mayor magnitud en reservorios carbonáticos.
- b. Mejora la permeabilidad; incremento de la permeabilidad de las rocas carbonáticas en reservorios calcáreos debido a ácidos orgánicos producidos por bacterias anaeróbicas.
- c. Limpieza de la vecindad del pozo mediante los ácidos y gases originados in situ; el gas sirve para empujar petróleo de poros muertos y remover finos que taponan las gargantas porales, el tamaño promedio de las gargantas porales es incrementado y como resultado la presión capilar en la región vecina al pozo se transforma en más favorable al flujo de petróleo

## **1.6 ALTERA LA MOJABILIDAD**

Modificación de las condiciones de mojabilidad, una vez que la biomasa se adhiere a la superficie de la roca, ésta genera membranas biológicas que liberan el petróleo adsorbido sobre la superficie de la roca.

## **1.7 PRODUCE BIOSURFACTANTES**

- a. Disminuye la tensión interfacial; mejoramiento de la movilidad relativa del petróleo con respecto al agua mediante biosurfactantes y biopolímeros.
- b. Emulsificación del petróleo; las bacterias generan emulsiones micelares a través de su adhesión a los hidrocarburos.
- c. Taponamiento selectivo de zonas altamente permeables mediante la inyección de bacterias "gelificantes" seguidas por una solución azucarada que "enciende" la gelificación por producción extra de células gomosas; la eficiencia areal de barrido es así mejorada.
- d. Degradación y alteración del petróleo; ciertas bacterias alteran la estructura carbonada del petróleo presente en el reservorio.
- e. Desulfurización del petróleo; la inyección de una bacteria tolerante al sulfhídrico fue patentada como una manera de controlar la producción neta de sulfhídrico.
- f. Mejoramiento de la movilidad relativa del petróleo con respecto al agua; este efecto se produce por la acción de los biosurfactantes y biopolímeros.

## **1.8 REDUCE LA VISCOSIDAD DEL PETROLEO Y AUMENTA EL GRADO API.**

- a. Básicamente se produce por el mejoramiento del pourt point del crudo trayendo como consecuencia el adelgazamiento del petróleo y por ende el incremento del grado API.

## 5. TRATAMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS EN LABORATORIO

### 1.9 OBJETIVOS DEL TRATAMIENTO DE BACTERIAS <sup>6</sup>

- a. Uno de ellos puede ser aplicado en la extracción misma del petróleo, mejorando las condiciones del pozo al aumentar la viscosidad del agua. En los pozos que ya están muy agotados encontramos una capa relativamente delgada de petróleo y agua que puede atravesarlo e impedir su paso; pero si se aumenta la viscosidad del agua, entonces ésta lo empuja hacia el exterior. El efecto anterior se logra aplicando los microorganismos productores de polímeros microbianos, como los llamados xantanas, que funcionan muy bien, pero son muy costosos. Lo que se pretende es encontrar microorganismos capaces de producir polímeros, sin que haya necesidad de purificarlos; es decir que funcionen óptimamente dentro del pozo y cumplan lógicamente con muchas características adecuadas para el fin que se persigue.
- b. Otro de los objetivos es buscar los microorganismos que degraden los hidrocarburos pesados, tanto parafínicos como asfaltenos, que en algunas ocasiones producen obstrucciones en la salida de los pozos, o que liberen el petróleo de las rocas a través de aquéllos que producen detergentes con este fin. En algunos casos los microorganismos producen deterioro al utilizar el carbono de los hidrocarburos, si esto no es controlado, causan la degradación y procesos de contaminación en los combustibles de avión, además, ocasionan la corrosión de tuberías y equipo de las instalaciones, en tal caso, deben eliminarse.

### 1.10 ALGUNOS PROCEDIMIENTOS A CONSIDERAR <sup>7</sup>

En general el cultivo de los microorganismos consiste en hacerlos crecer en cantidades que se puedan manejar y sean útiles para la función que se le ha designado. Podemos considerarlos ubicuos, porque los encontramos prácticamente en todas partes, es rarísimo el hábitat en que no existan, pero generalmente se encuentran en equilibrio, ya que en algunos casos son benéficos, en otros no, y a veces pasan desapercibidos. Por lo que en el laboratorio generalmente se sigue la siguiente secuencia:

- a. Para determinar la funcionalidad de un microorganismo, en primer lugar se utiliza un medio de cultivo que no tenga otra fuente de carbono que la de un hidrocarburo, de este modo se observa si se utiliza o no. Esta es la primera prueba, posteriormente se realiza muestras en las que se emplea mezclas de hidrocarburos que nos permiten determinar cómo son degradados y en cuánto tiempo.
- b. Lo que se hace en el laboratorio es enriquecerlos en un medio de cultivo líquido para aumentar su cantidad, debido a que en la naturaleza no se encuentran en el número que a nosotros nos interesa, porque los pozos petroleros son un lugar adverso, debido a

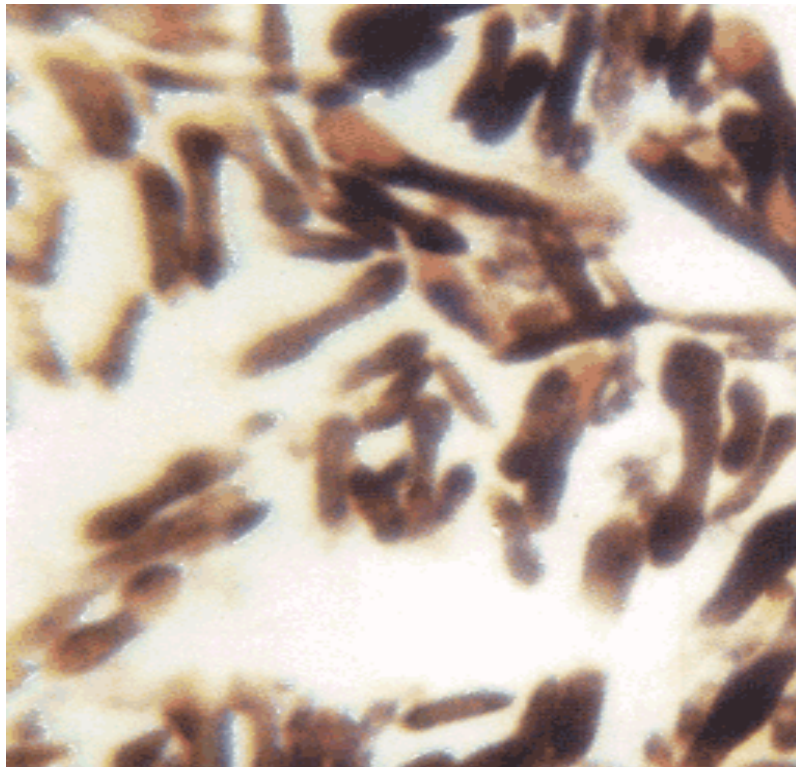
---

<sup>6</sup> IPN Ciencia, Arte : Cultura; **MICROBIOLOGIA DEL PETRÓLEO** Setiembre-Octubre 1997; México.

<sup>7</sup> Idem 6

que presentan temperaturas de entre los 90 y 100 grados, su salinidad es del 20 al 25 por ciento, su PH está fuera de lo normal y tienen un bajo contenido de nutrientes.

- c. Una vez que se obtiene aquéllos que nos interesan, se procede a su estudio para identificarlos, caracterizarlos y conocer su potencial bacteriológico. Sin embargo, no se puede utilizar un solo microorganismo debido a que el petróleo es una mezcla de varios hidrocarburos, por lo que lo útil no es trabajar con una bacteria, sino con un consorcio microbiano capaz de crecer y ser estable en las condiciones que determinamos, con el fin de que funcione como una entidad biológica.
- d. Lo que se hace finalmente es localizar y aislar a aquellos que sean útiles tanto para degradar la contaminación como para mejorar la calidad del petróleo crudo. Se efectúa el análisis por medio de cromatogramas, obviamente existen otros métodos más específicos para ver si hay degradación o no, pero el nivel de investigación efectuada hasta la actualidad permite trabajar en esta forma.



Microorganismos aislados a partir del agua de producción de pozos petroleros

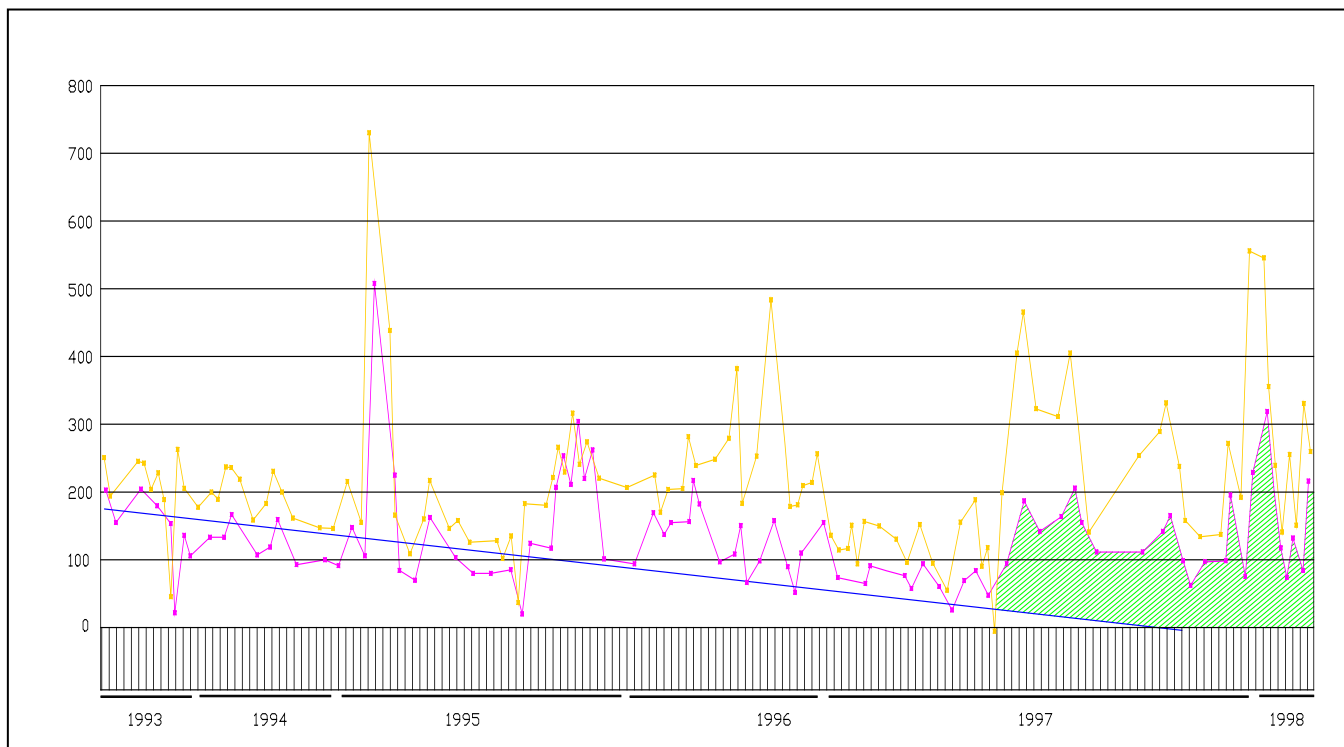


## 6. RESULTADOS OBTENIDOS CON LA APLICACIÓN DEL MEOR

Tal como se indico en los ítems precedentes, muchos de los resultados de la aplicación de la técnica de recuperación de petróleo por bacterias (MEOR) efectuados in situ no han sido debidamente divulgados; por lo que en el presente trabajo se menciona los resultados de tres casos encontrados en la literatura, básicamente lo efectuado por la Compañía ATECH-CT, los resultados de un proyecto MEOR llevado a cabo en Venezuela en el campo denominado "Mene Grande" (pozos MG-511, MG-113, MG-521, MG-732 y MG-444) y en el lago Maracaibo (pozos LL-2499, LL-2241, LL-2465 y LL-2248).

