



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE INGENIERÍA

“RECUPERACIÓN MEJORADA MICROBIANA
DE HIDROCARBUROS”

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERA PETROLERA

PRESENTA

NATALIA CATALINA HINOJOSA GONZÁLEZ.

DIRECTORA DE TESIS

DRA. ROCÍO GUADALUPE DE LA TORRE SÁNCHEZ





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS.

Gracias a Dios por permitirme llegar a terminar mis estudios profesionales, a los seres de luz que estuvieron a mi lado y a la virgen por todas sus bondades.

Gracias a mi mama que se propuso darme estudios a pesar de las adversidades que enfrentamos y de las diferencias que hemos tenido, pero a pesar de ello se que me has dado lo que has podido gracias.

Gracias a mis tíos que siempre han sido solidarios y han apoyado a mi madre y a mí gracias a todos.

Gracias a Ulises Bruno Salvador, por haberme brindado su amistad, la cual se convirtió en un cariño tan especial llamado amor, gracias por apoyarme por estar a mi lado, por llegar a mi vida en el momento menos esperado y de la forma menos esperada, gracias por enseñarme lo que es el verdadero amor, por que eso eres para mí. Gracias por compartir hermosos momentos y ser como eres conmigo.

Paola, Javier, Viri, Ari, Jauncho, Flore, Rafa, Richi, Itzel, Nahun, Nancy, Toño, Moy, Danira, David, Pame, Jerome, Ulises B. S., Emanuel, Mike, Alfredo, Victor, Chuchin, Chelo, Gerardo, Jonathan, Nae, Niño, Pris, George, Hector, Lalo, Lulu, Cris, Clemen, gracias por ser mis amigos por haber estado a mi lado siempre en las buenas y en las malas, con los que descubrí y aprendí muchísimas cosas, a muchos de ustedes los considero mas que amigos por todo lo que compartimos y aunque muchos no pudieron seguir siempre los he recordado.

Gracias a mis profesores, a mi directora de tesis, y a mis sinodales por el tiempo y la amabilidad gracias por todo.

Gracias a la UNAM por haberme permitido crecer académicamente en ella, por proporcionarme satisfacciones, alegrías y penas por que de todo lo que viví aquí aprendí, gracias por haber llenado mis expectativas.

ÍNDICE

	Página
RESUMEN.....	iv
CAPÍTULO 1. CONCEPTOS FUNDAMENTALES.	
1.1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.1.1 POROSIDAD.....	2
1.1.2 POROSIDAD PRIMARIA.....	3
1.1.3 POROSIDAD SECUNDARIA.....	3
1.1.4 POROSIDAD ABSOLUTA.....	3
1.1.5 POROSIDAD EFECTIVA.....	4
1.1.6 PERMEABILIDAD.....	4
1.1.7 PERMEABILIDAD ABSOLUTA.....	6
1.1.8 PERMEABILIDAD EFECTIVA.....	6
1.1.9 PERMEABILIDAD RELATIVA.....	6
1.2 TÉCNICAS DE PRODUCCIÓN.....	7
1.2.1 SUCCIÓN.....	11
1.2.2 INYECCIÓN DE FLUIDOS.....	12
1.2.3 FRACTURAMIENTO DE ESTRATOS.....	13
1.2.4 ACIDIFICACIÓN.....	15
1.3 RECUPERACIÓN PRIMARIA.....	17
1.4 SISTEMA ARTIFICIALES DE PRODUCCIÓN.....	17
1.5 RECUPERACIÓN SECUNDARIA.....	18
1.6 MANTENIMIENTO DE PRESIÓN.....	18
1.7 RECUPERACIÓN TERCIARIA O MEJORADA.....	19

1.8 PRINCIPALES MÉTODOS DE RECUPERACIÓN MEJORADA DE

HIDROCARBUROS.....	21
1.8.1 MÉTODOS TÉRMICOS.....	22
1.8.1.1 INYECCIÓN DE VAPOR.....	22
1.8.1.2 COMBUSTIÓN IN-SITU.....	22
1.8.2 MÉTODOS QUÍMICOS.....	23
1.8.2.1 INYECCIÓN DE POLÍMEROS.....	23
1.8.2.2 INYECCIÓN DE ALCALINO.....	23
1.8.3 MÉTODOS MISCIBLES E INMISCIBLES.....	24
1.8.3.1 DESPLAZAMIENTO POR GAS ENRIQUECIDO.....	26
1.8.3.2 DESPLAZAMIENTO CON CO ₂	27
1.8.4. RECUPERACIÓN MEJORADA MICROBIANA.....	27

CAPÍTULO 2. IMPORTANCIA DE LA RECUPERACIÓN MEJORADA**MICROBIANA.**

2.1 LA NECESIDAD DE LA RECUPERACIÓN MICROBIANA.....	28
2.2 PARAMETROS PARA EL DESARROLLO DE LA RECUPERACIÓN MEJORADA MICROBIANA.....	33
2.3 PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DE LOS MICROORGANISMOS.....	35
2.4 CLASIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS.....	35
2.5 CRECIMIENTO BACTERIANO.....	38
2.6 CARACTERÍSTICAS DE LOS CULTIVOS.....	39
2.7 HISTORIA DE LA RECUPERACIÓN MEJORADA MICROBIANA.....	40

CAPÍTULO 3. CLASIFICACIÓN Y MECANISMOS DE LA RECUPERACIÓN

MEJORADA MICROBIANA.

3.1 CLASIFICACIÓN DE LA RECUPERACIÓN MEJORADA MICROBIANA.....48

 3.1.1 RECUPERACIÓN MICROBIANA CÍCLICA.....48

 3.1.2 RECUPERACIÓN MICROBIANA MEDIANTE LA INYECCIÓN DE AGUA ADICIONADA
 CON MICROORGANISMOS.....50

3.2 MECANISMOS DE LA RECUPERACIÓN MEJORADA MICROBIANA.....52

 3.2.1 GENERACIÓN DE GASES Y PRODUCCIÓN DE BIOSURFACTANTES.....54

 3.2.2 PRODUCCIÓN DE ÁCIDOS Y BIOSURFACTANTE.....56

 3.2.3 CONEXIÓN SELECTIVA.....58

 3.2.4 DEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS.....59

CAPÍTULO 4. INÓCULO E INYECCIÓN.

4.1 INÓCULO BACTERIANO.....64

4.2 APOYO NUTRICIONAL.....70

4.3 PROTOCOLO DE INYECCIÓN70

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....72

BIBLIOGRAFÍA.....74

RESUMEN.

La explotación de los yacimientos petroleros mediante un Método de Recuperación Primaria y Secundaria, en general deja cantidades importantes de hidrocarburos remanentes que son retenidos por las fuerzas capilares del medio poroso en el que se encuentran. Una buena opción para disminuir la tensión interfacial agua-aceite es la inyección de agentes químicos, lo que da como resultado frentes de desplazamiento uniformes y una mayor movilización del petróleo remanente.

Sin embargo, el principal obstáculo para utilizar algunos productos químicos, es el elevado precio de éstos, lo cual originó comenzar a tomar en cuenta otras alternativas; una de estas es la aplicación de microorganismos en los yacimientos, ya sea mediante la inyección en el yacimiento o mediante la estimulación de los microorganismos autóctonos presentes en los yacimientos.

Este método de Recuperación Mejorada proporciona una excelente opción en la recuperación de hidrocarburos, debido a que los microorganismos tienen la capacidad de generar muchos de los productos químicos que se usan en la Recuperación Mejorada convencional. Aunque no sólo se produce esto sino que también tienen la habilidad de modificar las propiedades de la roca, y de modificar las propiedades de los hidrocarburos.

La Recuperación Mejorada Microbiana no es un método actual, debido a que la utilización de microorganismos se ha estudiado desde hace mucho tiempo, sin embargo fue hasta años recientes que la aplicación de microorganismos como un método de recuperación ha sido aceptada y estudiada en algunos países, los cuales han tenido resultados favorables.

A continuación se describirá de manera general cada uno de los capítulos que integran el presente trabajo.

Capítulo 1 se definen algunas características de las propiedades de la roca, fuerzas de retención del aceite, también algunas técnicas de producción, así como los términos de Recuperación Primaria, Secundaria, Terciaria, Mantenimiento de presión.

Capítulo 2 se describen las características principales de los microorganismos, así como de los cultivos que se inyectaran en el yacimiento, también se da una idea en general del beneficio y utilidad de la Recuperación Mejorada Microbiana así como de sus antecedentes y registros que se tienen de esta.

Capítulo 3 se presenta la clasificación de la Recuperación Mejorada Microbiana, así mismo se presentan los diferentes mecanismos que se generan al inyectar microorganismos en los yacimientos.

Capítulo 4 se presentan los protocolos de inyección y de selección de cultivos, también se menciona la importancia del inóculo microbiana y se presentan algunas de las cepas utilizadas.

Finalmente se presentan algunas conclusiones y recomendaciones de este trabajo.

OBJETIVOS:

- ❖ Dar una introducción del método de recuperación mejorada microbiana.
- ❖ Definir los mecanismos de la recuperación mejorada microbiana.
- ❖ Elaborar un material de consulta al realizar una recopilación de información sobre la recuperación mejorada microbiana.

CAPÍTULO 1

CONCEPTOS FUNDAMENTALES

1.1. INTRODUCCIÓN

Deben estar presentes ciertas condiciones para que exista un yacimiento estas se basan en la existencia de rocas generadoras que presenten buenas condiciones de cantidad, calidad y madurez de materia orgánica para la generación de hidrocarburos, condiciones que están relacionadas con rocas almacenadoras y sello, así como los procesos que incluyen la formación de la trampa, generación, migración, acumulación y preservación de los hidrocarburos. Para que los hidrocarburos permanezcan en el yacimiento, las capas o estratos suprayacentes y subyacentes deben ser impermeables. De igual manera, los lados deben impedir la fuga de los fluidos.

El empuje del petróleo hacia los pozos se efectúa mediante la presión natural que tiene el yacimiento. En la práctica se ha constatado que este empuje se puede derivar de la presencia de un casquete de gas libre que se encuentra encima de petróleo, aceite o crudo; de un volumen de gas disuelto en el petróleo; de un volumen de agua dinámica subyacente o de empuje por gravedad.

Generalmente, se puede presentar más de un mecanismo que empuje el petróleo, pero sólo uno de estos mecanismos es el que predomina.

Es importante detectar lo más anticipadamente posible el mecanismo natural de empuje. Esta temprana apreciación servirá para obtener el mayor aprovechamiento del comportamiento futuro del mecanismo predominante en el yacimiento y de cada pozo en particular.

El comportamiento que presentan los yacimientos durante su explotación está influenciado por las características productivas de la roca, la presencia de flujo multifásico a través del medio poroso, así como el esquema de desarrollo implantado.

Algunas de las características de la roca son las siguientes:

1.1.1. POROSIDAD (Φ)

Es el espacio disponible en la roca, sirve como receptáculo para los fluidos presentes en ella, por lo que la porosidad se define como la relación del espacio vacío en la roca con respecto al volumen total de ella.

Es decir, un volumen de roca, está formado por un volumen de poros y un volumen de sólidos; matemáticamente se expresa como:

$$V_r = V_p + V_s, \dots\dots\dots 1.1$$

donde:

V_r = Volumen de roca.

V_p = Volumen de poros.

V_s = Volumen de sólidos.

Si el volumen de poros se relaciona al volumen de roca, se obtiene la porosidad, y ésta se representa en fracción o en por ciento:

$$\Phi = \frac{V_p}{V_r}, \dots\dots\dots 1.2$$

o bien:

$$\Phi = \frac{V_p}{V_p+V_s}, \dots\dots\dots 1.3$$

Dentro de esta encontramos:

1.1.2 POROSIDAD PRIMARIA

Es aquella que se presenta como resultado de los procesos originales de formación del medio poroso tales como la depositación, compactación, litificación, etc., del material, es decir, en la diagénesis.

Se refiere a los espacios vacíos que quedan entre los granos y fragmentos minerales en la roca. A esta porosidad también se le conoce con los nombres de porosidad original, intergranular o de matriz.

1.1.3 POROSIDAD SECUNDARIA

Es aquella que se debe a procesos posteriores que experimenta el mismo medio. Estos procesos pueden ser geológicos (mecánicos) o fenómenos químicos.

Algunos ejemplos de estos procesos pueden ser la disolución del material calcáreo por corrientes subterráneas, fracturamiento, etc.

Éstos pueden actuar por separado o en conjunto, asumiéndose que ha sido posterior a la litificación de la roca misma. También se le llega a llamar porosidad inducida.

1.1.4 POROSIDAD ABSOLUTA (Φ_a)

Es la relación entre el volumen total de poros (comunicados y no comunicados) y el volumen de roca, matemáticamente se expresa como:

$$\Phi_a = \frac{V_{pc} + V_{pnc}}{V_r}, \dots\dots\dots 1.4$$

donde:

Φ_a = Porosidad absoluta.

V_r = Volumen de roca.

V_{pc} = Volumen de poros comunicados.

V_{pnc} = Volumen de poros no comunicados o aislados.

1.1.5 POROSIDAD EFECTIVA (Φ_e)

Se define como el porcentaje del espacio poroso interconectado con relación al volumen total de roca. Esta porosidad es la de interés para la industria petrolera y se expresa como:

$$\Phi_e = \frac{V_{pc}}{V_r} \dots\dots\dots 1.5$$

1.1.6 PERMEABILIDAD

La permeabilidad es esencial para saber la facilidad con la que los fluidos fluirán a través del sistema poroso al pozo.