- a. La Compañía ATECH-CTI, ha inyectado micro-organismos en más de 500 pozos en el Lago de Maracaibo en Venezuela desde 1993, constantemente refinando el proceso y afinando su técnica con cada inyección. Los muy satisfactorios resultados son los aumentos considerables en las tasas de producción y en el recobro total del petróleo original en sitio, y/o una marcada extensión en la vida productiva de los pozos y de los reservorios.

La tabla y las gráficas que se presentan atestiguan los muy satisfactorios resultados.

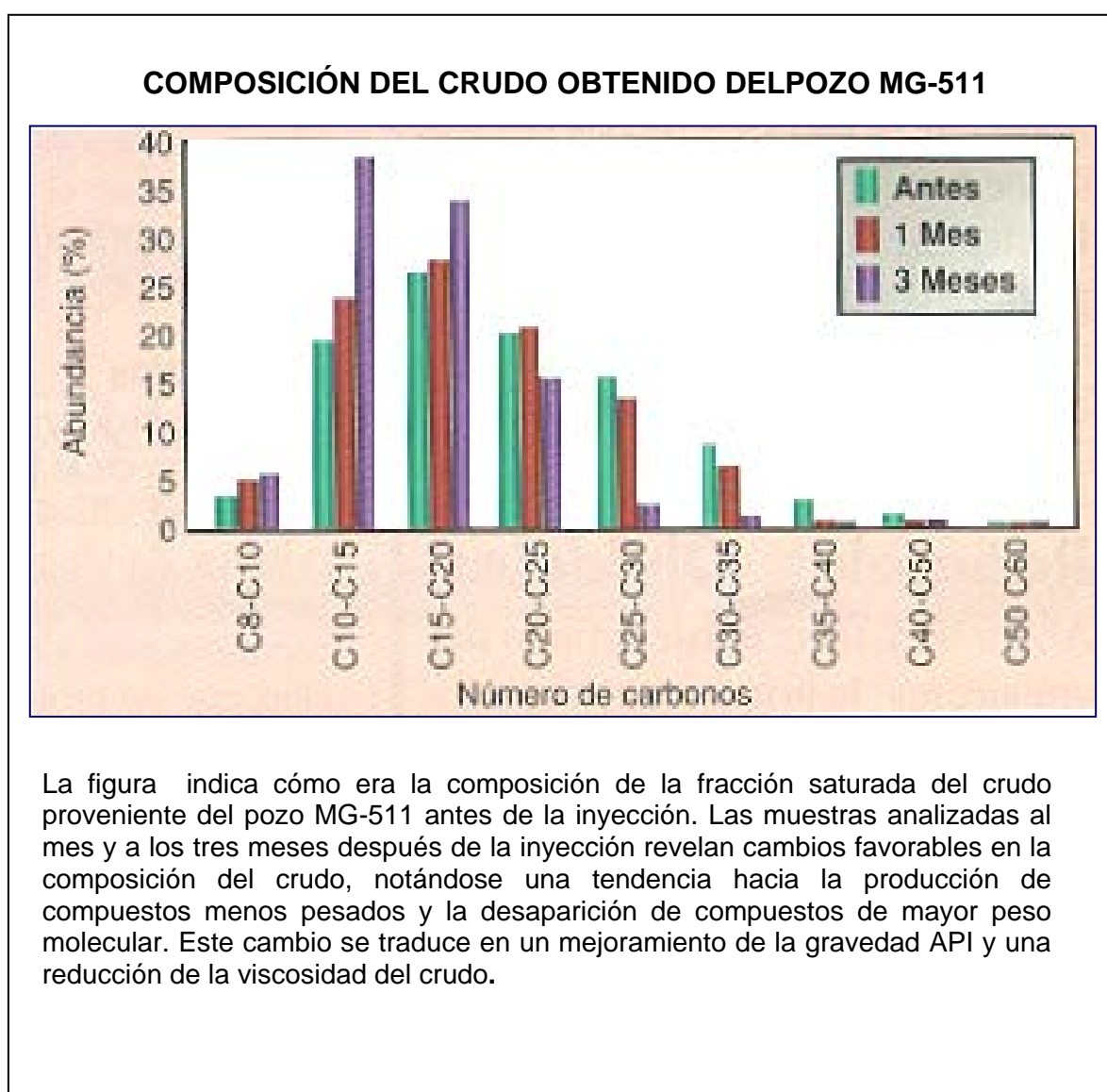


El área achurada corresponde al incremento de la producción de petróleo luego del MEOR

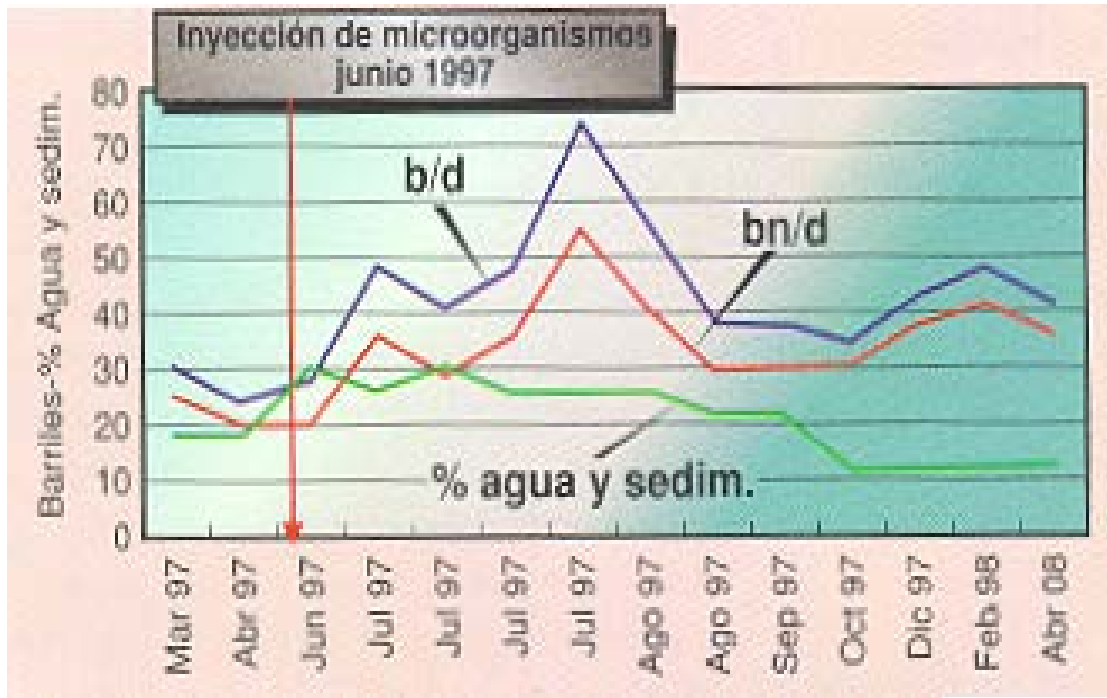
	Antes de la Incubación		Después de la Incubación	
Type of Crude	API	Viscosity	API	Viscosity
Médium Crude	200	295 cps	250	200 cps
Médium Crude	170	1,400 cps	200	1,200 cps
Heavy Crude	120	9,300 cps	190	2,400 cps
Heavy Crude	110	25,600 cps	180	7,500 cps

Resultado luego del tratamiento del petróleo con bacterias

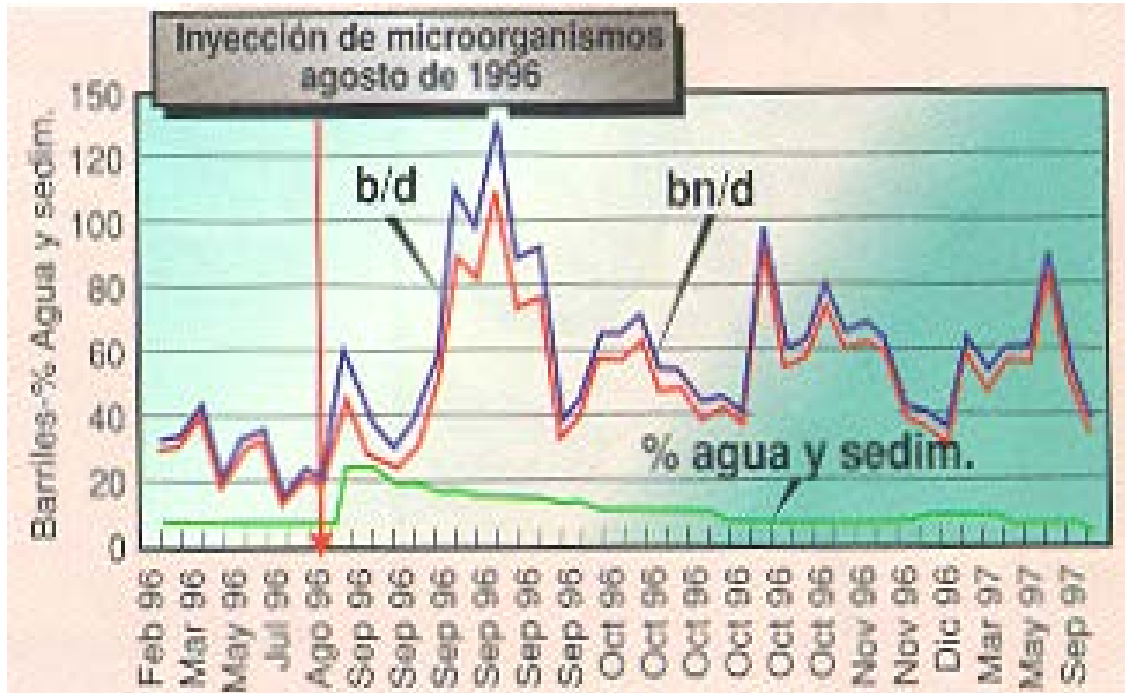
- b. Resultado de un proyecto MEOR llevado a cabo en Venezuela en el campo denominado "Mene Grande".



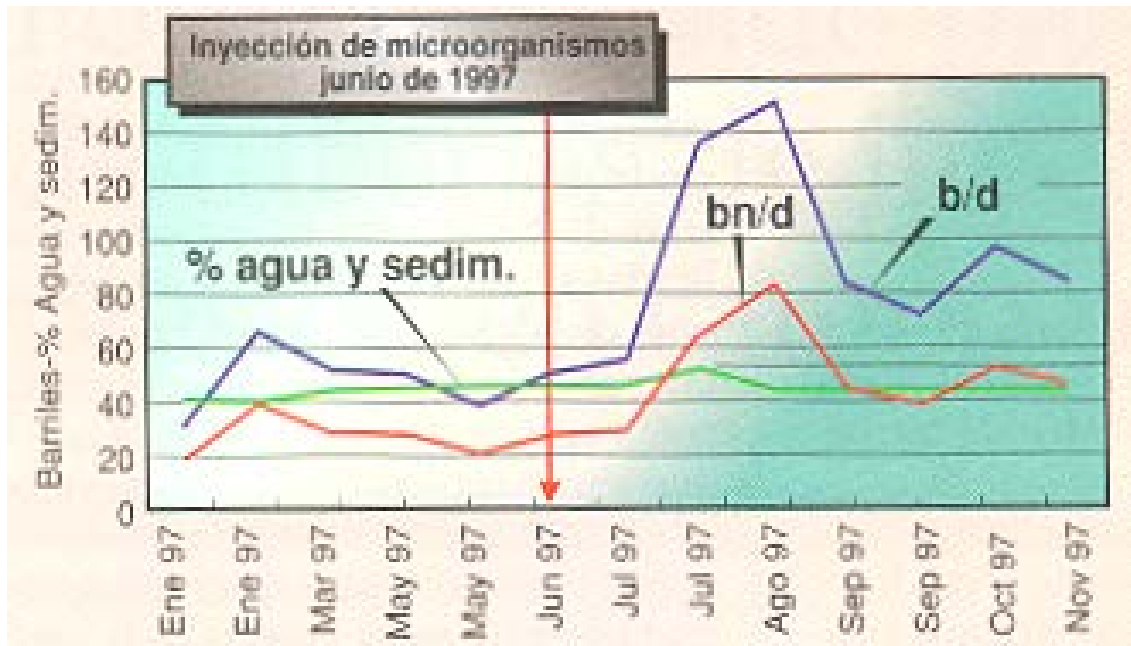
### PRODUCCION DEL POZO MG-113



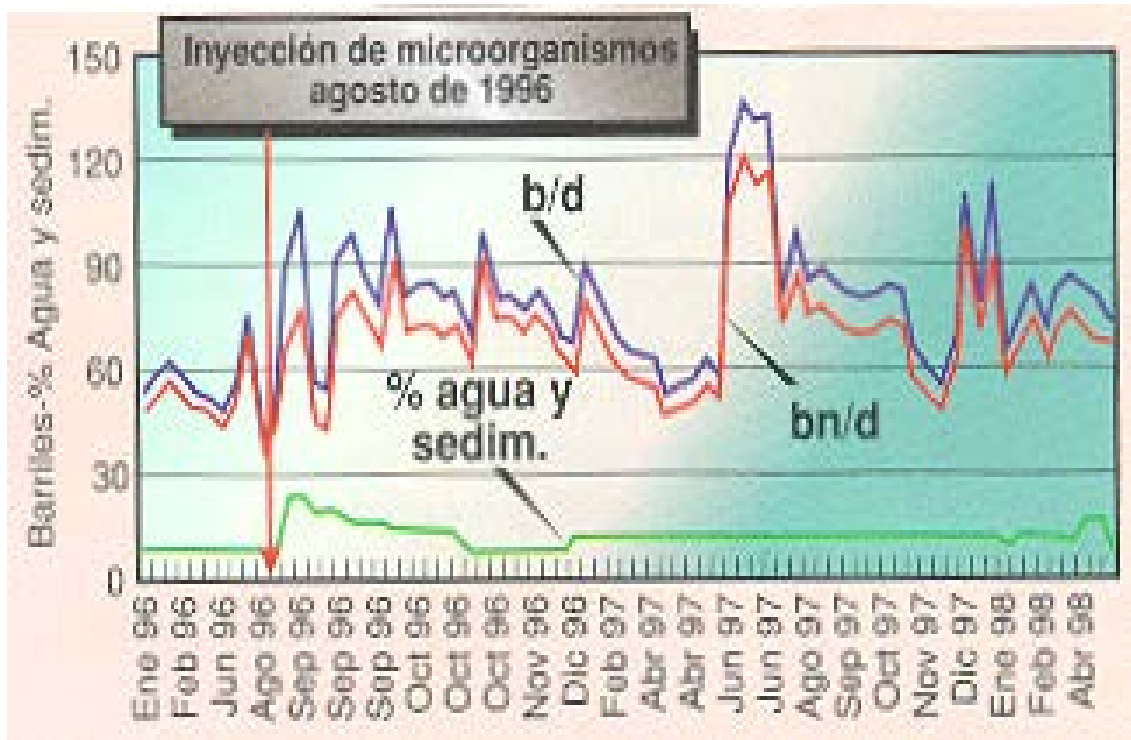
### PRODUCCION DEL POZO MG-521



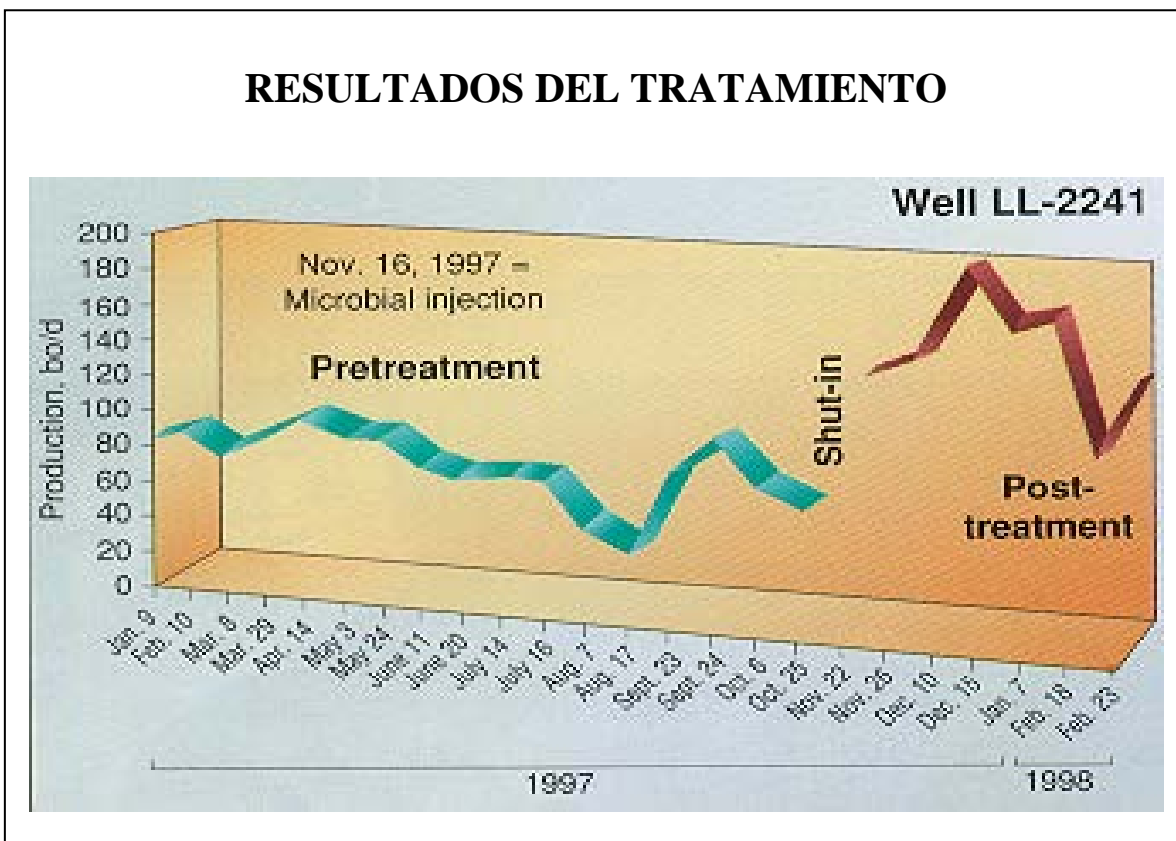
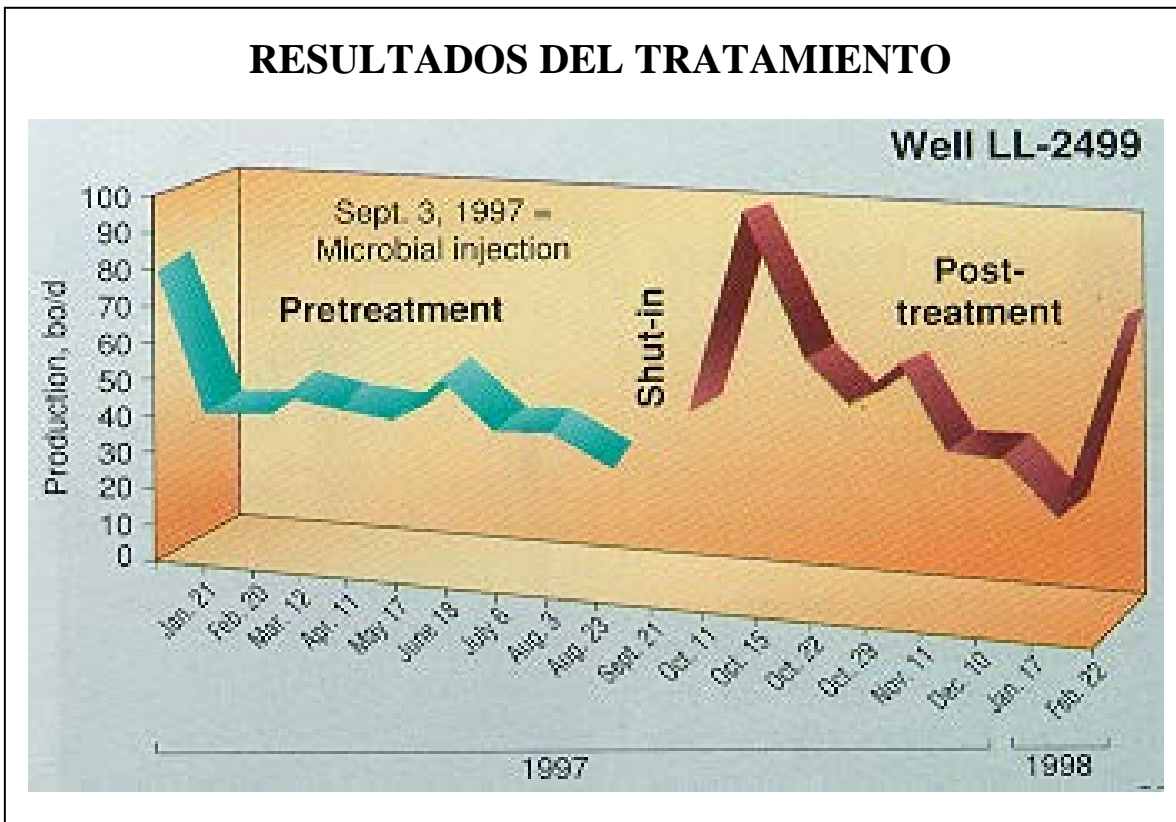
### PRODUCCION DEL POZO MG-732