Se puede definir como la facilidad que tiene una roca para permitir el paso de fluidos a través de ella.

El primero en estudiar este concepto fue Henry Darcy (1856) al investigar el flujo de agua a través de filtros de arena para la purificación de agua. Estableció una relación para el flujo de fluidos en un medio poroso y sus estudios fueron retomados por otros investigadores y los ampliaron para su uso en diversas industrias.

Darcy experimentó con filtros de arena y encontró que el gasto a través del empaque de arena era proporcional a la carga hidrostática del fluido (ρ, g, h), más una presión (P) ejercida sobre la superficie libre del líquido, que causa el movimiento del fluido en una longitud (L) dada, mediante una sección transversal de área (A) perpendicular a la dirección de flujo donde esta área es un área aparente ya que considera todo y sólo se fluye a través del espacio poroso. La constante de proporcionalidad (K) es la permeabilidad.

La forma elemental de la ecuación de Darcy es:

$$q = -A \frac{K \Delta(P + \rho gh)}{L}, \dots\dots\dots 1.6$$

donde h es la altura medida sobre un nivel constante de referencia, ρ es la densidad del fluido y g es la aceleración de la gravedad.

Darcy sólo consideró agua, no pudiendo así aplicarse de forma general a otros campos relacionados con el flujo de fluidos. Investigaciones posteriores ya consideran otros fluidos tomando en cuenta el efecto de la viscosidad (μ). Al introducir este término se observa que es inversamente proporcional al gasto del fluido. Por lo que la ecuación de Darcy adquiere una forma más general:

$$q = -A \frac{K \Delta(P + \rho gh)}{\mu L}, \dots\dots\dots 1.7$$

ahora, si L se mide en una cierta dirección y el ángulo de buzamiento con la horizontal es α, entonces h=L (senα) y la ecuación queda de la siguiente manera:

$$q = -A \frac{k}{\mu} \left(\frac{\Delta P}{L} + \rho g \text{sen } \alpha \right), \dots\dots\dots 1.8$$

donde $\frac{\Delta P}{L}$ es el gradiente de presión en la dirección de flujo por lo que a α se le considera positivo cuando el flujo es buzamiento arriba o negativo cuando es buzamiento abajo. En esta ecuación de flujo, la velocidad que se obtiene al dividir al gasto por el área, no es la velocidad real, es sólo aparente, ya que no toda la sección del área transversal está disponible para el flujo del fluido. Ahora si se quiere estimar la velocidad del flujo real en el medio poroso, se tendrá que dividir entre la porosidad.

La permeabilidad (K) como los otros parámetros vistos puede ser clasificada de acuerdo con el contenido de fluidos en la roca y también por la forma de flujo que se tiene; pudiendo ser:

1.1.7 PERMEABILIDAD ABSOLUTA (k)

Es aquella en la cual sólo se considera un fluido mojante presente en el medio poroso saturándolo al 100%. Esto es, si se tiene un solo fluido homogéneo en el medio poroso, entonces la permeabilidad que se tiene no variará considerando que el fluido no reaccione con el medio, esta propiedad es propia del sistema y será la misma, no importando el fluido.

1.1.8 PERMEABILIDAD EFECTIVA (k_e)

Se considera que en el medio poroso se tiene presente más de un fluido, es decir, dos fases por lo menos en el sistema. Entonces se dice que la permeabilidad efectiva es la permeabilidad a un fluido en particular, ya sea este aceite, gas o agua. Se dice también que la permeabilidad efectiva a un fluido es la conductividad del medio poroso a éste, cuando existe una cierta saturación del medio, menor de 100%, de dicho fluido. Esta permeabilidad, no sólo depende de la roca, sino también de las cantidades y propiedades de los fluidos presentes en ella. Estas permeabilidades cambiarán en función de la variación de las saturaciones que tengan. Se ha encontrado que:

$$0 \leq k_e \leq k.$$

1.1.9 PERMEABILIDAD RELATIVA (k_r)

Es la relación de la permeabilidad efectiva de cualquier fluido (aceite, gas o agua) con respecto a la permeabilidad absoluta ($k_r = \frac{k_e}{k}$). Se expresa en fracción ya que nunca es mayor a uno ($0 \leq k_r \leq 1$). Esta permeabilidad, en otras palabras, indica la facilidad de flujo

de un fluido a través de la roca, en presencia de otro u otros fluidos comparados con la facilidad de flujo que se tendría si únicamente fluyera un fluido.

Otro problema que se puede presentar durante la explotación de hidrocarburos es durante el período de terminación del pozo, debido a que se pueden presentar situaciones en las que el estrato productor no descarga fácilmente el supuesto volumen de hidrocarburos hacia el pozo. Algunas veces estas inconveniencias pueden ser sencillas y fáciles de corregir, pero algunas veces son difíciles y casi insolubles. Para ellos se pueden utilizar algunas técnicas de producción utilizadas antes de implementar un sistema artificial o una recuperación.

1.2 TÉCNICAS DE PRODUCCIÓN

Antes de proseguir con el procedimiento de algunas técnicas de producción se definirán algunas de las fuerzas causantes de la retención del aceite en la matriz de la roca; tales como: tensión superficial, mojabilidad, capilaridad y gravedad. Algunas de estas fuerzas se describen a continuación.

TENSIÓN INTERFACIAL.

Es el resultado de efectos moleculares por los cuales se forma una interfase o superficie que separa dos líquidos; si la tensión interfacial es nula, se dice que los líquidos son miscibles entre si. Como ejemplo de líquidos inmiscibles se tienen el agua y aceite, en tanto el agua y el alcohol son miscibles.

En el caso de que se tenga una interfase líquido-gas, al fenómeno se le llama Tensión Superficial.

La tensión interfacial también se puede considerar como el trabajo por unidad de área que hay que desarrollar para desplazar las moléculas de la interfase:

$$\frac{W}{A} \left(\frac{F-L}{L^2} \right) = \sigma \left(\frac{F}{K} \right) \dots\dots\dots 1.9$$

MOJABILIDAD.

La mojabilidad es la tendencia de un fluido a extenderse o adherirse sobre una superficie sólida, en presencia de otro fluido. Un parámetro que refleja tal preferencia es el ángulo de contacto. Si la roca es mojada por aceite se dice que es olefílica y si es mojada por agua será hidrofílica.

La mojabilidad es de gran importancia para el flujo de aceite en un medio poroso. Se ha demostrado que si la roca es mojada por agua, la permeabilidad relativa al aceite será muy superior al caso en que la roca sea mojada por aceite.

Esto es debido a que la fase mojante (en este caso agua) está adherida a la roca, disminuyendo de esta manera su movilidad. En la literatura técnica, aparecen los términos “fuertemente mojados por agua”, “fuertemente mojados por aceite” o “mojabilidad intermedia”.

El gas natural es el fluido no mojante; el aceite es el fluido mojante cuando se compara con el gas y por lo regular el agua es el fluido no mojante cuando se compara con el aceite. Dependiendo del tipo de roca en el yacimiento, la capacidad de mojabilidad varía. El fluido mojante cubrirá por completo la superficie de la roca y estará ubicado en los espacios porosos más pequeños, debido a la acción de la capilaridad. La fase mojante tenderá a congregarse en grandes espacios porosos, o en el centro de éstos.

Rara vez se indican los límites cuantitativos de mojabilidad pero el ángulo de contacto puede indicarnos las condiciones de mojabilidad por ejemplo:

Los ángulos de contacto menores a 90°, medidos a través de la fase de agua, indican condiciones de mojabilidad preferentemente por agua. Los ángulos mayores a 90°, indican condiciones de mojabilidad preferente por aceite. Un ángulo exactamente de 90°,

indican que la superficie de la roca tiene igual preferencia de ser mojada por agua o por aceite.

El valor del ángulo de contacto puede variar de 0° a 180° .

CAPILARIDAD.

La elevación o descenso de un líquido en un tubo capilar (o en situaciones físicas análogas, tales como medios porosos) vienen producidos por la tensión superficial, dependiendo de las magnitudes relativas de la cohesión del líquido y de la adhesión del líquido a las paredes del tubo. Los líquidos ascienden en tubos que mojan (adhesión > cohesión) y descienden en tubos a los que no mojan (cohesión > adhesión).

FUERZAS CAPILARES.

Estas fuerzas, en los yacimientos de hidrocarburos, son el resultado de los efectos combinados de las tensiones interfaciales y superficiales, del tamaño y la forma de los poros y del valor relativo de las fuerzas de adhesión entre fluidos y sólidos y las fuerzas de cohesión en los líquidos, es decir, de las propiedades de mojabilidad del sistema roca-fluido.

PRESIÓN CAPILAR.

Para un medio poroso se define como la capacidad que tiene el medio de succionar el fluido que lo moja y de repeler al no mojante. La presión capilar también se define como la diferencia de presiones a través de la interfase de los fluidos.

A continuación se muestra la **Fig. 1.1** que representa esquemáticamente el fenómeno de la presión capilar en un medio poroso.

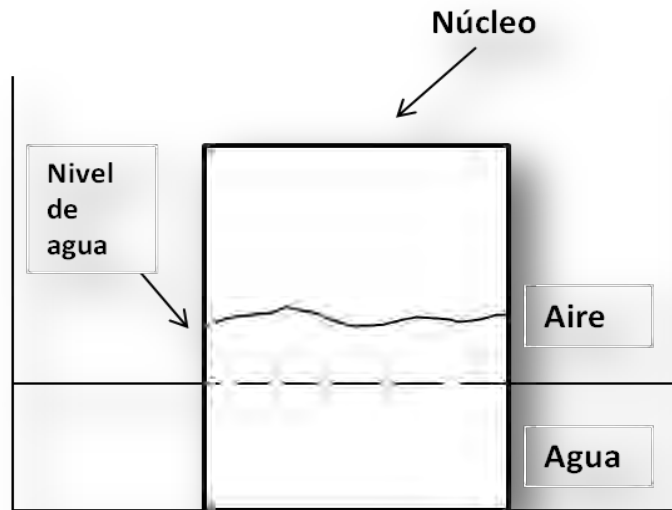


Fig. 1.1. Esquemización de la presión capilar en un medio poroso.
Tomado de Rodríguez N. R., (1987)

Estas fuerzas son responsables de la mayor parte las retenciones de hidrocarburos en los poros de la formación productora. Al comienzo de la industria petrolera, se tenían ideas vanales acerca de las técnicas de producción; de hecho los sitios a perforar eran seleccionados con base a especulaciones por lo que, lograr un pozo productor era bastante difícil; en contraste actualmente se hace una exploración adecuada para asegurar que el sitio a perforar tenga las características esenciales para que este pueda contener hidrocarburos mediante técnicas más sofisticadas.

Debido a que el petróleo es un recurso no renovable, los pozos que se encuentran produciendo van declinando su producción, por la pérdida de presión natural del yacimiento. Por lo que el análisis de la información recopilada desde el comienzo es importante para instalar la infraestructura adecuada para la recuperación del petróleo, que en la mayoría de los yacimientos representa de un 60 a 70% por recuperar, por lo cual, es conveniente utilizar un método de recuperación (secundaria, mejorada o terciaria) o bien un sistema artificial.

Algunas de las primeras técnicas de producción utilizadas consistían en:

1.2.2 SUCCIÓN

Durante la terminación, la estimulación más sencilla es la succión. Mientras dura la perforación y la terminación, el fluido de perforación impone contra la pared del agujero una presión un poco mayor que la mayor presión que pueda tener cualquier estrato. Esta diferencia de presión hace que la parte líquida del fluido así como partículas micrométricas de sus componentes sólidos se filtre hacia la periferia del agujero. Si esta invasión es muy severa y extensa, deteriora marcadamente la permeabilidad del estrato productor en las inmediaciones del agujero.

Por lo tanto, cuando se hagan los intentos de poner el pozo a producir no se logrará el flujo anticipado. Entonces, para remediar la situación se trata de inducir que el pozo fluya succionándolo.

Para esto se utiliza la misma tubería y un cable en cuyo extremo va colgado un émbolo especial de succión. El émbolo se introduce a una cierta profundidad en la tubería, y al sacarlo facilita la extracción de cierto volumen de fluido de la tubería y a la vez impone una fuerza de succión al estrato productor. La succión del estrato se va haciendo más fuerte a medida que el émbolo va achicando el pozo a mayor profundidad (**Fig. 1.2**).

La aplicación de la succión tiene como propósito limpiar la periferia o zona invadida del pozo y establecer la permeabilidad e inducir el flujo del pozo utilizando la energía natural del yacimiento.

En la práctica, un mínimo de succiones pueden ser suficientes para lograr el flujo, pero a veces se succiona durante muchas horas o días sin éxito y entonces hay que recurrir a otros medios.