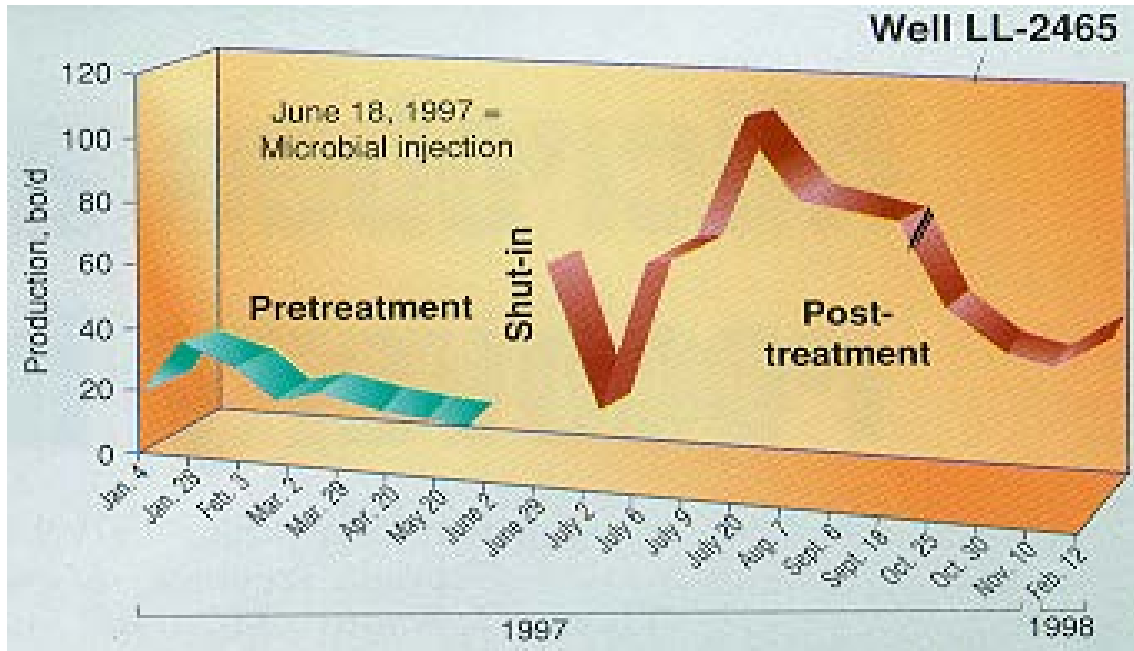
### PRODUCCION DEL POZO MG - 444



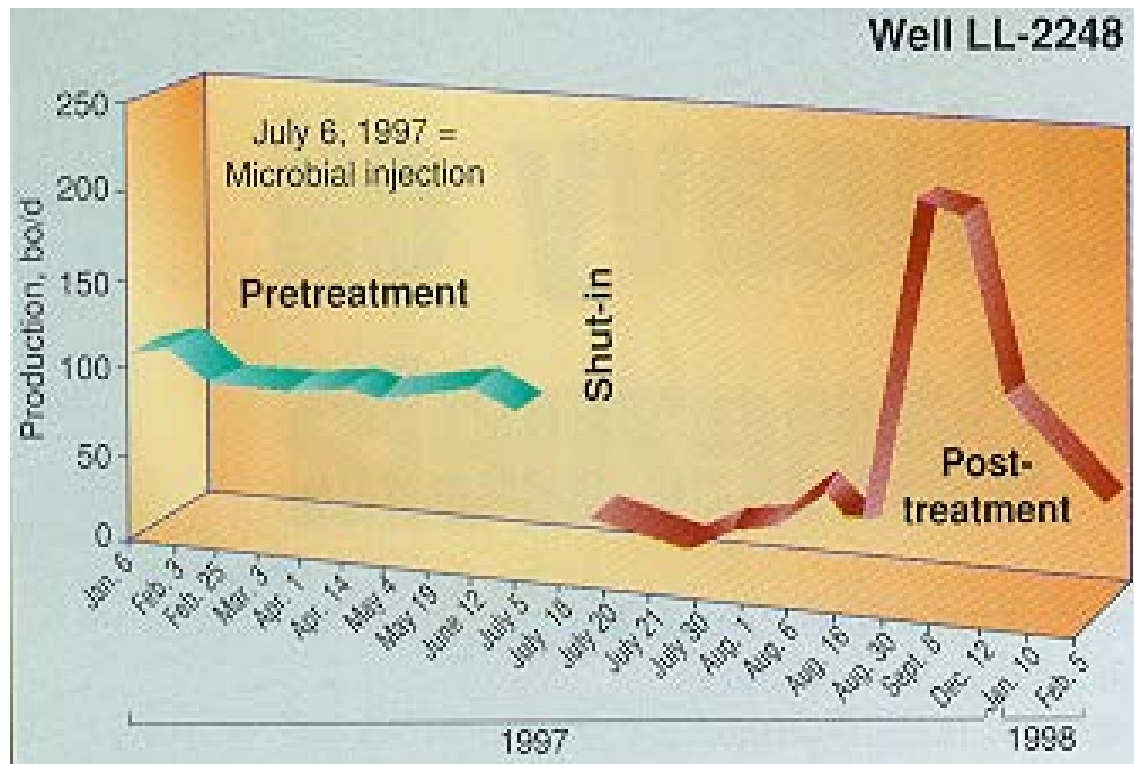
- c. Resultados de un proyecto MEOR llevado a cabo en Venezuela en el lago Maracaibo.



## RESULTADOS DEL TRATAMIENTO



## RESULTADOS DEL TRATAMIENTO



## CAPITULO IV

### FACTORES CLAVES A CONSIDERAR EN UN MEOR <sup>8</sup>

En las aplicaciones prácticas del MEOR se deben considerar muchos factores claves, entre ellos están las propiedades petrofísicas del reservorio, la química y la microbiología.

#### 1. PROPIEDADES DEL RESERVORIO

Las propiedades del reservorio que deben ser cuidadosamente analizadas en la etapa de diseño de un proceso de MEOR son consideradas factores claves y se resumen a continuación:

##### 1.1 Factores de Forma

La densidad y porosidad de materiales granulados compactados están generalmente relacionadas con la morfología y la orientación de las partículas dentro del material, todas las partículas pueden estar divididas en clases por su morfología. Las partículas planas se empaquetan en forma más compacta que las partículas esféricas en un empaquetamiento romboédrico ideal, y estas últimas se empaquetan más densamente que las partículas irregulares. Cuanto más se aleja uno de una condición de isotropía en el empaquetamiento, más el factor de orientación tiende a modificar propiedades tales como la porosidad, la permeabilidad y la resistencia de la roca reservorio. Esta anisotropía debe ser especialmente tenida en cuenta en el diseño de una inyección de agua y bacterias o en la distribución de las bacterias dentro del reservorio.

##### 1.2 Estructura Poral

La estructura poral de un reservorio tiene una gran influencia en el diseño de un proceso de MEOR, mientras que en los poros grandes que están conectados con grandes gargantas porales la inyección de bacterias tiene un efecto pequeño sobre la porosidad total o el volumen de poros, existe un efecto substancial en los volúmenes porales finos que puede finalmente llegar a bloquear las gargantas porales al paso de fluidos y reducir de gran manera la permeabilidad del sistema. Como será discutido luego la permeabilidad también resulta un factor restrictivo en el diseño de un MEOR.

---

<sup>8</sup> Idem 2

### **1.3 Permeabilidad**

La permeabilidad es altamente controlada por el flujo en los canales más grandes. Un reservorio factible de MEOR que tiene la propiedad de poseer una alta permeabilidad tiene una considerable ventaja práctica, la eficiencia de las bacterias en penetrar rápidamente en la formación puede llegar a resultar una gran ventaja en la aplicación de microorganismos para el mejoramiento de recuperación de petróleo. Por lo tanto, es de suma importancia conducir un análisis detallado de la permeabilidad del reservorio a fin de asegurar el drenaje a través de las gargantas porales bajo condiciones prolongadas de flujo. Una reducción en la permeabilidad indicaría que la roca reservorio esta sirviendo de filtro para las bacterias y los sólidos en suspensión. La reducción de permeabilidad debido a la acción de filtrado, depende del volumen total inyectado en la roca y este efecto de filtrado permite determinar el tamaño máximo de bacterias que pueden inyectarse sin obstruir prácticamente las gargantas porales.

## **2. PROPIEDADES QUIMICAS**

Los productos metabólicos que involucran químicos complejos pueden ser el resultado de una o varias reacciones combinadas, estas reacciones o procesos son clasificadas como reacciones de modificación o degradación por microorganismos. La biodegradación (degradación por bacterias) implica completa mineralización de químicos hasta formar compuestos simples a través del metabolismo de microorganismos. Este es un proceso complejo que involucra diferentes caminos y secuencias de pasos de modificación bacterial. La modificación por bacterias, implica que el químico es cambiado mediante actividad biológica, a punto tal que se transforma en un químico más simple o en uno más complejo.

Actualmente se reconocen un largo número de mecanismos que modifican las características químicas del petróleo en un reservorio. De esos muchos mecanismos de alteración, los más importantes desde el punto de vista del MEOR son la alteración bacterial, el lavado por agua, la biodegradación y la emulsificación. En una aplicación de MEOR se recomienda tomar en consideración el efecto de estos mecanismos a fin de realizar una mejor estimación de su performance.

### **2.1 Alteración Bacterial**

Desde un comienzo se ha creído que las bacterias eran capaces de atacar al petróleo en el reservorio, pero el primer informe bien documentado que reporta la alteración del petróleo fue recién publicado en 1969. Bacterias introducidas en un petróleo con agua meteórica rica en oxígeno, aparentemente usan el oxígeno disuelto para metabolizar preferentemente ciertos componentes del petróleo. Bajo condiciones anaeróbicas, el suplemento de oxígeno para mantener la actividad bacterial puede estar derivado de los iones de sulfato disueltos. A pesar de ello, el paso de iniciación en la oxidación biológica de cualquier hidrocarburo debe ser una reacción aeróbica requiriendo oxígeno molecular, una vez que el oxígeno ha penetrado en la estructura del



hidrocarburo, posteriores reacciones anaeróbicas pueden modificar la molécula oxidada.

## **2.2 Lavado por Agua**

El lavado por agua cambia la composición de los petróleos en los reservorios de una manera similar a la biodegradación, por ejemplo los crudos se transforman en más pesados. El lavado con agua resulta en la remoción de los hidrocarburos con mayor solubilidad en agua, en general, los hidrocarburos livianos son más sencillamente disueltos y removidos de manera selectiva mediante un barrido con agua que los componentes pesados del petróleo.

## **2.3 Biodegradación de Petróleos**

La capacidad de los microorganismos para biodegradar una amplia variedad de sustancias aromáticas alifáticas y aromáticas policíclicas ha sido largamente estudiada. El cultivo de bacteria a emplear es influenciado por los resultados de un ensayo de biodegradación comparativo, en este ensayo la sustancia a biodegradar es expuesta en condiciones de laboratorio a diferentes cultivos los cuales presentan un diferente grado de propensión biológica a degradar la sustancia, esta facilidad hacia la biodegradación, es un factor clave en la selección del microorganismo óptimo. La facilidad que presentan los microorganismos de biodegradar diferentes componentes existentes en los crudos varía considerablemente, las cadenas cortas de parafinas son las sustancias que más fácilmente son degradadas por los microorganismos.

La siguiente secuencia ilustra el orden en que las bacterias siguen en sus reacciones metabólicas. Cadenas cortas de parafinas > cadenas largas de parafinas > isoparafinas > cicloparafinas > aromáticos > heterociclos > asfaltenos. Debido a que el crecimiento de los microorganismos ocurre en la interfase agua-sustancia, la degradación biológica del petróleo en el reservorio es muy probable que ocurra en la interfase agua-petróleo.

## **2.4 Emulsificaciones**

Los microorganismos generan biosurfactantes y biopolímeros, estos productos son conocidos por ser factores claves en la formación de emulsiones micelares o en la reducción de la tensión interfacial entre las fases presentes en el reservorio. Estos mecanismos deberían ser bien entendidos por los ingenieros en reservorios de manera de usarlos de una manera ventajosa.

## **2.5 Metales en el Petróleo**

Los compuestos organometálicos y los metales pesados presentes en los petróleos han probado tener la característica de poseer superficies activas desde el punto de vista químico. Esta propiedad conduce a la formación de membranas rígidas que atraen los componentes polares del petróleo, permitiendo la formación de complejos más estables. Aunque

esta propiedad es beneficiosa desde el punto de vista de producción, los metales pesados generalmente presentan un moderado índice de toxicidad en los microorganismos.

### 3. MICROBIOLOGIA

#### 3.1 Bacteria Indígena

El conocimiento de la distribución de bacterias indígenas es de vital importancia en el diseño de un proceso exitoso de MEOR, si uno intenta estimular las bacterias indígenas de manera controlada, es esencial identificar el tipo de bacteria con el que estamos trabajando para así poder analizar la respuesta de la microflora cuando se le inyecte el nutriente en condiciones de reservorio. Por otro lado, si se piensa inyectar un cultivo potencial de bacterias en el reservorio, este cultivo a inyectar debe ser dominante o formar un sistema simbiótico con la bacteria indígena para redundar en resultados favorable en cuanto a recuperación de petróleo sin generación de problemas extras de producción. Dentro de los crudos es posible encontrar la siguiente variedad de especies de bacterias indígenas:

a.  Bacteria sulfato-reductora.

Este tipo de bacteria es la especie que se encuentra más comúnmente entre los petróleos. La distribución y actividad de esta bacteria indígena varía con las condiciones del reservorio y con el caudal con que el agua se infiltra en el reservorio. Adentro de los yacimientos, el número de bacterias frecuentemente muestra un abrupto incremento luego de un cierto número de años de producción, es también esperable que la actividad de la bacteria indígena en un reservorio abierto sea mayor que la de uno cerrado. Las bacterias sulfato reductoras son conocidas como heterótrofas anaeróbicas que usan el sulfato para aceptar los electrones liberados por la oxidación de los nutrientes. Algunos de estos tipos de bacterias son: *Spirillum desulfuricans*, *Microspira aestauri*, *Vibrio thermodesulfuricans* y *Vibrio* sp.

b.  Bacteria utilizadora de hidrocarburos

Un diverso grupo de bacterias y hongos son conocidos como microbios utilizadores de hidrógeno, la composición química del crudo ha demostrado tener una influencia en la generación de bacterias utilizadoras de hidrocarburos, los siguientes tipos de bacterias han sido identificados como utilizadores de hidrocarburos; *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Cytophaga*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas* y *Thermomicrobium*. Es claro que la población de bacterias utilizadoras de hidrocarburos se encuentra altamente distribuida en la naturaleza.

c.  Bacteria formadora de metano

La bacteria metanogénica forma metano como el producto final de su metabolismo, estas bacterias son estrictamente anaeróbicas. Estas bacterias metanogénicas son fácilmente encontrables en sedimentos lacustres y marinos, la bacteria metanogénica difiere en varias características bioquímicas con las bacterias clásicas, entre estas características se encuentran la ausencia de ácido murámico en las paredes de la célula, una diferente composición de lípidos y varias coenzimas y factores nuevos, algunos cultivos de estas especies son: *Methanococcus mazei* y *M. omelianskii*.

d. Bacillus formadores de esporas

Las culturas de *Bacillus* son sencillamente aisladas de los líquidos del reservorio, esto es probablemente debido a la habilidad de las células del *Bacillus* a formar esporas. Esto permite que la célula sea capaz de encontrar su camino dentro del reservorio y tolerar allí dentro las condiciones adversas. Una especie de este *Bacillus* tiene la propiedad de generar polisacáridos en concentraciones altas de sal.

f.  Cultivos de *Clostridium* sp, tolerante a la salinidad y productor de gas

El *Clostridium* ha sido usado con éxito en los primeros ensayos de campo realizados en los países de Europa del Este debido a que tiene las propiedades de ser ácido, solvente y productor de gas.

### 3.2 Fisiología de las Bacterias bajo Condiciones de Reservorio

Las bacterias deben estar posibilitadas de crecer bajo las condiciones presentes en las formaciones elegidas para mejorar la recuperación de petróleo. Entre estas condiciones se encuentran:

a.  Potencial Redox

El potencial de reducción y oxidación de las formaciones en subsuelo es bajo debido a la ausencia de oxígeno. Este tipo de organismos se comporta bien bajo este tipo de condiciones, debido a que es capaz de obtener su energía metabólica a partir de reacciones en la que moléculas orgánicas son oxidadas a niveles superiores sin la participación de oxígeno molecular.

b. PH

El rango óptimo de PH en el cual las bacterias son capaces de crecer se encuentra en un estrecho margen alrededor de PH 7. El rango de PH presente en el petróleo en condiciones de reservorio varía entre un valor de 3 y 10 aunque frecuentemente se encuentra cercano a 7. Los extremos de este rango de PH presentan condiciones extremas de subsistencia para la mayoría de los microorganismos.

c.  Salinidad

La salinidad del agua de formación en donde los microorganismos son introducidos puede generar el problema de inhibir el exitoso crecimiento de las bacterias. Con excepción a las bacterias halofílicas, que son tolerantes a las altas concentraciones de sal, las bacterias son generalmente capaces de crecer sólo en concentraciones bajas de sal.

Es conocido que las bacterias sulfo-reductoras crecen y aumentan la producción de sulfhídrico sólo cuando el agua que contiene una alta salinidad es diluida con agua fresca. Además del efecto adverso en el crecimiento bacterial, la alta salinidad genera una alta interacción eléctrica entre la superficie de la roca reservorio y las bacterias aumentando la adhesión entre ellas y limitando el transporte bacterial a través del reservorio. Para altas salinidades hay trabajos recientes que sugieren el empleo de especies de *Bacillus* formadores de esporas, anaeróbicas y productoras de gas capaces de crecer en soluciones de 7% de NaCl.

d. Temperatura

La temperatura de formación limita la profundidad a la cual el MEOR puede ser utilizado con microorganismos mesofílicos comunes. Aunque es conocido que las bacterias sobreviven hasta temperaturas de 90°C a 100°C, el límite superior de temperatura que asegura un óptimo crecimiento no debería exceder los 55°C. Se ha sugerido que las técnicas de MEOR podrían utilizar mayores temperaturas si se seleccionan bacterias termofílicas con las características metabólicas deseadas.

e.  Presión

Los efectos de la presión en las células bacterianas es un importante factor cuando las presiones de trabajo alcanzan los varios cientos de atmósferas. Frecuentemente, la alta presión cambia la morfología de las células, el efecto de la presión hidrostática sobre diferentes especies de bacterias varía enormemente, pero algunas de ellas se han adaptado exitosamente a ambientes de alta presión. En general la alta presión tiene menor influencia en la actividad metabólica celular que el efecto de temperatura.

f.  Nutrientes

Las características que deben tener los nutrientes seleccionados son simplemente que los organismos sean capaces de crecer exitosamente en base al nutriente, que el producto metabólico ayude a contribuir en la migración del petróleo y que el nutriente en sí sea barato. El resultante crecimiento de las bacterias y la producción de productos metabólicos, produce un efecto de liberación de petróleo que no podría haber sido recuperado mediante otros productos.

g. □ Matriz de la Roca

El propósito de la inyección de bacterias dentro del reservorio que contiene petróleo, está diseñado para permitir el que las células penetren en el interior de la formación y así produzcan productos metabólicos que en contacto con el petróleo permitan su flujo de manera que éste pueda ser recuperado. La producción de productos metabólicos dentro del reservorio es más efectiva en términos de liberación de petróleo que si la formación fuese simplemente barrida con químicos bombeados a través de la roca desde los pozos inyectoros. La penetración de bacterias fue estudiada y se encontró que el caudal y la extensión de la penetración no presentaba correlación con la porosidad o permeabilidad. Los ensayos de laboratorio en rocas entre 200 y 400 md. mostraron que la penetración no era función del tamaño de las bacterias sino dependiente de la concentración. La carga eléctrica en la superficie de la roca es también considerada un factor clave para obtener altas penetraciones.

## CAPITULO V

### 1. CRITERIOS DE SELECCIÓN <sup>9</sup>

Para poder seleccionar potenciales reservorios para la aplicación de MEOR, varias consideraciones deberían ser tenidas en consideración. La Figura 2 es un simple esquema que puede ser empleado como herramienta básica de selección de candidatos.

### 2. TECNOLOGIAS ACTUALES <sup>10</sup>

El proceso de MEOR abarca un amplio espectro de tecnologías, las cuales pueden ser diseñadas para diferentes aplicaciones usando distintas metodologías. Estas metodologías pueden ser divididas en los siguientes grupos de aplicaciones:

- a. **Estimulación de producción en pozos individuales mediante el uso de microorganismos.**
- b. **Inyección continua de agua y microorganismos.**
- c. **Biobarrido de nutrientes usando el sistema de huff-and-puff.**
- d. **Limpieza de pozos con bacterias.**
- e. **Taponamiento selectivo con bacterias.**
- f. **Recuperación de fluidos de fracturación con microorganismos**

A pesar de que los conceptos básicos y los mecanismos de recuperación son los mismos para todas las aplicaciones, las condiciones operacionales y el diseño óptimo difiere entre una aplicación y la otra.

Cada una de estas aplicaciones puede usar un diferente cultivo de microorganismos, que posee diferentes cualidades que los hacen más útil para la aplicación a implementar en campo. Los cultivos y los nutrientes son elegidos a fin de cumplir con las condiciones específicas del petróleo y la aplicación elegida.

Aunque los mecanismos de recuperación de MEOR se encuentran presentes en todas las aplicaciones, el mecanismo predominante depende de las condiciones de campo, la bacteria inyectada, el nutriente usado y la aplicación elegida.