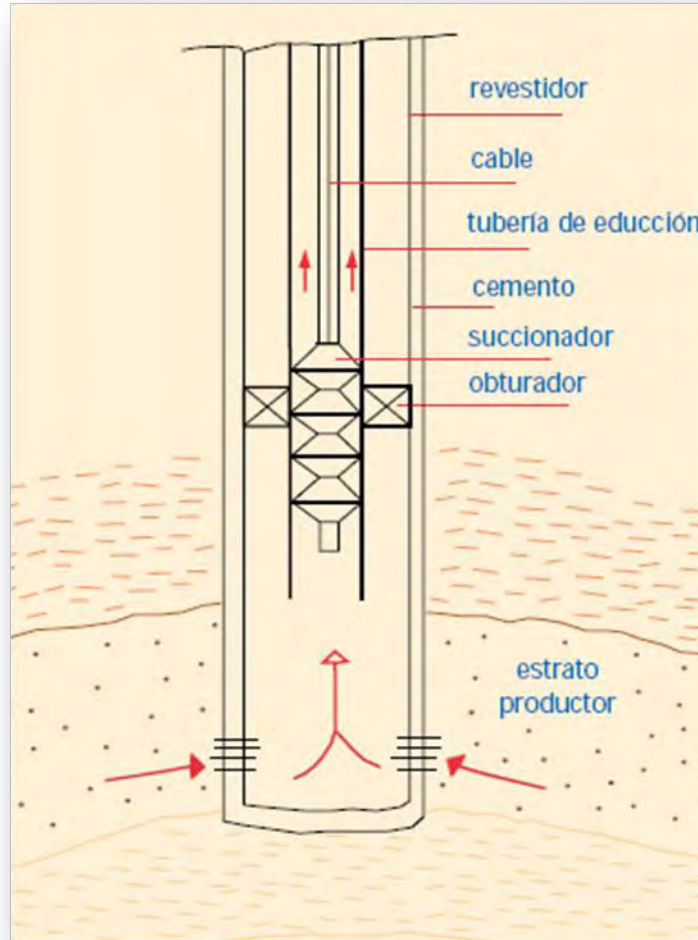


Fig. 1.2. Disposición de elementos para succionar e inducir el flujo de un estrato con permeabilidad obstruida.
Tomado de Barberii E.E., (1998)

1.2.3 INYECCIÓN DE FLUIDOS

Si durante las tareas de terminación el estrato productor no permite que el petróleo fluya con facilidad, esto significa que el daño a la permeabilidad en la periferia del hoyo debe ser corregido.

La inyección de fluidos como petróleo liviano, querosén o destilados puede lograr arrancar o desplazar las obstrucciones y facilitar la limpieza de los canales de flujo durante el contraflujo que se produce al poner el pozo en pruebas de producción. Para coadyuvar la acción desplazante del fluido inyectado, se puede optar por agregarle desmulsificantes o

agentes que activen su desplazamiento y su acción de barrido del material que obstruye los poros.

El volumen de fluidos, aditivos y la presión de inyección dependerán del espesor del estrato, de la competencia y características de la roca, según las apreciaciones derivadas de los datos logrados por análisis de ripio, núcleos y registros petrofísicos.

1.2.4 FRACTURAMIENTO DE ESTRATOS

En ciertas ocasiones, la inyección de fluidos a un determinado estrato puede hacerse con la deliberada intención de fracturarlo, o sea abrir canales de flujo de mayor amplitud y penetración alrededor de la periferia y más allá del hoyo, debido a que la baja permeabilidad natural, más la invasión del filtrado y partículas del fluido de perforación depositadas en el estrato, imposibilitan que pueda existir flujo hacia el pozo.

Para estos casos es muy importante tomar en cuenta la viscosidad, peso y composición del fluido, como también la presión de ruptura que debe aplicarse para fracturar el estrato. Como la inyección debe concentrarse en determinado intervalo y la prolongación del resquebrajamiento del estrato debe ser radial, es muy importante que la cementación entre el revestidor y el estrato, por encima y por debajo del intervalo escogido para hacer la inyección, sea sólida y fuerte para evitar canalización y fuga del fluido hacia arriba y/o hacia abajo, a lo largo de la cementación, o que el fluido fracture intervalos no escogidos (Fig. 1.3).

Como podrá apreciarse, el fluido inyectado a alta presión penetra en el estrato como una cuña que abre canales de flujo. Sin embargo, al descartar el fluido, durante el flujo desde el estrato al pozo, puede ser que desaparezcan los canales al disiparse la presión de ruptura y asentarse el estrato, o quizás se haya logrado que permanezcan los canales estables y abiertos.

Otra modalidad de fracturamiento es que al fluido se le agrega, en relación al volumen, un material sólido y competente, generalmente arena de determinadas especificaciones con respecto a tamaño de granos, esfericidad, distribución del agregado, resistencia, densidad y calidad. Al inyectarse la mezcla al estrato, la arena va depositándose en los canales como una cuña estable, porosa y permeable, que impedirá el asentamiento del estrato al desvanecerse la presión de ruptura y, por ende, mantendrá los canales de flujo abiertos.

Este procedimiento ha dado muy buenos resultados y, a medida que se ha acumulado mucha experiencia de campo, la tecnología de aplicaciones de fracturamiento ha avanzado en lo concerniente al diseño y fabricación de equipos y herramientas y en la selección, preparación y utilización de sólidos y fluidos para atender una variedad de necesidades. Todos estos adelantos permiten hacer hoy fracturamientos masivos que involucran altos volúmenes de fluidos y sólidos. Por ejemplo, en intervalos de gran espesor, arena muy compacta y de muy baja porosidad.

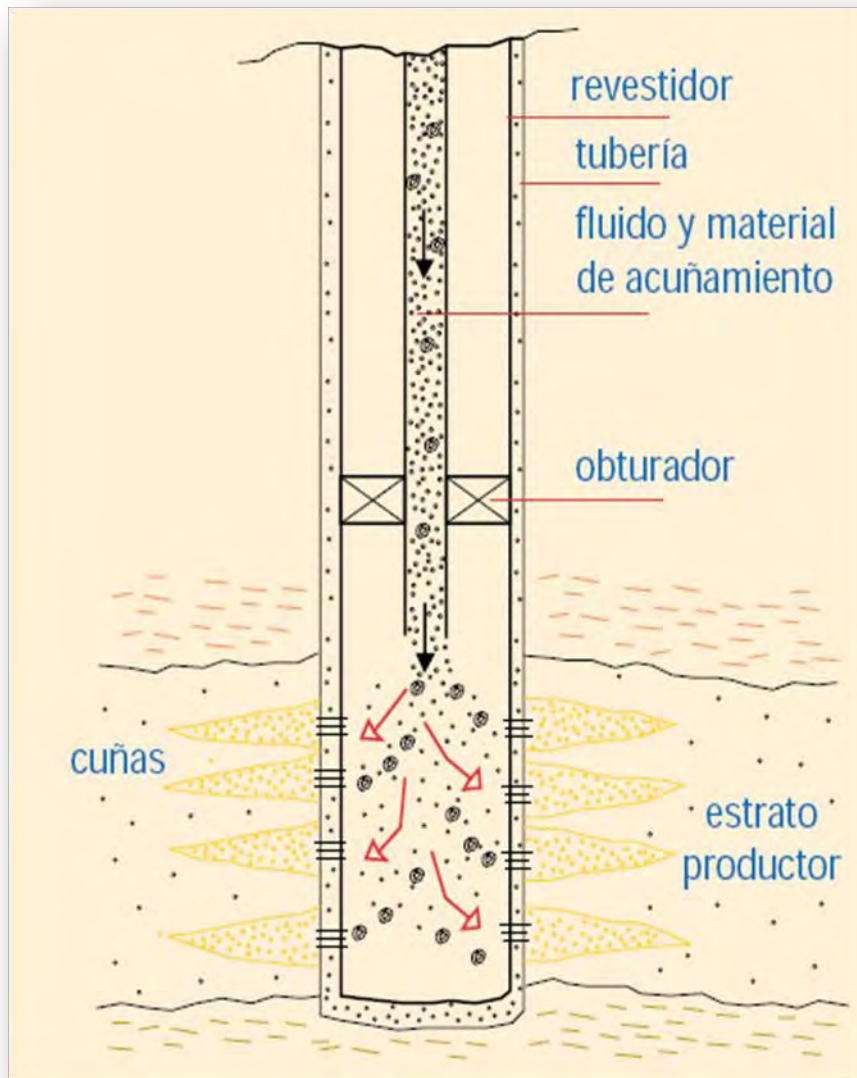
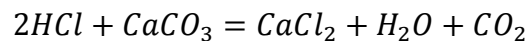


Fig. 1.3. Representación de un fracturamiento del estrato e inyección de material sólido.
Tomado de Barberii E.E., (1998)

1.2.5 ACIDIFICACIÓN

La acidificación de estratos petrolíferos constituye una de las aplicaciones más viejas empleadas por la industria petrolera en la estimulación de pozos. Empezó a utilizarse desde 1895. Como las rocas petrolíferas pueden contener carbonato de calcio (CaCO_3 , caliza), el ácido clorhídrico (HCl) en solución de 15 %, ha sido un buen disolvente que ayuda a abrir canales de flujo en el estrato productor.

La reacción química se realiza según la siguiente fórmula:



Después de la reacción se obtiene cloruro de calcio, agua y dióxido de carbono, como resultado de la descomposición del carbonato de calcio por el ácido.

La cantidad de ácido requerida está en función del volumen de roca que se propone tratar. Para apreciar ese volumen se recurre a ensayos de laboratorio, utilizando ripio y/o núcleos del estrato, como también otros datos petrofísicos y experiencias de acidificaciones anteriores en el área o sitio de operaciones.

Durante los años, el diseño y realización de tareas de acidificación de pozos petrolíferos han evolucionado en todos los aspectos. Los análisis básicos de laboratorio son más extensos y fundamentales para determinar las características físicas y químicas de las rocas y sus reacciones a los diferentes tipos de ácidos aplicables como: puros, concentrados, diluidos o gelatinosos. Factores como la viscosidad, densidad, temperatura, presión, penetración y celeridad o amortiguación de la reacción son evaluados con miras a obtener el mejor resultado posible. Como los ácidos clorhídricos y fórmicos son corrosivos, se dispone de inhibidores y otros aditivos que permiten aminorar su corrosividad en el equipo de acidificación y las tuberías del pozo mismo (**Fig. 1.4**).

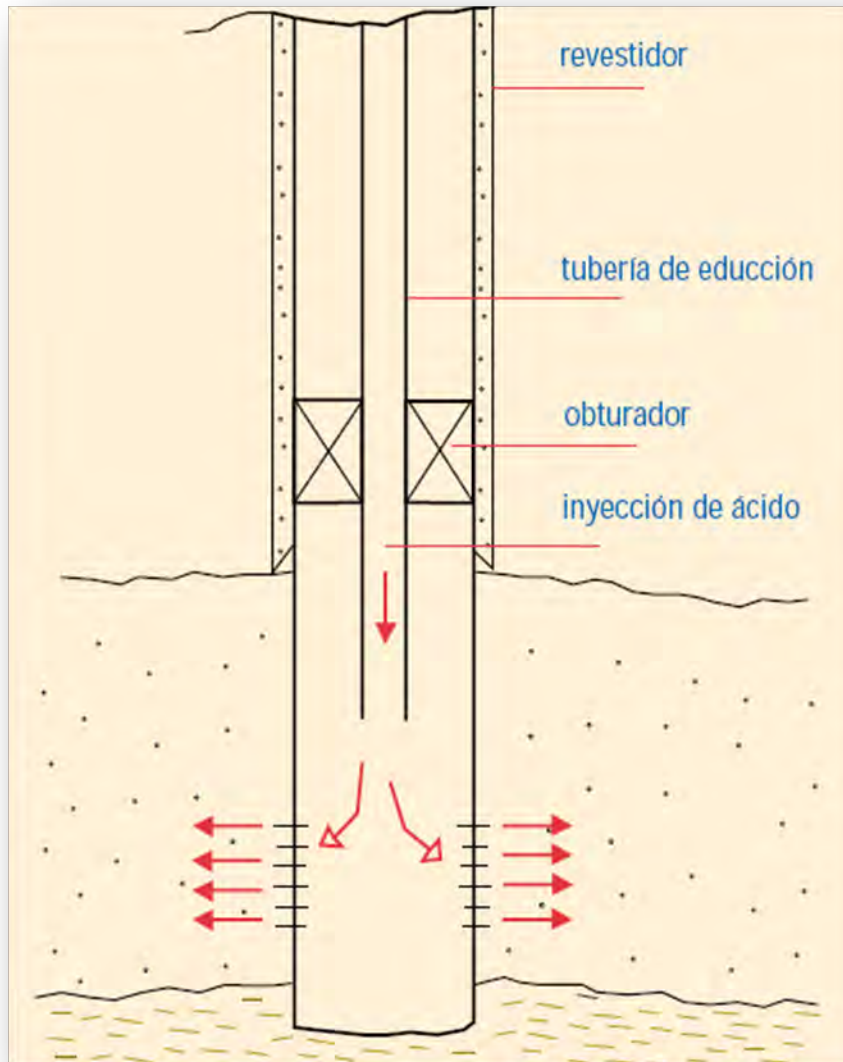


Fig. 1.4 Representación de elementos para una estimulación.
Tomado de Barberii E.E., (1998)

Ahora se definirán los términos de recuperación primaria, secundaria, mejorada o terciaria y mantenimiento de presión así como la diferencia de estos métodos con los sistemas artificiales.

1.3 RECUPERACIÓN PRIMARIA

La recuperación primaria se define como la recuperación de hidrocarburo asociada a mecanismos naturales de empuje en un yacimiento, como expansión de la roca y el fluido, gas disuelto, acuífero activo, casquete de gas o bien drene gravitacional. En yacimientos naturalmente fracturados, adicionalmente se tiene un mecanismo adicional denominado exudación, que consiste básicamente en la acción combinada de fuerzas capilares y gravitacionales, las cuales originan la expulsión de los hidrocarburos de la matriz a la fractura.

Durante esta etapa el flujo de fluidos dentro del yacimiento, ocurre por la energía propia del yacimiento, es decir, la recuperación primaria se lleva a cabo cuando el yacimiento cuenta con la energía suficiente para elevar los fluidos a la superficie.