---

<sup>9</sup> Idem 2

<sup>10</sup> Idem 2

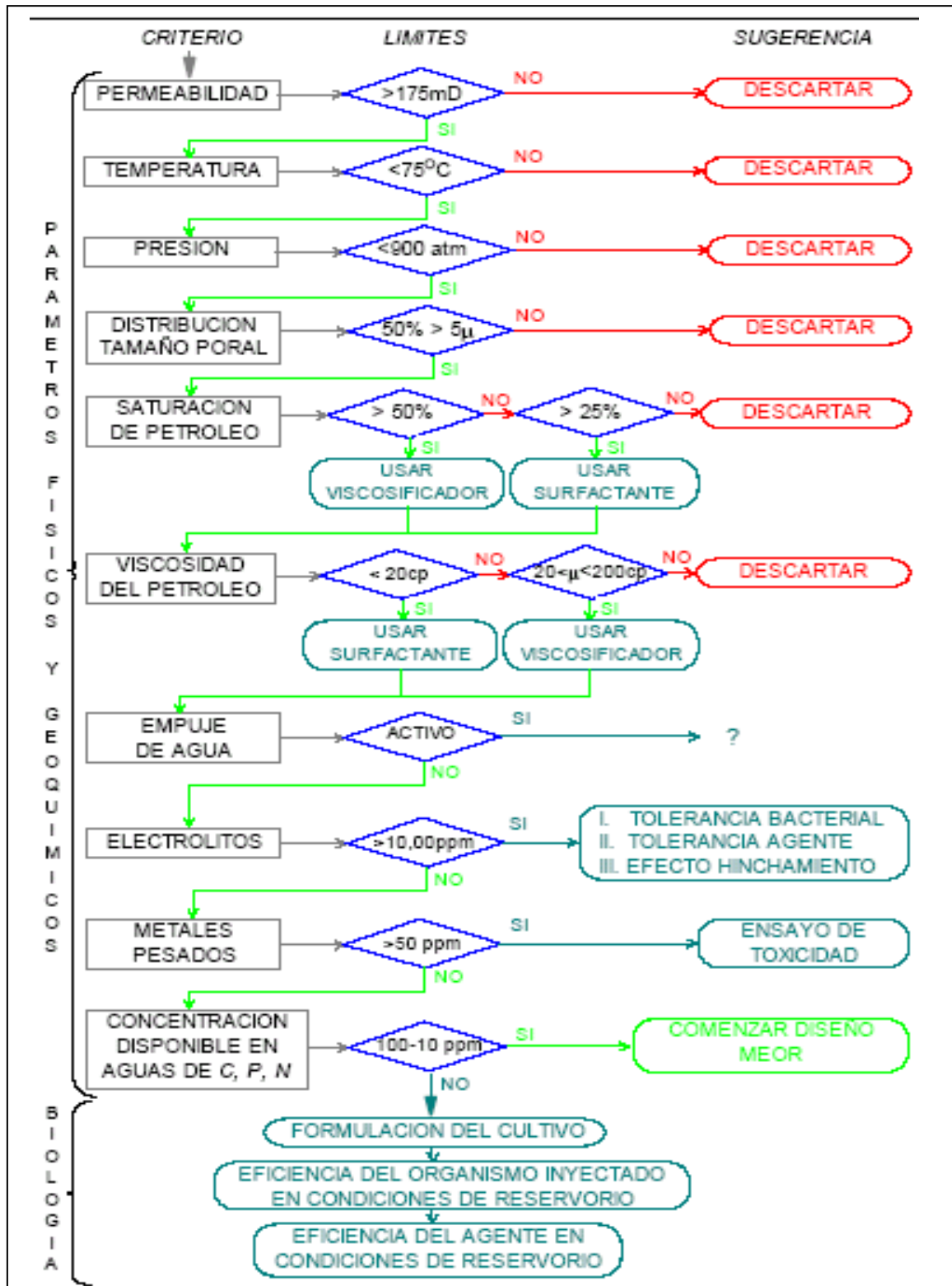
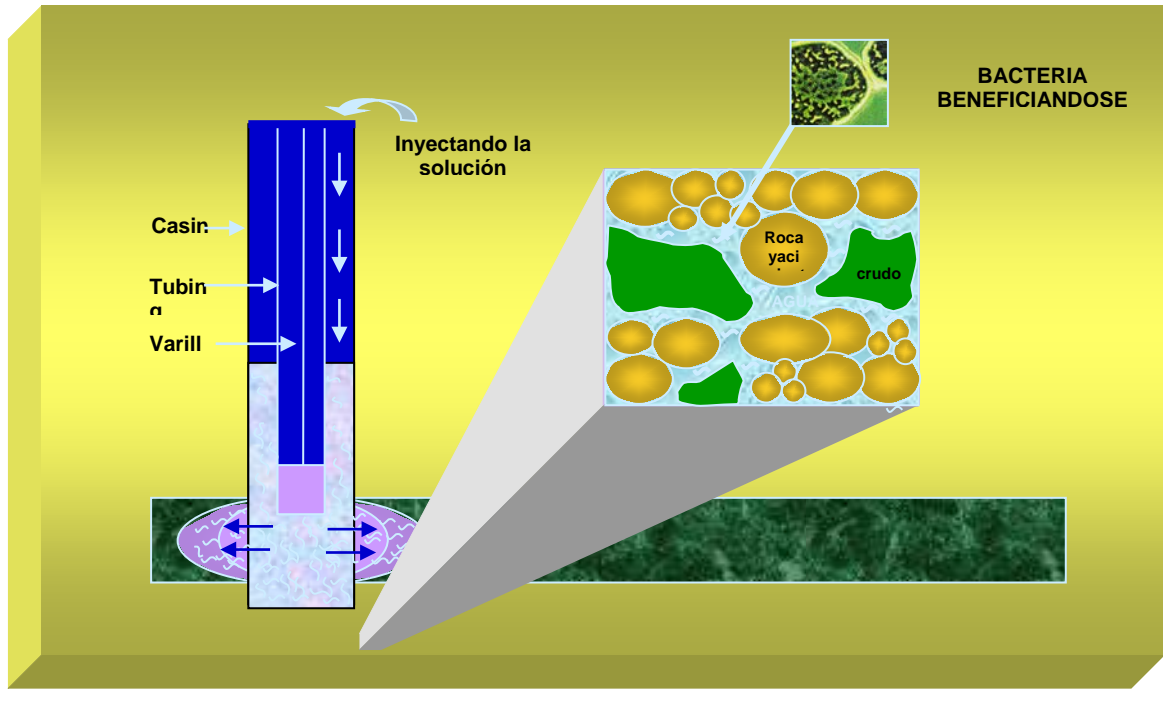
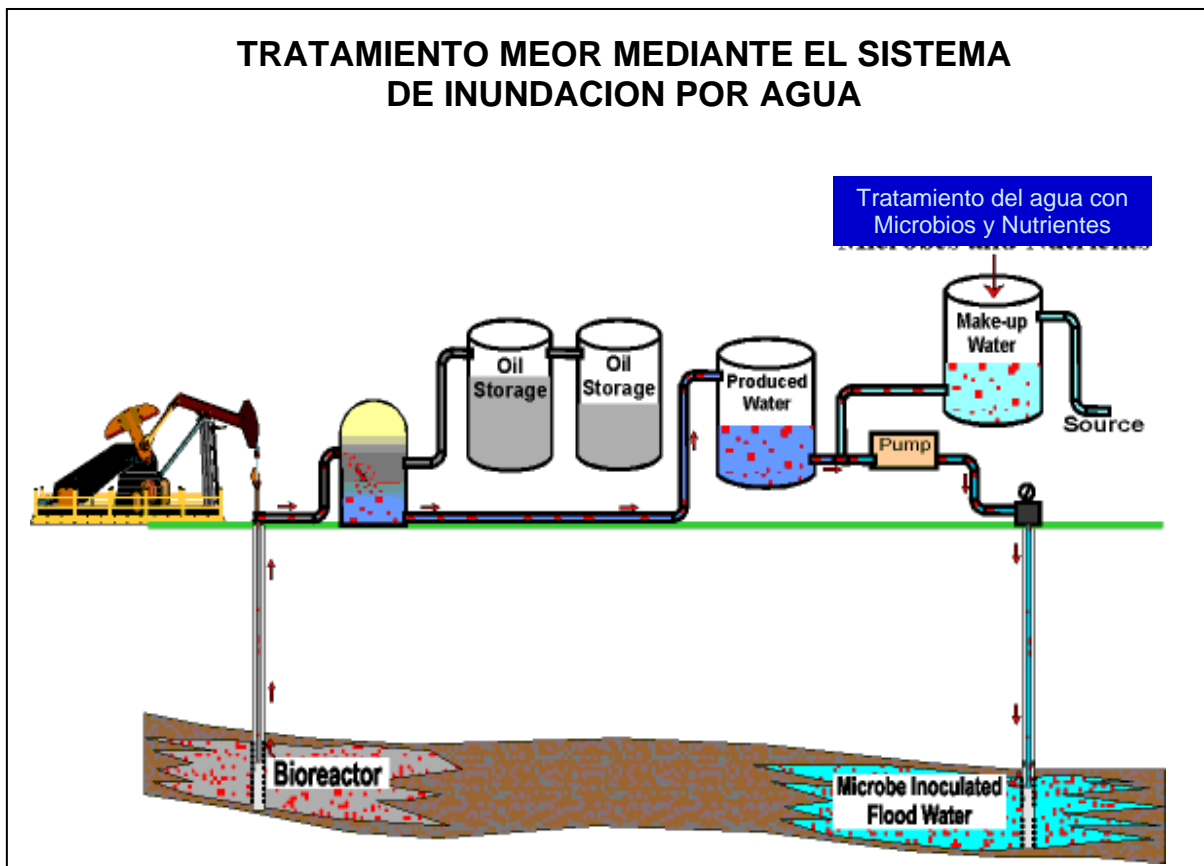


Figura 2 - Criterios de selección de reservorios candidatos para MEOR.

## TRATAMIENTO MEOR EN UN POZO PRODUCTOR INDIVIDUAL



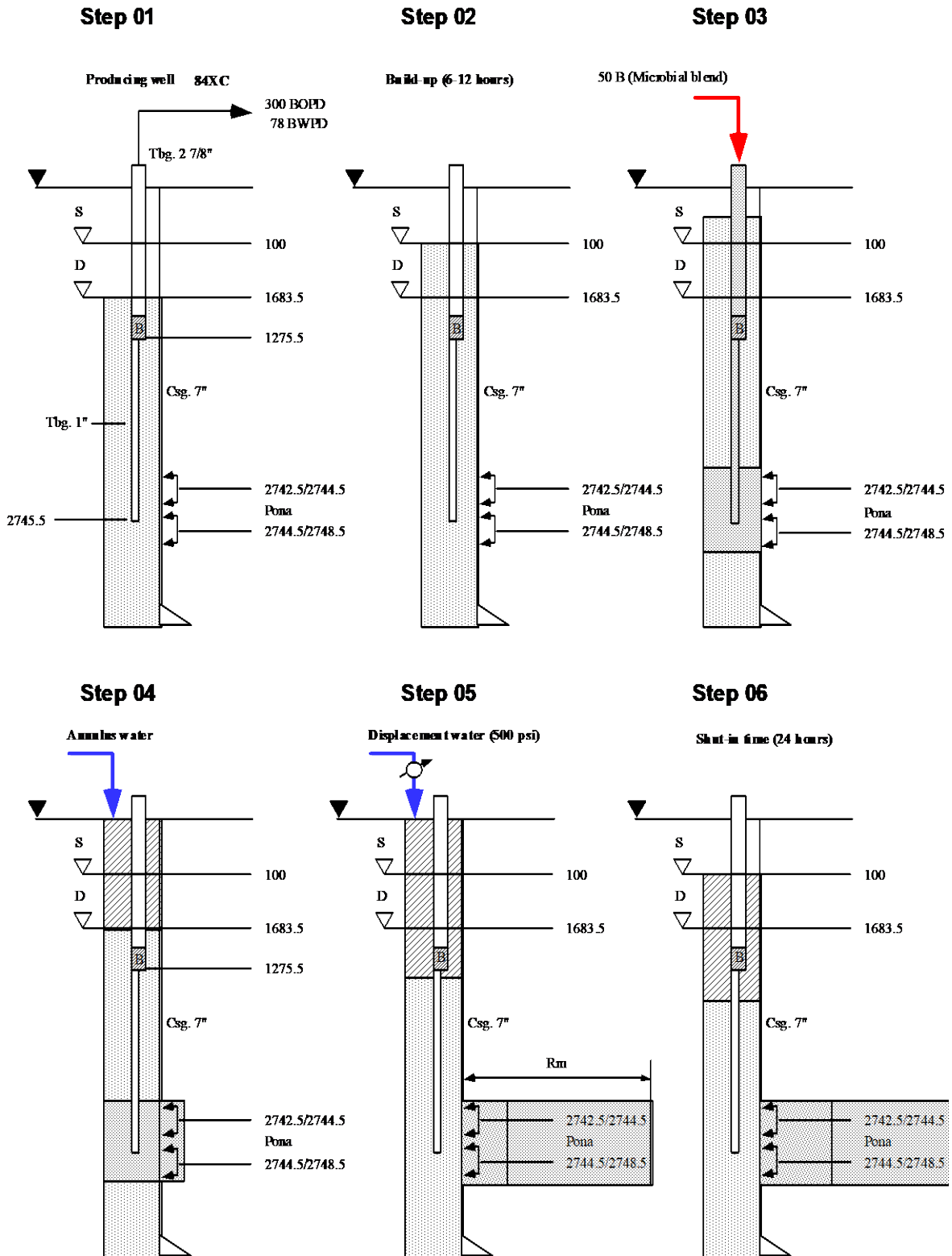
## TRATAMIENTO MEOR MEDIANTE EL SISTEMA DE INUNDACION POR AGUA