1.4 SISTEMA ARTIFICIAL DE PRODUCCIÓN

En ocasiones las presiones de fondo de los pozos no son suficientes para llevar los fluidos hasta la superficie, por lo que es necesario diseñar e instalar un sistema artificial de producción que permita recuperar estos hidrocarburos, antes de considerar cualquier proceso de mayor costo y de tecnología sofisticada.

Por consiguiente un sistema artificial se define como equipos adicionales a la infraestructura de un pozo, que suministran energía adicional a los fluidos producidos por el yacimiento desde una profundidad determinada.

Durante la vida productiva de los yacimientos, la presión tiende a disminuir debido a la explotación del campo, a tal grado que los pozos productores dejan de fluir de forma natural, en variadas ocasiones estas disminuciones de presión pueden ser originadas por daños en los pozos, ocasionados principalmente por la misma operación, generalmente este daño es removido mediante limpieza y estimulaciones.

Cuando no se tiene daño en la formación y el flujo de fluidos no es capaz de llegar a las instalaciones superficiales, es necesario implantar un sistema artificial de producción, acorde a las características del campo. Es necesario efectuar un estudio en el que involucre los diferentes sistemas artificiales, como son: bombeo mecánico, neumático y electrocentrífugo, los cuales permiten ayudar a vencer las caídas de presión y mantener el pozo fluyendo para así mantener la plataforma de producción comprometida.

Si aún así, ya con un sistema de producción implantado, existe una baja aportación de hidrocarburos del yacimiento al pozo, debe analizarse la posibilidad de aplicar un proceso de mantenimiento de presión, ó bien, de desplazamiento.

1.5 RECUPERACIÓN SECUNDARIA

Para evitar que la presión del yacimiento caiga por debajo de los niveles requeridos para llevar los fluidos al pozo a través del medio poroso, se requiere implementar procesos de recuperación secundaria y mejorada, según las características de cada yacimiento.

La recuperación secundaria es toda actividad encaminada a una recuperación de hidrocarburos adicional a la que se obtendría con la energía propia del yacimiento (recuperación primaria), impartiendo energía adicional (externa) al yacimiento para el desplazamiento de aceite en la formación productora.

La recuperación secundaria básicamente consiste en la inyección de agua en el acuífero o la inyección de un gas natural en la cima de la estructura, con el propósito fundamental de mantener la presión, o bien, de desplazar los hidrocarburos de la zona de aceite, mediante arreglos específicos de pozos inyectoros y productores.

Comúnmente, esta energía se imparte al yacimiento en forma mecánica, la energía en forma mecánica se suministra al yacimiento cuando se inyectan a éste fluidos líquidos o gases que desplazarán al aceite remanente en el yacimiento.

1.6 MANTENIMIENTO DE PRESIÓN

Con base en el análisis de muchos casos particulares de yacimientos ya explotados en etapas avanzadas, se logró determinar que es muy conveniente proporcionar esa energía adicional al yacimiento desde etapas tempranas de la vida productiva, anteriores al agotamiento, esta energía nos permite dar un mantenimiento de presión para los fines económicos y los de recuperación buscados. A éste proceso se le conoce como mantenimiento de presión.

1.7 RECUPERACIÓN TERCIARIA O MEJORADA

Los procesos de recuperación mejorada surgen como una alternativa para incrementar la recuperación de hidrocarburos, modificando las características de los fluidos y las fuerzas capilares que actúan sobre ellos.

La Recuperación Mejorada se fundamenta principalmente en técnicas sofisticadas en la operación; suele ser de alto costo, pero muy efectiva, así pues, la Recuperación Mejorada de hidrocarburos se define como la producción de aceite, mediante la inyección de un fluido que, además de desplazar el aceite, modifica favorablemente los mecanismos de recuperación de hidrocarburos.

Las técnicas pueden ser aplicadas en cualquier etapa durante la explotación del yacimiento; de hecho, existen formaciones que por sus características geológicas y petrofísicas, sólo pueden ser explotadas mediante un método de recuperación mejorada.

La Recuperación Mejorada, llamada también Recuperación Terciaria, queda descrita por procesos térmicos, inyección de gas miscible e inmiscible y de químicos; para cada uno de éstos se tiene una amplia gama de procesos de aplicación, los cuales deben ajustarse y ser acordes a las características del yacimiento en el que se quiera implementar.

La filosofía de la Recuperación Mejorada se basa precisamente en modificar las características de los fluidos a fin de disminuir efectos capilares e incrementar la movilidad del fluido desplazado, disminuyendo aquella del fluido desplazante. En la **Fig. 1.5** se muestra la etapa de implementación de los distintos métodos de recuperación.

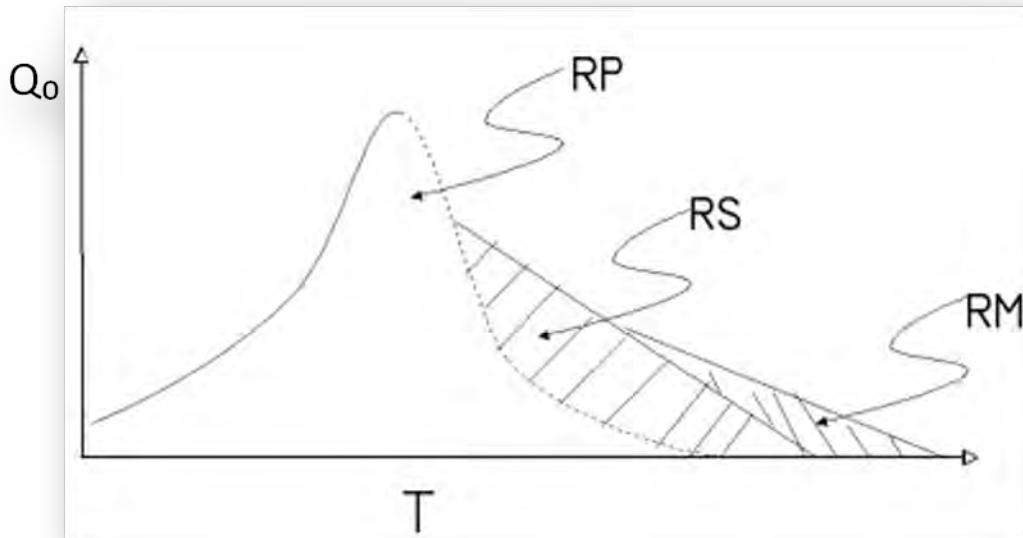


Fig. 1.5. Representación de la aplicación de la Recuperación primaria, secundaria y terciaria.

Tomado de Loreto M.E., (1982)

La selección del fluido a inyectar, ya sea para mantener la presión del yacimiento, desplazar o modificar la movilidad de los hidrocarburos, se llevará a cabo con base en el análisis de la interacción molecular entre el fluido inyectado y los hidrocarburos que constituyen la reserva.

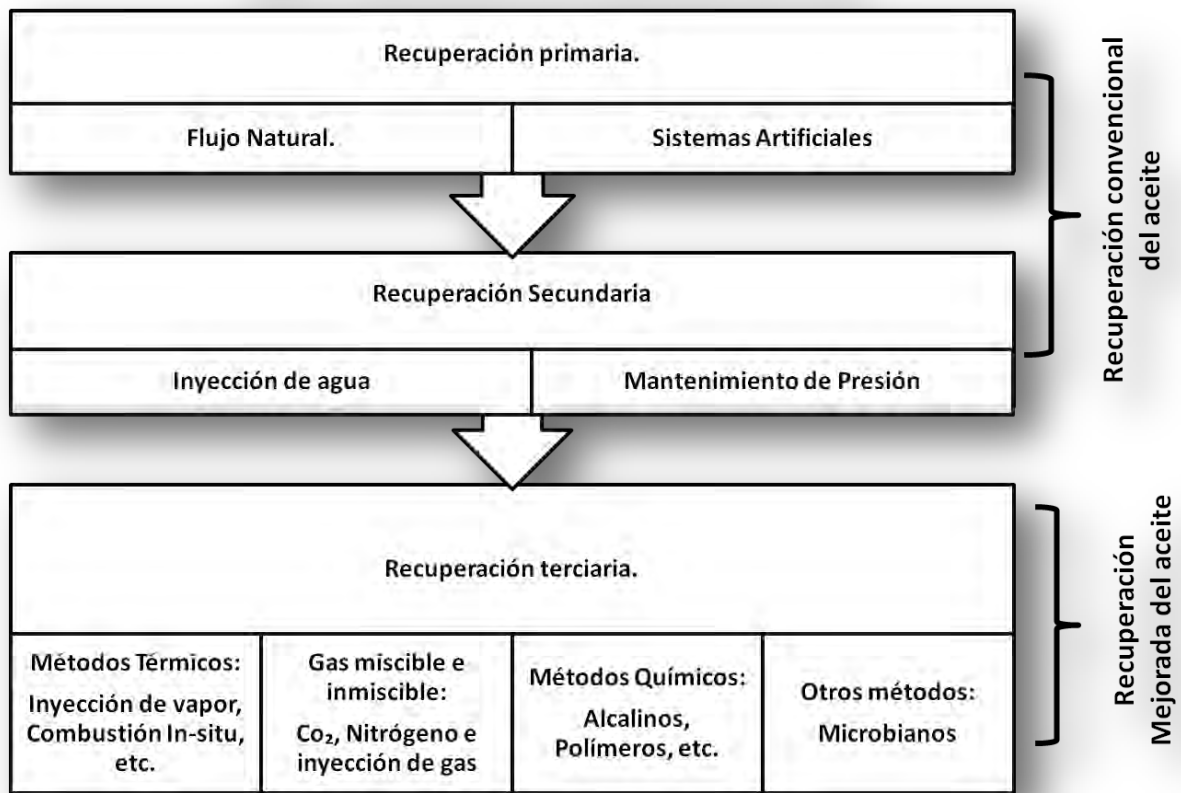
Este análisis está fundamentado mediante el análisis de laboratorio que se realiza para observar la compatibilidad de fluidos y básicamente el fluido a inyectar debe garantizar que la roca sea mojable preferentemente por este fluido, para obtener mayor eficiencia de desplazamiento; además, el fluido inyectado no debe provocar al entrar en contacto con los hidrocarburos, rompimiento de estructuras moleculares que den como consecuencia la depositación de sólidos, asfaltenos o parafinas, lo que ocasionaría el bloqueo de los canales naturales de flujo del yacimiento. Adicionalmente el análisis del fluido de inyección en el laboratorio, de preferencia no debe mostrar el fenómeno de difusión con el aceite del yacimiento, ya que esto provocaría su temprana irrupción en los pozos productores.

La estrategia que se ha establecido en la industria petrolera en México es con el único objetivo de recuperar las reservas de los principales yacimientos petroleros mediante la aplicación de sistemas artificiales y procesos de recuperación secundaria y mejorada. Esta estrategia está alineada a los criterios científicos, tecnológicos y de mercado, apoyados principalmente con el personal técnico capacitado para la realización, supervisión y validación de los análisis correspondientes para el proceso de implementación de un sistema artificial o para un método de recuperación.

1.8 PRINCIPALES MÉTODOS DE RECUPERACIÓN MEJORADA DE HIDROCARBUROS

En la siguiente tabla se muestran algunos de los métodos de recuperación mejorada.

Tabla 1.1 Mecanismos de recuperación del crudo.



Tomado de Abdus *et al.*, (1994)

1.8.2 MÉTODOS TÉRMICOS.

Los procesos térmicos de recuperación mejorada del petróleo se basan principalmente en proporcionar mayor calor al yacimiento para reducir la viscosidad del petróleo. Por lo que el petróleo es más movable, es decir, el mecanismo de empuje es más efectivo en la producción de los pozos. Además de adicionar calor, estos procesos proporcionan fuerza al mecanismo de empuje (Presión) para mover el aceite producido por los pozos, estos procesos proveen una fuerza para desplazar el aceite al pozo productor.

Los principales métodos de recuperación térmica son:

1.8.2.1 INYECCION DE VAPOR

La inyección de vapor es similar a un proceso de inyección de agua en el sentido en que en ambas debe elegirse un adecuado patrón de inyección; sin embargo el vapor únicamente es inyectado a un número determinado de pozos mientras el petróleo es producido por pozos adyacentes. Idealmente el vapor forma una zona saturada de vapor alrededor del pozo inyector. La temperatura en esta zona es casi igual a la del vapor inyectado. Pero a medida que el vapor se aleja del pozo, su temperatura disminuye y éste continúa su expansión como respuesta a la caída de presión.

1.8.2.2 COMBUSTIÓN *IN-SITU*

El concepto de combustión *in-situ* surgió en 1888, cuando Mendeleev fue el primero en sugerir su aplicación para la producción de gas de hulla de una veta de carbón. En 1934 sugirió este método para la recuperación secundaria del petróleo. El método implica la generación de calor dentro del yacimiento en la forma de un frente caliente alejándose del pozo inyector. La combustión es ayudada por la inyección de aire en el yacimiento en uno o más pozos.

La combustión *in-situ* se recomienda para yacimientos que tengan una alta saturación de aceite, buena porosidad y permeabilidad y aceites de moderada viscosidad. La combustión *in-situ* bien diseñada y ejecutada puede recuperar del 50 al 60 % del volumen original de aceite.

Si se considera el caso con un solo pozo de inyección de aire y un solo pozo de producción, será más fácil apreciar que la dirección de la propagación del frente de combustión depende del lugar en donde comienza la ignición, por lo que se tienen dos tipos de combustión:

Combustión directa es aquella donde se presenta un elevado incremento de la temperatura en la zona alrededor del pozo de inyección, la ignición toma lugar en la vecindad y el frente de combustión viaja en la dirección del pozo productor, en la dirección del flujo de los fluidos.

Combustión inversa es aquella donde la zona alrededor del pozo de producción es calentada, la ignición comienza cerca de este pozo y el frente de combustión viaja hacia el pozo inyector, en dirección contraria al flujo.

1.8.3 MÉTODOS QUÍMICOS.

La inyección de químicos es aplicable a aceites que son muy viscosos así como para aceites adecuados para la inyección de gas, pero menos viscosos que los aceites que pueden ser recuperados por métodos térmicos. Los yacimientos con permeabilidad moderada son deseables. La presencia de una capa de gas no es deseable, puesto que hay un potencial en la capa de resaturación. Así mismo formaciones con gran contenido de arcillas son indeseables, debido a que las arcillas incrementan la adsorción de los químicos inyectados.

1.8.3.1 INYECCIÓN DE POLÍMEROS

El objetivo de la inyección de polímeros es proporcionar un mejor desplazamiento y eficiencia volumétrica de barrido durante la inyección de agua.

La recuperación del aceite mediante la inyección de polímeros se produce mediante:

- El incremento de la viscosidad del agua.
- La disminución de la movilidad del agua.
- La conexión de un gran volumen del yacimiento.
- La reducción de la movilidad del fluido inyectado para mejorar la eficiencia de barrido areal y vertical.

El flujo de soluciones poliméricas a través del medio poroso cobró interés hace varios años. Pye (1964) y Sandiford (1964) fueron los primeros en reportar una recuperación mejorada de aceite por reducción de la movilidad del agua salada. Al añadir una pequeña cantidad de poliacrilamida hidrolizada (polímero soluble en agua), el fluido de inyección,

puede reducir significativamente la movilidad de la salmuera. Esta técnica ha probado ser bastante exitosa en pozos productores con un elevado corte de agua. Se considera a este método como una extensión de la técnica del ajuste de perfiles de permeabilidad en el desplazamiento por agua. Un pozo al ser tratado con polímeros tiene como resultado una reducción de la relación agua aceite sin alterar la producción de petróleo. Conforme la solución polimérica es inyectada a la formación, esta tiende a buscar las zonas de mayor permeabilidad, por lo que se obtiene una penetración más profunda que la que se obtiene con el uso de agentes convencionales.

1.8.3.2 INYECCIÓN DE ALCALINOS

La inyección de alcalinos implica la inyección de químicos tales como hidróxido de sodio, silicato de sodio o carbonato de sodio. Los aceites dentro del rango de viscosidad de 15 a 35°API son normalmente candidatos a la inyección de alcalinos.

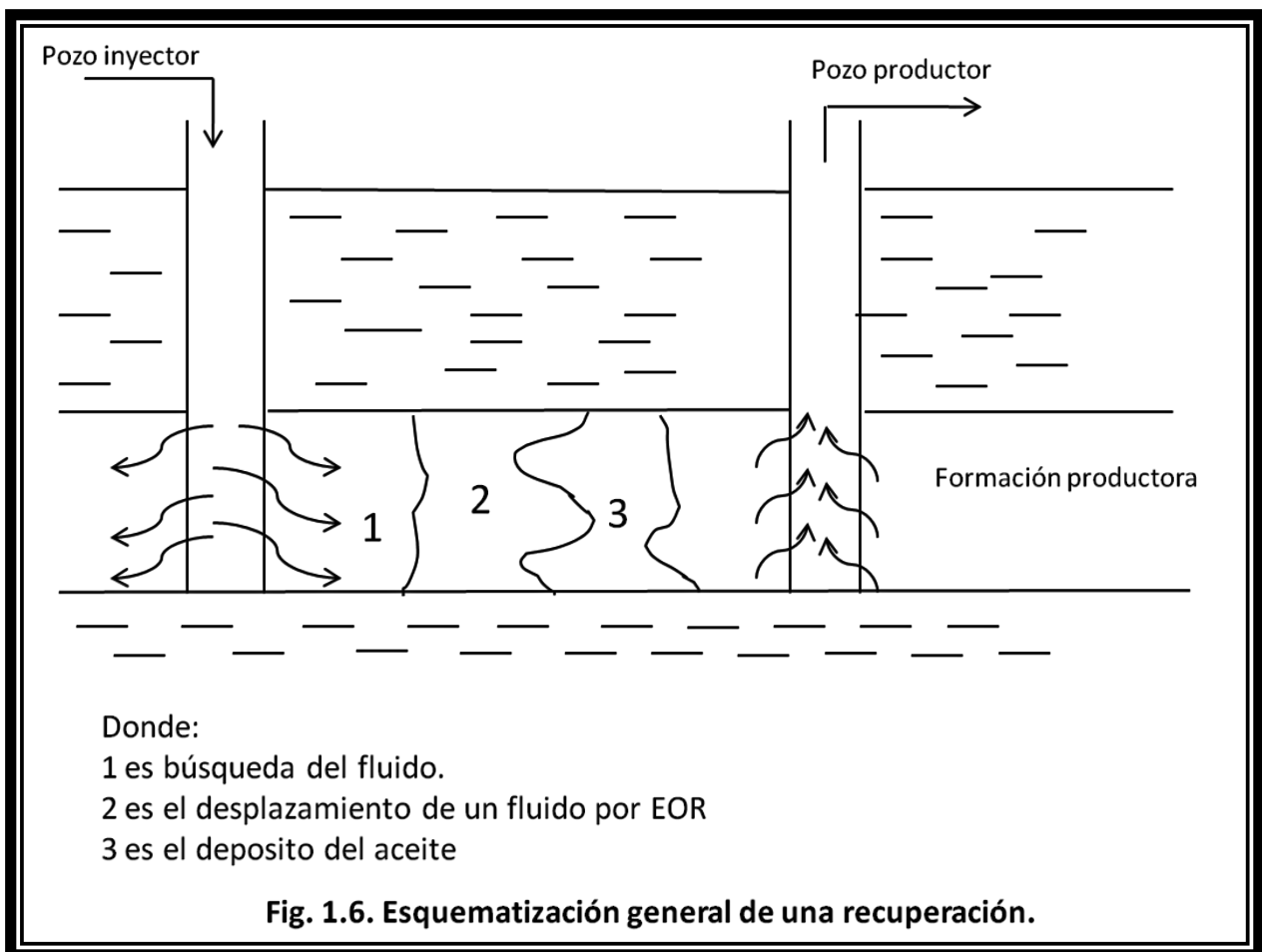
Una de las propiedades deseadas para los aceites es que deben de contener bastantes ácidos orgánicos para que éstos puedan reaccionar con las soluciones alcalinas. Otra propiedad deseable es una densidad moderada (15-35 °API) que permita la movilidad sin ningún problema.

Los yacimientos de areniscas son generalmente preferidos para estos procesos debido a que las formaciones de carbonatos a menudo contienen anhídridos o yeso que consumen una gran cantidad de químicos alcalinos.

En este método el incremento de la producción se basa principalmente en la alteración de las características de la mojabilidad. Se ha demostrado que al favorecer la mojabilidad de la roca por agua mediante químicos, en un desplazamiento, se obtiene una mayor recuperación que la que resultaría si sólo se hubiera empleado el desplazamiento únicamente con agua. Los ácidos orgánicos que se presentan naturalmente en algunos aceites, reaccionan con el agua alcalina lo que da como resultado un tensoactivo en la interface aceite-agua. El tensoactivo que se forma provoca que la tensión interfacial entre

el petróleo y el agua disminuya. Por lo que bajo condiciones apropiadas de salinidad, pH y temperatura, la mojabilidad del medio poroso se vuelve más favorable para tener una mayor producción. Cuando el agua alcalina y el petróleo acidificado adecuados fluyen a través del medio poroso, se forma una emulsión aceite-agua cuyas propiedades generan un gradiente de presión altamente no-uniforme cerca del frente de emulsión. Dicho gradiente de presión tienen la capacidad de anular las fuerzas capilares y desplazar efectivamente el aceite de los poros.

En la Fig. 1.6 muestra un esquema general de un método de recuperación



1.8.4 MÉTODOS MISCIBLE E INMISCIBLE

La inyección miscible involucra la inyección de gas o disolvente que son miscibles con el petróleo. Como resultado, la tensión interfacial entre los dos fluidos (aceite y disolvente) es muy baja, y tiene lugar un eficiente desplazamiento microscópico. En años recientes se ha dado énfasis en la inyección gases no-hidrocarbonos como el dióxido de carbono, nitrógeno y gases de combustión. Aunque el nitrógeno y los gases de combustión no recuperan aceite tan bien como los gases de hidrocarburos (o líquidos), sin embargo económicamente puede ser en cierto modo más favorable. Después de la recuperación térmica, la inyección de miscibles es la que más contribuye entre varios métodos de recuperación mejorada del petróleo. Alrededor del 40% de la producción total de Recuperación mejorada del aceite es por inyección de gas miscible e inmisible

1.8.4.1 DESPLAZAMIENTO POR GAS ENRIQUECIDO

Se utiliza gas mezclado con propano o butano; conforme el gas enriquecido contacta al aceite, algunos de sus componentes se condensan en él, provocando un aumento de volumen, reduciendo la viscosidad. Bajo condiciones favorables de enriquecimiento de gas, el petróleo contactado se enriquece debido a la condensación de componentes hasta un punto en que se vuelve miscible con el gas inyectado. La inyección del gas restante desplaza esta zona miscible, que a la vez desplaza el petróleo que se encuentra a la cabeza del frente. Después de que se ha alcanzado la miscibilidad se puede usar gas seco como conductor. La formación de una zona miscible es importante para lograr una máxima eficiencia.

1.8.3.2. DESPLAZAMIENTO CON CO₂

El uso de CO₂ para mejorar la recuperación de petróleo después de la producción primaria, ha recibido considerable atención debido a sus resultados prometedores. La recuperación del petróleo se da mediante el aumento de volumen, la reducción de la viscosidad y el aumento de la densidad. Algunas de las ventajas asociadas con el uso de CO₂ es la remoción de bloqueos formados por emulsiones, el incremento de la permeabilidad de las formaciones carbonatadas, así mismo previene el hinchamiento de las arcillas y la precipitación de hidróxidos de aluminio y de hierro.

La alta solubilidad del CO₂ en el aceite causa que éste se expanda. Para los yacimientos que contienen metano, una menor cantidad de CO₂ se disuelve, causando así una expansión del petróleo menos pronunciada. Conforme el aceite del yacimiento se satura con CO₂ a altas presiones, se produce una reducción sustancial de la viscosidad del petróleo. Este efecto es más pronunciado en petróleos de altas viscosidades. El agua o la salmuera alojada en la formación es afectada también; dando como resultado una expansión que conlleva la reducción de la densidad del agua, esto significa que la densidad del agua y del petróleo son similares entre si, disminuyendo así los efectos de segregación gravitacional.

1.8.5 RECUPERACIÓN MEJORADA MICROBIANA.

Es un método de recuperación terciario o mejorada el cual utiliza microorganismos que pueden ser inyectados en el yacimiento o microorganismos que se encuentran presentes en el yacimiento, los cuales fueron manipulados en su función y/o estructura para incrementar la producción de petróleo como se mencionara mas detalladamente en el siguiente capítulo.

CAPÍTULO 2

IMPORTANCIA DE LA RECUPERACIÓN MEJORADA MICROBIANA

En general la recuperación mejorada microbiana también conocida como MEOR por sus siglas en inglés (Microbial Enhanced Oil Recovery) es una tecnología biológica basada en la alteración de la función, estructura o ambos, de entornos microbianos existentes en los yacimientos petroleros. El objetivo final de la recuperación microbiana es incrementar la recuperación del petróleo atrapado en el medio poroso y así aumentar los beneficios económicos. El fundamento de éste proceso es el crecimiento de microorganismos sobre la superficie de las rocas del yacimiento promoviendo así el desalojo del petróleo, ya sea directamente por desplazamiento físico o indirectamente mediante la producción de metabolitos gaseosos o surfactantes.

2.1 LA NECESIDAD DE LA RECUPERACIÓN MEJORADA MICROBIANA

La tecnología utilizada actualmente para la producción de petróleo, no ha avanzado más allá de la etapa en que la producción final del petróleo es sólo un tercio de la mitad del petróleo original en sitio. Así, el objetivo potencial para la recuperación mejorada de petróleo es producir una mayor cantidad de petróleo; que los métodos convencionales de recuperación mejorada, y aumentar las reservas. Yen (1986). Los esfuerzos para mejorar la eficiencia de la recuperación del petróleo a través de procesos químicos son marginalmente exitosos haciendo un pequeño incremento económico en la recuperación del crudo. La idea de utilizar microorganismos como un método de recuperación de petróleo fue realizado por Beckmann (1926), y ZoBell (1947).

Los cultivos microbianos son una excelente opción para ser implementados como un método de recuperación mejorada microbiana, debido a su capacidad de sintetizar una gran variedad de productos bioquímicos; desde componentes del petróleo crudo siempre y cuando se les provea con los nutrientes esenciales y debidas condiciones ambientales.

De hecho, poblaciones de varios tipos de microorganismos se han encontrado en yacimientos petroleros a una profundidad de 200 m. Petzel y Williams (1986). La teoría predominante acerca de cómo llegaron al yacimiento los microorganismos es principalmente que los microorganismos se introdujeron mediante la perforación, la terminación del pozo, los procedimientos y reparaciones de los pozos, o mediante inyección de agua durante un método de recuperación secundaria.

El hecho de que las poblaciones de microorganismos están presentes en formaciones porosas profundas es prueba positiva de que los yacimientos petroleros no son biológicamente estériles y ofrece estímulos positivos para algunas investigaciones fundamentales con objeto de descubrir los microorganismos, los procedimientos y la tecnología más apta que puede ayudar a incrementar la recuperación del petróleo.