# A

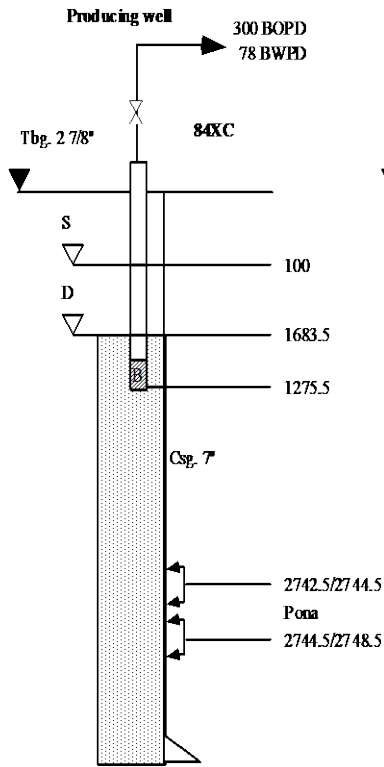
## Microbial Treatment Procedure: Procedure using Y tool and side tubing



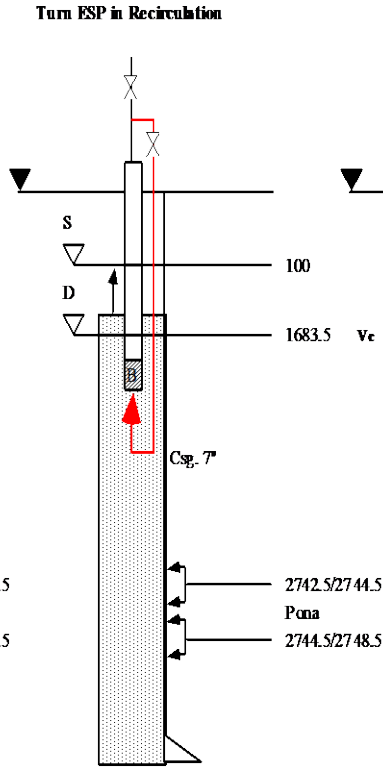
# B

## Microbial Treatment Procedure: BCP Recirculation combined with annulus bio-reaction

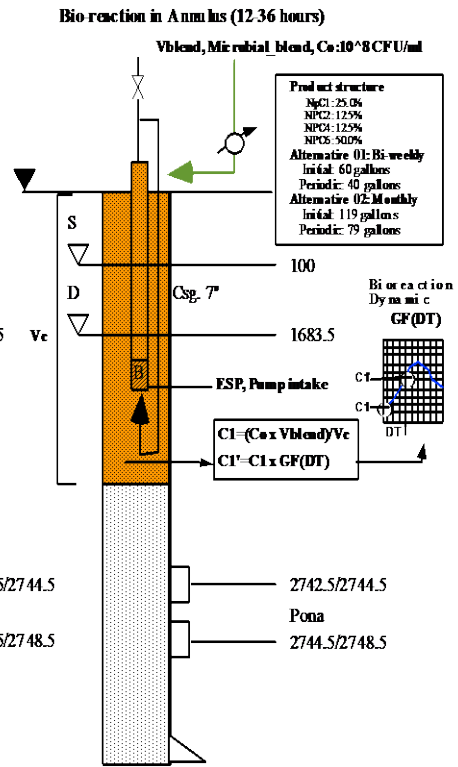
### Step 01



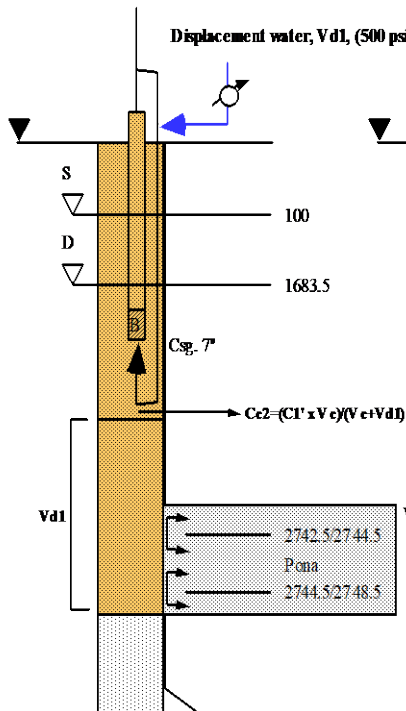
### Step 02



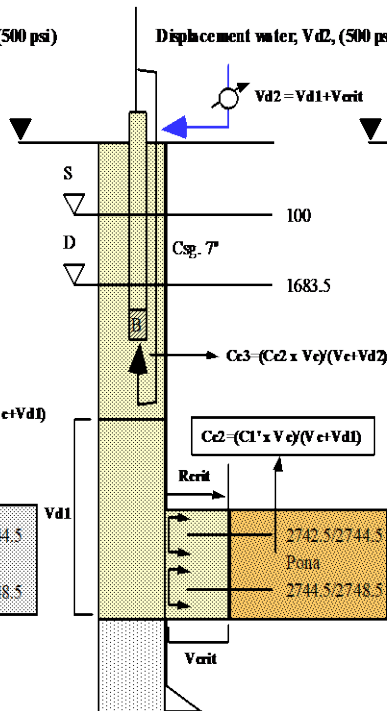
### Step 03



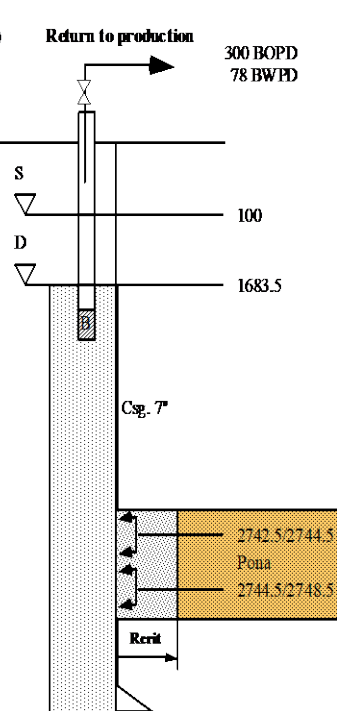
### Step 04



### Step 05



### Step 06



### 3. ENSAYOS DE CAMPO <sup>11</sup>

Basados en la experiencia de los ensayos de campo la siguiente lista resume los factores que deben ser tenidos en consideración en el diseño de un ensayo de campo de MEOR:

- a.  Decidir en principio la técnica a evaluar.
- b.  Identificar reservorios posibles.
- c.  Seleccionar la posible compañía de servicios de inyección de bacterias.
- d.  Diseñar un esquema de procesos para el ensayo.
- e.  Evaluar las implicaciones de costos relacionadas con el ensayo. Como puede ser el ensayo más "cost-effective"?
- f.  Considerar todos los efectos del proceso sobre el ambiente, tanto en superficie como en fondo.
- g.  Chequear la necesidad de previa aprobación de instituciones oficiales.
- h.  Identificar el trabajo necesario de laboratorio requerido para realizar el ensayo.
- i.  Identificar las modificaciones esenciales necesarias de los equipamientos existentes en el campo.
- j.  Identificar la compañía proveedora de bacterias y otros materiales.
- k.  Identificar la forma de financiamiento.
- l.  Llevar a cabo el modelado en laboratorio de los procedimientos de ensayo bajo condiciones de reservorio.
- m.  En base a los resultados del laboratorio, rediseñar en parte el ensayo de campo.
- n.  Elegir los criterios de evaluación del éxito o fracaso del ensayo.
- o.  Elegir el yacimiento(s)/pozo(s).
- p.  Asegurarse una adecuada cobertura en caso de accidentes.
- q.  Negociar detalles contractuales entre los principales participantes (compañía de servicios, operador, proveedor de bacterias, socios).
- r.  Llevar a cabo trabajo adicional de laboratorio de ser necesario.
- s.  Acumular una provisión adecuada de bacterias, en depósitos propios o vía la compañía especialista que provee la bacteria.
- t.  Identificar el personal responsable de la inyección y el monitoreo en el campo.
- u.  Negociar el esquema de suministros de bacterias y nutrientes; asegurarse que las licencias de uso estén en orden. De importarse el producto, debe considerarse el tiempo de demora en aduanas.
- v.  De ser necesarios, obtener los permisos para el ensayo del organismo oficial.
- w.  Diseñar los procedimientos de monitoreo antes y después de comenzar el ensayo. Chequear los métodos cuando sea necesario.
- x.  Evaluar el éxito o fracaso del ensayo.
- y.  Ampliar o suspender el MEOR.

---

<sup>11</sup> Idem 2

#### 4. PROBLEMAS COMUNES <sup>12</sup>

Entre los problemas más comunes que estos sistemas pueden enfrentar si no son adecuadamente diseñados y monitoreados deberían mencionarse los siguientes:

**a. Pérdida de inyectividad debido a taponamiento de la formación.**

Para evitar el taponamiento, es necesario remover las partículas y sedimentos de las soluciones de nutrientes, seleccionar el tamaño adecuado de los microorganismos, evitar la producción de polímeros en el pozo inyector, evitar la formación de gas generado por las bacterias durante la inyección y controlar la absorción de microorganismos a la superficie de la roca en el pozo inyector. Si el taponamiento ocurre, el repunzado, o el uso de blanqueador, cloro o un agente limpiador han probado ser acciones efectivas para remediar este taponamiento.

**b.  Transporte y dispersión poco exitoso de todos los componentes necesarios hacia la ubicación deseada dentro del reservorio.**

Los primeros estudios de laboratorio demostraron que el transporte de bacterias era conducido a bajos caudales (menos de 0.5 cm/hour) y que esta velocidad se reducía logarímicamente con la permeabilidad de la arena. El mecanismo de transporte activo de las células de bacterias a través del medio poroso permanece sin ser entendido, un mecanismo aceptado de transporte es el llamado efecto "log jam" el cual enuncia que las células se agrupan en las gargantas porales reduciendo su tamaño hasta el punto en que el flujo natural de fluidos rompe dicho agrupamiento y restaura el flujo natural de la garganta, empujando las celdas hacia el siguiente poro, esto sugiere que el medio de transporte es pulsado y no continuo. Simuladores basados en esta información de laboratorio son empleados para identificar parámetros claves en los planes de inyección. Además, es interesante notar que los ensayos de campo indican que en el reservorio existe un método de transporte de las bacterias inyectadas mucho más efectivos que el predicho por los estudios de laboratorio, las correlaciones empíricas continúan siendo la herramienta base para la realización de predicciones.

**c. Falta de promoción de la actividad metabólica deseada in situ.**

Presión, temperatura, PH y salinidad son las limitaciones usualmente mencionadas para las aplicaciones de MEOR, la presión no resulta tan prohibitiva como la temperatura a pesar de que altera las características de crecimiento microbiótico y los efectos de toxicidad. El desarrollo de bacterias termófilas útiles, puede cambiar el factor de temperatura en un parámetro no restrictivo y así extender el rango de reservorios objetivos posibles para el MEOR. La salinidad y el PH aparentan ser factores menos restrictivos debido a que está probado en ensayos de campo que

---

<sup>12</sup> Idem 2

organismos sensibles inyectados en colchones de agua dulce sobreviven y crecen en yacimientos salinos.

- d.** Omisión del efecto de competencia por sobrevivir o actividad secundaria indeseable por organismos indígenas, incluyendo las bacterias sulfato reductoras; la competencia con organismos indígenas no ha sido una gran preocupación, se ha observado que la presencia de nitratos en niveles bajos suprime la producción de H<sub>2</sub>S por lo que ha sido incluido en el paquete de nutriente en los ensayos de campo. La presencia del nitrato genera un ambiente oxidante que resulta en la producción de sulfatos en lugar de sulfhídrico. Recientemente, la inyección de un tolerante de sulfhídrico ha sido patentado como una manera de controlar la producción neta del mismo.