La gama de productos metabólicos a partir de la degradación microbiana del petróleo es muy amplia dependiendo de las condiciones ambientales (presión, temperatura, salinidad, pH, y la presencia o ausencia de oxígeno), el apoyo de los nutrientes disponibles para el metabolismo celular (nitrógeno, fósforo, etc) y los microorganismos específicos que interactúan con el petróleo. En términos muy generales, los productos metabólicos pueden ser gases (metano, hidrógeno, dióxido de carbono, sulfuro de hidrógeno), ácidos carboxílicos (ácidos: fórmico, acético, valérico), disolventes (alcoholes, aldehídos, acetonas), polímeros (proteínas, polisacáridos), compuestos tensoactivos (lípidos poli-aniónicos) y muchos otros compuestos que van de simples a macromoléculas muy complejas. La estructura química de muchos de los polímeros de alto peso molecular producidas por los microorganismos no han sido aclaradas completamente debido a su diversidad y complejidad molecular. Se ha reanudo el interés en estos productos por su posible aplicación en la recuperación y procesamiento del petróleo, lo cual debería originar a su vez un mayor interés en la determinación de la estructura química y propiedades de los bioproductos microbianos.

En lo que respecta al petróleo, el estudio de los microorganismos y sus productos se realizan para:

1. Desarrollar productos que pueden mejorar la recuperación secundaria y terciaria.
2. Provocar la movilización de aceites pesados mediante la reducción de la viscosidad y la tensión interfacial.
3. Hacer posible la inyección de microorganismos en los yacimientos petroleros para evitar su contaminación.
4. Estudio de yacimientos petroleros mediante la ecología microbiana.

La aplicación práctica de cultivos microbianos en los yacimientos petroleros impone varias restricciones sobre los cultivos microbianos; debido a que los microorganismos deben ser capaces de migrar, o ser transportados, al fondo del yacimiento para cualquier aplicación *in-situ*. Además, deben ser capaces de multiplicarse en el medio ambiente del subsuelo y, por tanto, los nutrientes necesarios para el crecimiento que no están disponibles en un yacimiento petrolero, se deberán incluir en la inyección de agua.

La toxicidad microbiana en los metales pesados aumenta la temperatura y, ya que los metales pesados se presentan con frecuencia en las salmueras de los yacimientos, el aumento de la temperatura en el subsuelo ($25^{\circ}\text{C} + 18 \frac{^{\circ}\text{C}}{\text{Km de profundidad}}$) podría inhibir la eficacia en la aplicación *in-situ* de los cultivos microbianos. En consecuencia, los microorganismos destinados para uso en yacimientos petroleros se deben probar con los fluidos del yacimiento a las condiciones de presión y temperatura del yacimiento. Bubela (1983) también examinó los efectos en las condiciones ambientales de los yacimientos a causa de cultivos microbianos y observó un aumento de la toxicidad por cobre, y los cambios de la morfología de forma de vara a formas esféricas y cocoides, cuando son sometidos a 60°C y a una presión de 20,000 kPa. Si un cambio del metabolismo (que implica requerimientos de nutrientes y de productos metabólicos) acompaña el cambio de la morfología, los microorganismos que son aparentemente útiles para la recuperación mejorada del petróleo cuando se realizan pruebas a condiciones ambientales pueden llegar a ser inútiles a condiciones del yacimiento. Estos aspectos de la recuperación

microbiana no se han probado a fondo, pero pueden explicar algunos de los resultados negativos que se han reportado en pruebas de campo. Para apoyar esta información, Marquis (1983) informó que las altas presiones reducen la tasa de crecimiento de microorganismos a cualquier temperatura. Los microorganismos destinados a ser incorporados al yacimiento, deben ser probados a condiciones del yacimiento mediante un medio ambiente simulado, seleccionados los cultivos microbianos deben ser aislados a las condiciones del yacimiento. La mejor fuente de búsqueda de microorganismos útiles en la recuperación mejorada microbiana serían los yacimientos petroleros en sí. La ecología de los yacimientos petroleros no ha sido explorada a fondo, sin embargo, se sabe que poblaciones de bacterias aerobias crecen alrededor de los pozos de inyección, las bacterias anaerobias y facultativas han sido aisladas de yacimientos profundos. Grula y Sewell (1983) aislaron una bacteria facultativa y las muestras de salmuera procedentes de una profundidad de 1000 m. en el yacimiento petrolífero de Wilmington, Long Beach, California. El organismo facultativo es un bacilo Gram-negativo, móvil, no formador de esporas y produce un biopolímero viscoso. Esto mostró una peculiar relación sinérgica para el *Desulfivibrio* cuando crecen juntos. El *Desulfovibrio* mostró un crecimiento más rápido de lo normal y aumentó la producción de sulfuro de hidrógeno. Las consecuencias de este descubrimiento en la producción de petróleo no fueron buenas debido a que el aumento de la producción de sulfuro de hidrógeno puede dar lugar a una corrosión adicional y el biopolímero viscoso puede brindar protección contra los biocidas normales utilizados para controlar el *Desulfovibrio*. Aunque estos resultados no fueron prometedores, por lo que se refiere a una recuperación microbiana, el descubrimiento de un facultativo viable, bacteria productora de polímeros a cierta profundidad en un campo petrolífero es importante, debido a que implica que otras bacterias puedan residir en los yacimientos de petroleros y estas pueden tener un impacto favorable en la movilización del aceite residual.

Lazar (1983) aisló cultivos mixtos de bacterias de diversos lugares que se adaptaron después a condiciones de yacimiento. Las especies identificadas en la mezcla fueron: *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Arthrobacter*, *Mycobacterium*, *Micrococcus*, *Peptococcus*, *Bacillus* y *Clostridium*. Ellos encontraron que el cultivo mixto fue más eficiente en la recuperación de petróleo que las cepas puras. Siete campos de petróleo fueron inoculados, pero sólo dos de los yacimientos de petróleo respondieron favorablemente con el aumento de la producción de petróleo que oscila de 16% a 200%. El aumento de la producción de petróleo se realizó en dos campos petroleros, sin embargo, continuó por dos años. El fracaso de los otros campos petroleros se atribuyó a la alta salinidad y baja permeabilidad, por lo que como a menudo ocurre en los campos designados para la investigación, los campos eran muy pobres para elegir el campo piloto definitivo para la recuperación mejorada microbiana.

La idea de la producción *ex-situ* de bioproductos tensoactivos (surfactantes) a partir del crudo del yacimiento tratados con cultivos mixtos de bacterias aerobias para añadir posteriormente la inyección de agua, fue propuesta por Zhang y Quin (1983). Ellos han encontrado que la fermentación aeróbica del petróleo produce biosurfactantes que rápidamente forma una microemulsión con el petróleo y el agua, que tiene una viscosidad muy reducida en comparación con el petróleo. Cuando los productos de la fermentación se mezclan con el petróleo pesado tienen una viscosidad de 2500 centistokes, en una proporción de 1:1, la viscosidad de la mezcla resultante se sitúa entre 12 y 46 centistokes. Si la fermentación puede ser realizada en forma económica a gran escala y se aplica a un campo petrolero, especialmente a uno con una alta saturación y / o alta viscosidad, existe la posibilidad de un aumento bastante considerable en la producción de petróleo.

Los biosurfactantes exhiben una ventaja sobre la mayoría de los detergentes sintéticos, ya que no son tan sensibles a las sales disueltas que están presentes en las aguas de la mayoría de los campos petroleros. Hitzman (1983) revisó la literatura sobre las aplicaciones de campo de la recuperación mejorada de petróleo mediante microorganismos. Más de 200 pruebas de campo fueron dirigidas. Aunque en la mayoría

de los casos los pozos que fueron inoculados se encontraban en campos petroleros de muy baja calidad (heterogéneos, de baja porosidad y permeabilidad, y de baja saturación de aceite), muchos respondieron favorablemente al tratamiento microbiano. Como la experiencia fue adquirida en aplicaciones de campo, las técnicas se volvieron más complejas y avanzadas técnicamente. Los investigadores comenzaron con simples inoculaciones en pozos individuales sin tratamiento previo y avanzaron a inyecciones más complejas en zonas amortiguadoras de agua con baja salinidad, la inyección de diferentes nutrientes, el establecimiento de un período de fermentación para el crecimiento celular, etc. En algunos casos, los procedimientos eran simplemente limpiar a fondo un pozo, donde microorganismos como *Clostridium* son utilizados para construir una alta presión alrededor de la producción del pozo, la cual repentinamente se libera para desplazar los escombros del pozo. En otro caso, el objetivo era la estimulación a largo plazo de recuperación de petróleo de una gran parte del yacimiento. En el crecimiento microbiano *in-situ* al parecer dio lugar a cambios químicos y petrofísicos dentro del yacimiento resultando una positiva recuperación microbiana de petróleo. Los pocos éxitos en yacimientos petrolíferos que se han reportado implican que MEOR es potencialmente económica y factible, pero las fallas aún no se han comprendido completamente.

2.2 PARÁMETROS PARA EL DESARROLLO DE LA RECUPERACIÓN MEJORADA MICROBIANA.

Se estableció que para el desarrollo de microorganismos apropiados para la recuperación mejorada del petróleo, varios parámetros se deben conocer o determinar.

Estos son:

- Identificación taxonómica de los microorganismos autóctonos.
 - ❖ En un pozo productor.
 - ❖ En un pozo de baja producción.
 - ❖ En un pozo inactivo.

- Desarrollo de los medios adecuados de muestreo y análisis.
- Delimitar las vías metabólicas y los productos de los principales microorganismos candidatos.
- Definir los bioproductos deseados, bioactividades y las características físico estructurales de los microorganismos, es decir, el tamaño y la flexibilidad de la forma. Considerando los siguientes objetivos en términos de producción *ex-situ*, *on-situ* e *in-situ*:
 - ❖ Biopolímeros
 - ✓ Los polisacáridos
 - ✓ Lipopolisacáridos
 - ✓ Otros
 - ❖ Biosurfactantes
 - ❖ Hidrocarburos incluidos el metano
 - ❖ CO₂
 - ❖ Ácidos (H₂SO₄, HCl, orgánicos)

Se ha mencionado el término de microorganismos como la materia prima para que la recuperación microbiana se lleve a cabo; sin embargo hay que aclarar que existen tres principales grupos de microorganismos:

- Los procariontes, como las bacterias.
- Los eucariotes, como los protozoos, algas y hongos.
- Así como los virus.

Sin embargo, los únicos microorganismos empleados en la recuperación mejorada microbiana del petróleo son las bacterias, debido principalmente a que estos microorganismos cuentan con los requerimientos necesarios para ser inyectados en los yacimientos, los cuales se describirán a continuación.

2.3 PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DE LAS BACTERIAS.

Las bacterias son un organismo de una sola célula, pertenecen al reino monera y son unicelulares. Su forma puede ser en forma de vara o bastón, esférica, espiral, etc. (Fig. 2.1). Pueden existir como organismos individuales, formando cadenas, pares o grupos. Las bacterias son una de las formas de vida más abundantes en la tierra. Tienen una longitud entre 0.4 y 14 μm y sobre 0.2 a 12 μm de ancho y son capaces de penetrar rocas consolidadas que suelen tener poros del tamaño de 100 micras. Consecuentemente sólo se pueden ver mediante microscopio. Algunas bacterias tienen flagelos los cuales las ayudan a desplazarse dentro de un ambiente acuático; las bacterias que no son móviles son transportadas por el movimiento del fluido. Algunas otras forman esporas. Estas esporas se caracterizan por presentar una capa protectora resistente al calor y que protege la bacteria de la falta de humedad y comida.

Las bacterias se reproducen mediante la multiplicación del ADN, y la división de una célula en dos células independientes. En circunstancias normales este proceso dura entre 30 y 60 minutos. Las bacterias se pueden clasificar de la siguiente manera:

2.4 CLASIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS.

Por su forma:

La forma de las bacterias es muy variada y, a menudo, una misma especie adopta distintos tipos morfológicos, lo que se conoce como pleomorfismo. De todas formas, podemos distinguir tres tipos fundamentales de bacterias:

- Cocco (del griego kókkos, grano): de forma esférica.
 - ❖ Diplococco: cocos en grupos de dos.
 - ❖ Tetracocco: cocos en grupos de cuatro.
 - ❖ Estreptococco: cocos en cadenas.
 - ❖ Estafilococco: cocos en agrupaciones irregulares o en racimo.
- Bacilo (del latín baculus, varilla): en forma de bastoncillo.

- Formas helicoidales:
 - ❖ Vibrio: ligeramente curvados y en forma de coma, judía o cacahuete.
 - ❖ Espirilo: en forma helicoidal rígida o en forma de tirabuzón.
 - ❖ Espiroqueta: en forma de tirabuzón (helicoidal flexible).

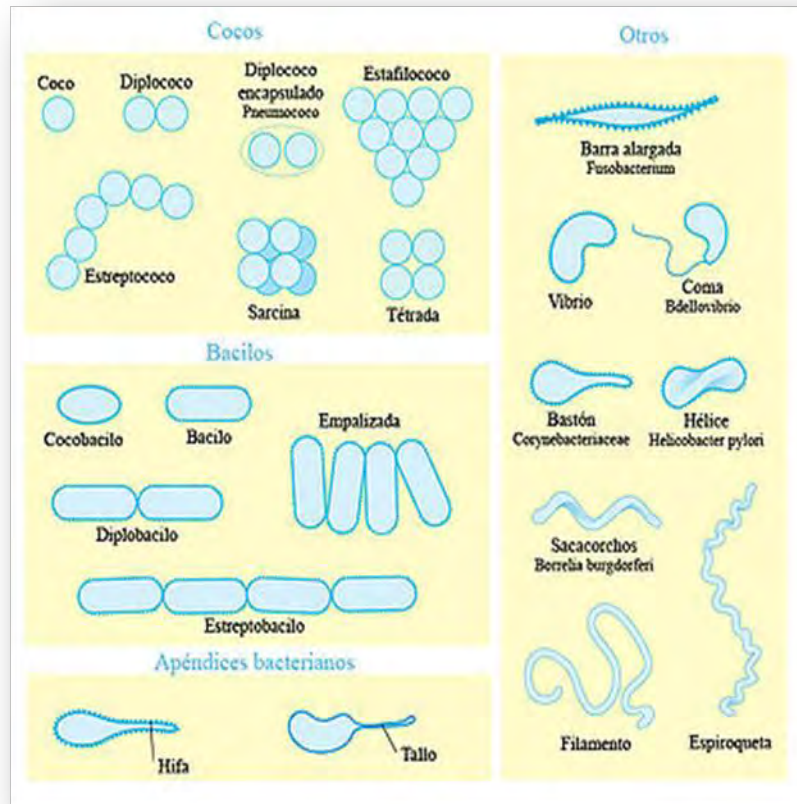


Fig. 2.1. Ilustra las diferentes clases de microorganismos.

Por su requerimiento de oxígeno:

Otro aspecto a tener en cuenta en la clasificación de bacterias es la necesidad de oxígeno que estas requieren, para poder sobrevivir.

- ❖ **Aerobias estrictas:** Dependen de O_2 para su crecimiento.
- ❖ **Anaerobias estrictas:** se desarrollan en ausencia total de O_2 , utilizan aceptores finales distintos del O_2 , CO_2 , H_2 y N_2 , o poseen metabolismos estrictamente fermentativos.

- ❖ **Anaerobias Facultativas:** pueden desarrollarse en presencia o ausencia de O₂, aunque predominan en medios anaeróbicos.
- ❖ **Microaerófilas:** sólo se pueden desarrollar en presencia de bajas tensiones de O₂ (menor del 12% en lugar del 20% que es la atmosférica) y altas tensiones de CO₂.

Por su temperatura óptima:

Según la temperatura óptima de crecimiento las bacterias se clasifican en:

- ❖ **Termófilas:** se desarrollan entre 25 y 80°C, óptima 50 y 60°C.
- ❖ **Mesófilas:** se desarrollan entre 10 y 45°C, óptima 20 y 40°C
- ❖ **Psicrófilas:** se desarrollan entre -5 y 30°C, óptima 10 y 20°C.

Según el pH en que se desarrollan:

Las bacterias se clasifican en:

- ❖ **Acidófilas:** Se desarrollan a pH entre 1.0 y 5.0
- ❖ **Neutrófilas:** Se desarrollan a pH entre 5.5 y 8.5
- ❖ **Basófilas:** Se desarrollan a pH entre 9.0 y 10.0

Por su forma de nutrición:

Según su metabolismo interno, las bacterias presentan diversos requerimientos nutricionales y se clasifican en:

- ❖ **Autótrofas quimiosintéticas o fotosintéticas.** Las autótrofas fotosintéticas utilizan la luz del sol y el bióxido de carbono para fabricar su alimento. Las autótrofas quimiosintéticas utilizan compuestos inorgánicos, por ejemplo, el azufre para fabricar su alimento y su fuente de energía es el CO₂
- ❖ **Heterótrofas** (por absorción) pueden utilizar fuente de carbono orgánico para su alimentación

Por lo anterior, se concluyó que las bacterias son los únicos microorganismos aptos en la recuperación mejorada microbiana, debido a que poseen varias propiedades importantes: tamaño pequeño, una tasa de crecimiento exponencial cuando son alimentadas con los nutrientes adecuados, la producción de compuestos metabólicos, tales como gases, ácidos, solventes de bajo peso molecular, surfactantes y polímeros. Varios tipos de bacterias también toleran ambientes adversos similares a los encontrados en el subsuelo formaciones geológicas, como la alta salinidad, alta presión y alta temperatura.

2.5 CRECIMIENTO BACTERIANO.

El crecimiento bacteriano sigue tres fases. Cuando una población bacteriana se encuentra en un nuevo ambiente con elevada concentración de nutrientes que le permiten crecer necesita un período de adaptación a dicho ambiente. Esta primera fase se denomina fase de adaptación y conlleva un lento crecimiento, donde las bacterias se preparan para comenzar un rápido crecimiento. La segunda fase de crecimiento se denomina fase exponencial, ya que se caracteriza por el crecimiento exponencial de las células. La velocidad de crecimiento durante esta fase se conoce como la tasa de crecimiento k y el tiempo que tarda cada célula en dividirse como el tiempo de generación g . Durante esta fase, los nutrientes son metabolizados a la máxima velocidad posible, hasta que dichos nutrientes se agoten, dando paso a la siguiente fase. La última fase de crecimiento se denomina fase estacionaria y se produce como consecuencia del agotamiento de los nutrientes en el medio. En esta fase las células reducen drásticamente su actividad metabólica y comienzan a utilizar como fuente energética aquellas proteínas celulares no esenciales. La fase estacionaria es un período de transición desde el rápido crecimiento a un estado de respuesta a estrés, en el cual se activa la expresión de genes involucrados en la reparación del ADN, en el metabolismo antioxidante y en el transporte de nutrientes.

2.6 CARACTERÍSTICAS DESEABLES DE LOS CULTIVOS

Los microorganismos como se ha mencionó anteriormente son utilizados para diferentes procesos en la recuperación de petróleo por lo que los siguientes puntos representa las características que son convenientes considerar, por separado o en combinación para determinar el microorganismo que se utilizará en diversos aspectos de la recuperación mejorada del petróleo:

- Debe causar la reducción de la viscosidad del aceite, ya sea por el consumo de los componentes de alta viscosidad o por la generación de gases y / o degradación de productos de bajo peso molecular.
- Debe de producir ácidos orgánicos o minerales para ampliar las dimensiones de los poros y, tal vez, proveer significativamente el empuje de dióxido de carbono resultante de la disolución de las matrices de carbonato.
- Debe ser capaz de utilizarse en receptores de electrones *in-situ* en lugar de oxígeno molecular como un estímulo a la actividad metabólica en condiciones de baja tensión de oxígeno.
- Debe tener un incremento en las propiedades genéticamente introducidos para facilitar la penetración de la matriz favoreciendo la distribución más uniforme de campo:
 - ❖ Tamaño (0.25 μ o menos).
 - ❖ Movilidad.
 - ❖ Flexibilidad.
 - ❖ Distribución de carga.
- Debe de tener alta temperatura.
- Debe de tener un pH resistente.

- Debe de ser halotolerante.
- Debe de ser ecológicamente aceptable (compatible); no patógenos, no destructivo de los factores ambientales naturales.
- Debe de producir productos tensioactivos.
- Debe de tener una estabilidad genética en relación con las características deseables.
- Debe de ser fácil de producir y controlar.

2.7 HISTORIA DE LA RECUPERACIÓN MEJORADA MICROBIANA

Se considera que fue Beckman (1926) el primero en proponer la recuperación mejorada microbiana en 1926, pero esta no fue sino hasta los años 40's cuando los investigadores ZoBell y Russian dieron importantes consideraciones para la recuperación microbiana.

ZoBell (1946) fue el primero en patentar la implementación de la inyección de microorganismos como lo es el *Desulfovibrio Hydrocarbonoclasticus* el cual era mezclado junto con compuestos de óxido de azufre y una fuente de carbono; como la lactosa, sin embargo no se tienen pruebas que indiquen la realización de pruebas de campo.

Updegraff y Wren (1953) patentaron un método de recuperación microbiana implicando la inyección de una especie de *Desulfovibrio*, una bacteria simbiote mezclada con la melaza de la formación. Al igual que con ZoBell una vez más no se tiene información acerca de pruebas de campo realizadas.

Aunque algunos microorganismos pueden crecer en el aceite, se debe mencionar que durante los primeros años de aplicación de la recuperación mejorada microbiana, no se demostró que los microorganismos tenían en realidad la capacidad de metabolizar los hidrocarburos anaerobicamente, y prácticamente nada se sabía acerca de la microbiología en las formaciones de petróleo. En realidad, no fue hasta hace poco que las microorganismos han demostrado que tienen la capacidad de metabolizar anaerobicamente los hidrocarburos.

Los microorganismos tienen la capacidad de mejorar la recuperación del petróleo en base de algunos de los productos que pueden producir. Por ejemplo, las bacterias pueden producir ácidos a partir del petróleo y otros compuestos orgánicos que disuelven los carbonatos, lo que aumenta la permeabilidad, como se muestra en la **Fig. 2.2**.



Fig. 2.2. Ejemplo de disolución de carbonatos por el uso de microorganismos.
Tomado de Brown (2010)

También tienen la capacidad de producir gases que aumentan la presión en el yacimiento y disminuyen la viscosidad del aceite mediante la disolución en el mismo. Los biosurfactantes, los emulsificantes y los solventes disminuyen la viscosidad del crudo por lo que es más fácil de producir (**Fig. 2.3**), o ellos pueden producir biopolímeros los cuales aumentan la viscosidad del agua en las operaciones de inyección de agua, haciendo la operación más eficaz. Al aumentar en número, las bacterias conectarán selectivamente a la formación y alterarán el perfil de inyección de agua.



Fig. 2.3. Representación de un núcleo antes y después de ser tratado con microorganismos.
Tomado de Brown (2010)

Por lo tanto, la cuestión no es si los microorganismos pueden mejorar la recuperación de crudo, sino más bien cómo emplear éstos de forma económicamente práctica.

La mayoría de los procesos de recuperación microbiana, en particular al principio del procedimiento, involucra la inyección de microorganismos en el yacimiento. Desafortunadamente, algunos operadores han tenido malas experiencias durante las operaciones de inyección de agua normal porque los microorganismos han provocado taponamiento en los pozos o ellos han contribuido a problemas de corrosión mediante la producción de sulfuro de hidrógeno. Curiosamente, Beck (1947), O'Bryan y Ling (1949), sufrieron algunos taponamientos por la inyección de microorganismos en sus estudios de laboratorio. Se concluyó mediante un análisis de este comportamiento que las microorganismos por si solos no provocan taponamientos, sino que lo hacen en conjunto con los subproductos de su metabolismo, como el hidróxido férrico, el cual provoca el taponamiento. Updegraff D. (1983).

Es evidente que los microorganismos inyectados tienen dificultades para penetrar en la formación que contiene petróleo. Esto llevó a Hitzman, a proponer el uso de esporas en lugar de las células vegetativas debido a su tamaño más pequeño. Aun así, las esporas también crean problemas de taponamiento y Lapin-Scott propuso utilizar ultramicrobacterias (UMB) que tienen un diámetro inferior a 0.3 μm . Jack (1991), calculó que los microorganismos que se inyectan en las arenas donde está el petróleo necesitan ser pequeños y esféricos y menores del 20% del tamaño de la garganta de poro en la formación. Incluso si los microorganismos inyectados cumplen el criterio de tamaño, ellos no pueden ser metabólicamente productores de gases, polímeros o limo de cualquier tipo, en el momento de la inyección, ya que ello inhibiría la penetración a través de la formación. De acuerdo con Davis y Updegraff (1954), el diámetro del poro en la entrada debe ser por lo menos dos veces el diámetro de las células microbianas que se inyectan, de lo contrario se producirán serios taponamientos.

Pero existe el riesgo de que los microorganismos inyectados por sí mismos puedan causar taponamientos en el yacimiento; para evitar que esto ocurra, Chang y Yen (1984), sugirieron utilizar una cepa de bacterias lisogénicas. Ellos afirman que "Puede ser posible utilizar bacterias portadoras de fago latente inducible, lo que podría provocar la reducción de un nivel de sustrato específico, la presencia de una cierta densidad celular, la concentración de subproductos o la aplicación de algún agente de recuperación de petróleo."

Según Yen (1990), una gran variedad de productos químicos se han propuesto para evitar la actividad bacteriana en las formaciones petrolíferas y Hitzman (1959), incluso, patentó el concepto de la adición de un biocida en una inyección de agua para eliminar o inhibir bacterias reductoras de sulfato debido a del sulfuro de hidrógeno que producen. En lo que respecta a una recuperación microbiana, una sugerencia es utilizar una bacteria resistente a los biocidas empleados. Sin embargo, la investigación sobre la recuperación microbiana continuaron y en 1990 se había producido 133 patentes en los EE.UU. se emitieron un mayor número de patentes en otros países. Para el año 2003 más de 400 pruebas de

campo habían sido llevadas a cabo en los EE.UU., además de otras realizadas en otros países.

Y en la mayoría de los casos, los microorganismos seleccionados para su uso en la recuperación microbiana tuvieron que tener una temperatura máxima de crecimiento por debajo del 80 °C hasta que se descubrió que algunos microorganismos en realidad podrían crecer a temperaturas de hasta 121°C. Kashefi (2003.). En este sentido se ha demostrado que los microorganismos viables presentes en formaciones con crudo pueden sobrevivir a una temperatura de 118-124°C (**Fig. 2.4**).

Hay incluso una patente sobre la forma de producir nuevos microorganismos modificados adecuados para su uso en la recuperación microbiana que sean viables a temperaturas extremas, presión, pH y salinidad (Premuzic 1996.).