## CAPITULO VI

### ANALISIS ECONOMICO E IMPACTO ECOLOGICO

#### 1. ANALISIS ECONOMICO DEL MEOR

Varios artículos han mostrado que el MEOR es potencialmente una tecnología efectiva y de bajo costo para el incremento de la producción de petróleo. Las más importantes ventajas económicas y operativas de estas técnicas son:

- a. Los microorganismos y nutrientes inyectados son baratos, fáciles de obtener y manejar en el campo.
- b.  El MEOR es económicamente atractivo en campos productores marginales.
- c.  El costo del fluido inyectado no depende del precio del petróleo.
- d.  Generalmente, la implementación de este proceso necesita sólo pequeñas modificaciones en las facilidades existentes de producción, lo cual reduce el costo de inversión.
- e.  El método es fácil de aplicar con equipamiento de producción convencional.
- f.  El MEOR es menos costoso de implementar y más sencillo de monitorear que cualquier otra técnica de recuperación asistida (EOR).
- g.  Los productos del proceso de MEOR son todos biodegradables y no se acumulan en el ambiente. Los limitados análisis económicos existentes de los ensayos de campo muestran que el mayor costo de un proyecto de MEOR se encuentra en el costo del nutriente para alimentar los microorganismos. En estos momentos, el costo del nutriente reportado en la literatura es de aproximadamente \$100/ton. En los casos en que un proceso de inyección de agua es requerido, los costos de implementación de las bacterias deben ser considerados dentro de los costos del proyecto de inyección de agua, aunque estos resulten mínimos comparados con las inversiones y costos de operación de una inyección de agua. La reducción de costos en operaciones de hot oil y la energía de bombeo deben ser incluidos entre las ventajas económicas de las aplicaciones de control de parafinas.
- h. Una publicación reciente que evalúa 322 proyectos de MEOR concluyendo que el costo operativo de una operación de MEOR se encuentra entre \$0.25 y \$0.50 por barril extra de petróleo recuperado y el costo de inversión es inferior a los \$2.00/bbl extra de petróleo recuperado. Dicha publicación también indica que el tiempo aproximado de repago es de seis meses. Por su parte el informe de la Oil&Gas

Journal 1 indica que el costo total entre inversión y operación se encuentra en aproximadamente \$2.00/bbl extra de petróleo recuperado.

## **2. IMPACTO ECOLOGICO DE LA LIBERACION AL MEDIO AMBIENTE DE MICROORGANISMOS MODIFICADOS GENETICAMENTE**

La transferencia horizontal de genes entre bacterias ha sido ampliamente demostrada bajo condiciones naturales. En estos casos, el material genético es transferido entre bacterias mediante los procesos de transformación, transducción o conjugación; en muchas ocasiones los genes que codifican para enzimas involucradas en la degradación de contaminantes se localizan en moléculas extracromosomales llamadas plásmidos.

El entendimiento de las dinámicas de transferencia horizontal es imprescindible para comprender la evolución y la ecología de plásmidos, así como para la evaluación de riesgos, o sea, del impacto ecológico de la liberación intencional de bacterias naturales o recombinantes para usos agronómicos o de biorremediación. Este impacto ecológico depende de cómo el nuevo material genético sea expresado en el organismo receptor y en cómo operen los procesos de selección natural en los receptores. Aunque existe la posibilidad de transferencia genética entre todos los miembros de una comunidad bacteriana, se ha encontrado que existe una clara delimitación entre las especies que efectivamente reciben y expresan una nueva capacidad metabólica siempre en función de sus propias características.

El uso extensivo de plásmidos con determinantes de resistencia a antibióticos podría tener consecuencias en la transferencia horizontal de esta resistencia acoplado a presiones selectivas impuestas por el uso (y el mal uso) de antibióticos en medicina y en ganadería. Por ejemplo, uno de los microorganismos más usados en biorremediación es *Pseudomonas aeruginosa*, bacteria que presenta una serie muy interesante de actividades naturales sobre xenobióticos, lamentablemente, también es conocida por ser un patógeno oportunista en humanos y causante de complicaciones graves en personas inmuno-suprimidas, con quemaduras severas o con fibrosis quística. Por estas razones existe mucho interés en el estudio de las relaciones filogenéticas entre aislados clínicos y ambientales.

Recientemente se demostró que la única diferencia aparente entre estos dos grupos es la presencia de un plásmido que correlaciona con la capacidad de degradar gasolina y aunque no se demostró que las cepas ambientales fueran infecciosas, es una llamada de atención sobre las posibles consecuencias de liberar sin control bacterias recombinantes en el medio ambiente. *Burkholderia* es otro género bacteriano utilizado para biorremediación de herbicidas y pesticidas recalcitrantes y también es usado para proteger cultivos contra hongos. Igual que *Pseudomonas*, ha sido identificado como patógeno oportunista en humanos, particularmente en pacientes con fibrosis quística. Debido a su genoma extremadamente flexible, *Burkholderia cepacia* tiene una gran capacidad de mutación y adaptación. Es inherentemente resistente a múltiples antibióticos y ésta capacidad es altamente transmisible entre especies. Por todas estas razones, la selección de cepas "seguras" para su uso ambiental no es

posible por el momento y su uso en la agricultura también debe ser cauteloso.

Una respuesta muy ingeniosa a este conflicto es la construcción de plásmidos “suicidas”, que sólo puedan propagarse en la cepa receptora original y que no puedan ser transferidos. Usando sofisticados sistemas genéticos se han implementado estas funciones “suicidas” en los plásmidos de tal manera que no sean susceptibles de inactivación por proceso celulares naturales, como recombinación, pérdida o inactivación por inserción.



## CONCLUSIONES

1. El MEOR es una técnica para la estimulación de la producción de petróleo mediante el empleo de microorganismo y sus productos metabólicos; consiste en la inyección de microorganismos seleccionados dentro del reservorio y la posterior estimulación y transporte de sus productos metabólicos generados in situ a fin de obtener una reducción del petróleo residual dejado en el reservorio.
2. Aunque todavía sea considerado por varios como un método experimental, a pesar de la larga historia que tiene de investigación, es conveniente indicar que el objetivo principal del uso del MEOR, es la estimulación de pozos y de reservorios para aumentar las tasas de producción y el recobro total del petróleo original en sitio, y/o para extender la vida productiva del pozo o reservorio, los mismos que se vienen logrando satisfactoriamente.
3. Además el MEOR requiere la interacción de discimiles disciplinas científicas tales como la biología y la ingeniería de reservorios que abordan de diferentes maneras el tema. Por lo tanto ha sido muy difícil de presentar en la industria del petróleo una imagen comprensiva y cohesiva de la tecnología de MEOR, no obstante su pasado, el proceso de MEOR es una tecnología de bajo costo bien sustentada y técnicamente practicable, la cual ofrece muchas aplicaciones útiles en la industria del petróleo.  
Las innovaciones continuas, las nuevas herramientas mejoradas de simulación de procesos biológicos, los enfoques más prácticos y los resultados rentables en las técnicas de estimulación de pozos individuales, limpieza y taponamiento de capas sugieren un alentador futuro y una actividad sostenida durante los próximos años.
4. En la actualidad y se prevé que en el futuro las industrias, entre ellos el sector petrolero, se encontrarán sujeto a una normatividad ambiental cada vez más estricta, por lo que el MEOR es una alternativa para el manejo en el área de producción del petróleo.
5. Si bien es cierto de que el MEOR no ha sido ampliamente usado, los cálculos y las estimaciones que se han realizado en base a la experiencia sugieren que se trata de una tecnología de bajo costo. Los productos metabólicos generados in situ como polímeros y surfactantes, son significativamente menos costosos que los químicos equivalentes inyectados desde la superficie.
6. De los miles de pozos tratados se ha podido determinar que los microorganismos (criaturas vivientes) poseen un rango de eficiencia máxima en función de las condiciones medioambientales del reservorio, estas condiciones están dadas:
  - a. La Temperatura : entre 150 y 200 grados Fahrenheit.
  - b. La presión : algo menos de 20,000 psi.

- c. La Salinidad : entre 25% y 30%.
  - d. El porcentaje de Agua y Sedimentos : menos del 60%.
7. De acuerdo a la literatura se indica que el costo operativo de una operación de MEOR se encuentra entre \$0.25 y \$0.50 por barril extra de petróleo recuperado y el costo de inversión es inferior a los \$2.00/bbl extra de petróleo recuperado; indicándose asimismo que el tiempo aproximado de repago es de seis meses.
  8. Antes de iniciar cada proyecto de MEOR se deben analizar muestras del agua coproducida por el yacimiento. A partir de los resultados de éste análisis, se decidirá la composición de la mezcla nutritiva que se adicionará y que suele consistir en nitratos, fosfatos y sulfatos e inclusive un carbohidrato fermentable. Debido a que las condiciones a las que se encuentran sometidos los microorganismos distan de ser óptimas, no basta con inocular los yacimientos, sino que se deben proveer las condiciones adecuadas para la proliferación celular, especialmente el oxígeno disuelto. Otros factores difíciles de controlar a cientos de metros de profundidad, como la salinidad, el PH, la temperatura así como un bajo potencial redox pueden resultar limitantes en extremo.

## BIBLIOGRAFIA

### CAPITULO I

1. Aburto A Jorge A., Rojas A Norma. Quintero R Rodolfo. BIOTECNOLOGIA-PROSPECTIVA DE LA INVESTIACION Y EL DESARROLLO TECNOLOGICO DEL SECTOR PETROLERO AL AÑO 2025. México
2. American Petroleum Institute (API), National Petrochemical & Refiners Association (NPRA), U.S. Departamento of Energy (DOE) "Technology Road Map for the Petroleum Industry" 2000.

### CAPITULO II

1. Microbiología Médica, Ernest Jawetz, Joseph Melnick y Edwar Adelberg
2. [www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteria/index.html](http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteria/index.html) , Facultad de Medicina de la UNAM Departamento de Microbiología
3. [www.arraxis.es/~lluengo/atp.html](http://www.arraxis.es/~lluengo/atp.html) Artículos sobre bacterias
4. Neidhart, F. C., J. L. Ingraham, M. Schaechter (1990), PHYSIOLOGY OF THE BACTERIAL CELL: A MOLECULAR APPROACH. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
5. Enrique lañes Pareja (1998) CURSO DE MICROBIOLOGIA GENERAL.
6. [www.ugr.es/~eianez/microbiologia/programa.htm](http://www.ugr.es/~eianez/microbiologia/programa.htm)

### CVAPITULO III, IV, V, VI

1. "EOR Survey and Análisis", OGJ Special Oil & Gas Journal, 1996.
2. Valderrama Brenda, Tellez-Sosa Juan; MICROBIOLOGIA DEL PETROLEO Y SUS DERIVADOS; Instituto de Biotecnología, UNAM; Cornavaca México
3. IPN Ciencia, Arte : Cultura; MICROBIOLOGIA DEL PETRÓLEO Setiembre-Octubre 1997; México
4. Lucio Carrillo B. INGENIERIA DE RESERVORIOS.
5. Coveñas Rafael, L. T. B. A. y Stanley L., Valdez Rojas & Hogg S: A. MEJORAMIENTO DE LA PRODUCCION DE PETROLEO MEDIANTE EL USO DE APLICACIONES BIOTECNOLOGICAS