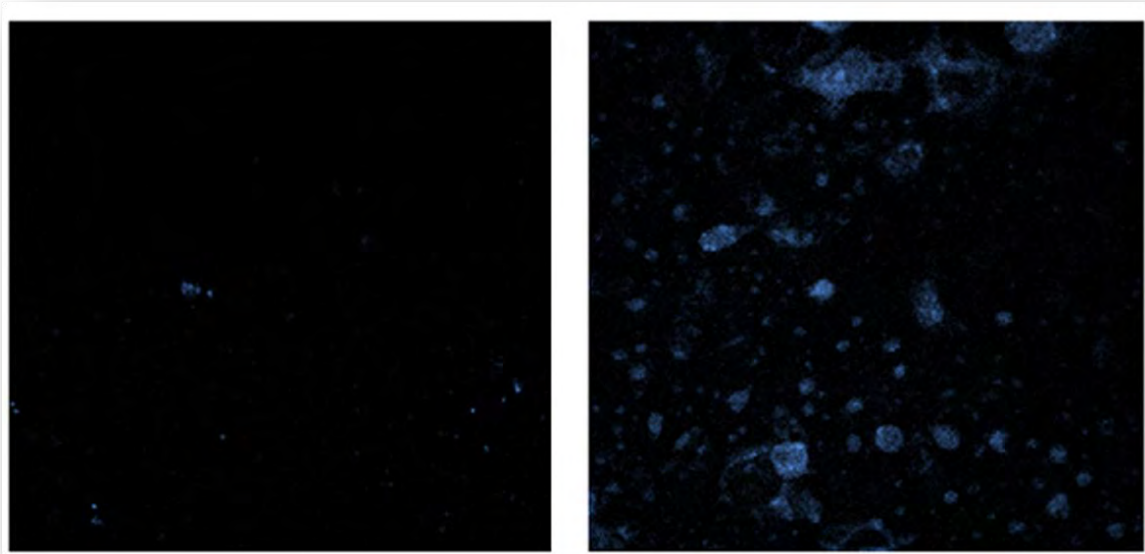


Fig. 2.4. Imágenes que muestran que algunos microorganismos pueden soportar altas temperaturas.
Tomado de Brown (2010).

La mayoría de la literatura a cerca de la recuperación mejorada microbiana se basa en datos de laboratorio por lo que es difícil; si no totalmente imposible, extrapolar los resultados de laboratorio para predecir el comportamiento en el campo o para predecir lo que sucederá en un nuevo campo basado en los resultados de otro campo debido a la heterogeneidad del yacimiento. Es lógico que la inyección de microorganismos en el yacimiento sólo pueda penetrar un poco más allá del agujero del pozo, a menos por supuesto, de que haya grietas en la formación.

Por consiguiente, la importancia de la recuperación mejorada microbiana se determinó a partir de los resultados de las pruebas de campo. Por ejemplo, Davis (1967) resumió los resultados de los ensayos del primer campo y Lazar (1991) informó sobre casi 30 pruebas de campo de recuperación microbiana llevados a cabo entre 1956 y 1991; incluso más recientemente, Maudgalya (2007) evaluó las pruebas de campo realizados durante los últimos 50 años. Sin embargo, la mayoría de las pruebas realizada, se referían a la reparación del agujero del pozo o daños a la formación y no se considera como recuperación mejorada microbiana. En general, los autores señalan que algunas de las pruebas explican la mecánica de la recuperación del petróleo o se presentan los análisis post-tratamiento con los resultados calculados.

Desafortunadamente, en muchos casos la eficacia de las pruebas de campo se basó en prueba de núcleos en el laboratorio y no han demostrado ser totalmente fiables. Por otra parte, a veces la interpretación microbiana en el laboratorio no es lo misma que en el campo y experimentos de laboratorio como consecuencia no puede predecir el resultado esperado en el campo. Esta es otra razón por la recuperación mejorada microbiana no ha sido aceptada por la industria petrolera. Además, muchas de las pruebas con éxito solo eran pequeñas y la mayoría de las pruebas con actividad microbiana se produjeron en la zona inmediata adyacente al agujero del pozo por lo que no es claro si los resultados son estimulación de pozos, o se trata del proceso terciario de recuperación de petróleo recuperación mejorada microbiana. Moses (1991), señaló que la mayoría de las pruebas de campo no fueron seguidas durante un tiempo lo suficientemente largo para determinar

los efectos a largo plazo. También señaló que se requiere bastante experiencia y dinero suficiente para una prueba de campo satisfactoria.

Una prueba de campo fue financiada por el Departamento de Energía de los Estados Unidos Americanos (DOE por sus siglas en inglés), bajo la dirección de un vicepresidente de una compañía petrolera independiente. En el campo (North Creek Blowhorn Unidad, situada en Lamar Co., AL) había 20 pozos de inyección y 32 pozos productores y el proceso de MEOR implica la adición de KNO_3 y NaH_2PO_4 a la inyección de agua. En 2001, el DOE informó de que el proyecto había añadido reservas de 400.000-600.000 barriles diarios, disminuyó la tasa de disminución del 18.9% anual al 7.1% anual y amplió la vida económica del campo por 5-11 años.

La evidencia de la proliferación de microorganismos en la formación se muestra en la **Fig 2.5**.

Mientras que la inyección de nutrientes se detuvo en enero de 2002, el campo continuaba produciendo durante el 2009, a pesar de que estaba programado para ser abandonado en 1998.

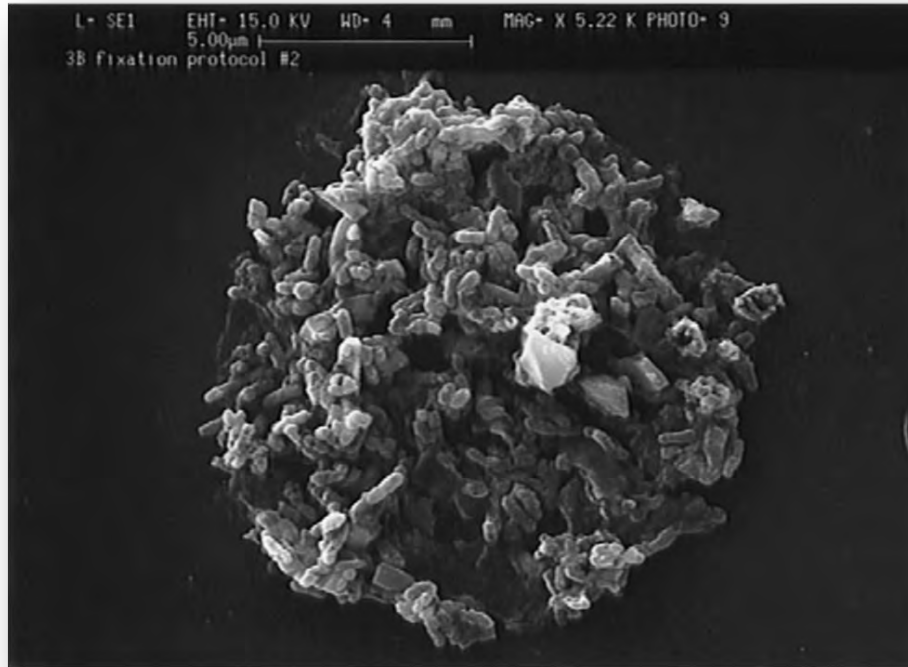


Fig. 2.5. Ilustra la proliferación de microorganismos en una sección de un núcleo.
Tomado de Brown (2010)

Anteriormente se ha mencionado, constantemente que los microorganismos que son inyectados a los yacimientos petroleros tienen diferentes mecanismos de operación para un sólo objetivo el de aumentar la recuperación de petróleo a través de:

1. La generación de gases, los cuales incrementan la presión del yacimiento y reducen la viscosidad.
2. La generación de ácidos que disuelven la roca, mejorando así la permeabilidad.
3. La alteración de la mojabilidad.
4. La producción de bio-surfactantes que disminuyen la tensión interfacial y superficial.
5. La reducir de la viscosidad mediante la degradación de las cadenas largas de los hidrocarburos.

Todos estos mecanismos serán tratados en el siguiente capítulo, no sin antes mencionar los distintos tipos de recuperación mejorada microbiana.

CAPÍTULO 3

CLASIFICACIÓN Y MECANISMOS DE RECUPERACIÓN MEJORADA MICROBIANA

3.1. CLASIFICACIÓN DE LA RECUPERACIÓN MEJORADA MICROBIANA

La recuperación mejorada microbiana se clasifica principalmente como recuperación mejorada microbiana superficial o recuperación microbiana subterránea esto en base al lugar donde los microorganismos trabajan.

Para la recuperación microbiana superficial, los biosurfactantes, los biopolímeros y enzimas son fácilmente producidas en las instalaciones superficiales.

Estos productos biológicos son inyectados dentro del sitio previsto en el yacimiento como un método químico de recuperación mejorada. Mientras que, para la recuperación mejorada subterránea, los microorganismos, los nutrientes y/o aditivos son inyectados dentro del yacimiento y esta permite a los microorganismos mantenerse, crecer, metabolizar y fermentarse bajo tierra.

La recuperación microbiana subterránea se clasifica dentro de la recuperación microbiana *in-situ* y recuperación microbiana autóctona. Ahora bien dependiendo del procedimiento del proceso la recuperación microbiana subterránea se clasifica como:

- Recuperación microbiana cíclica.
- Recuperación microbiana mediante la inyección de agua adicionada con microorganismos

3.1.1. RECUPERACIÓN MICROBIANA CÍCLICA

La recuperación mejorada microbiana cíclica es muy parecida a la inyección cíclica de vapor. En esta, al principio, existe un periodo de inyección el cual dura algunas horas, en este periodo de inyección se introducen al yacimiento los microorganismos y sus nutrientes dentro del pozo productor. Después el o los pozos son cerrados durante un

periodo bastante grande para permitir el crecimiento microbiano y la formación de sus productos.

Este periodo de incubación puede durar de días a semanas. Por último, comienza la etapa de producción del petróleo, la cual puede prolongarse durante un periodo que va de semanas a meses (Fig. 3.1). Cuando la producción de petróleo declina, otra etapa de inyección sera iniciada. El objetivo de la recuperación mejorada microbiana cíclica es alterar la mojabilidad de la roca más cercana al pozo para aumentar así los gastos de producción. La recuperación mejorada microbiana cíclica posiblemente no incrementará la cantidad de petróleo que puede ser recuperado del yacimiento; pero incrementará el flujo del petróleo, lo cual será un beneficio positivo en la producción de petróleo.

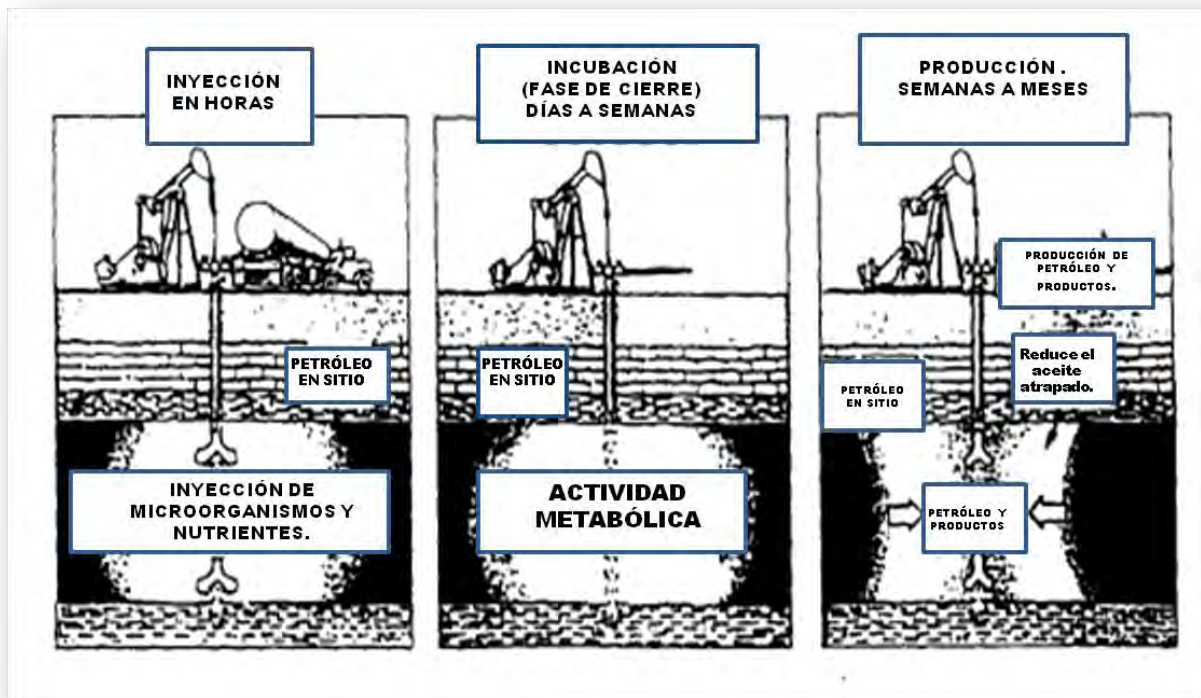


Fig. 3.1. Recuperación microbiana cíclica. Tomado de Xiangsheng Zhang (2010).

3.1.2. RECUPERACIÓN MICROBIANA MEDIANTE LA INYECCIÓN DE AGUA ADICIONADA CON MICROORGANISMOS

La recuperación mejorada microbiana mediante la inyección de agua, es parecida a la inyección convencional, la diferencia es que el agua que se va inyectar al yacimiento va adicionada con los nutrientes adecuados para la estimulación del crecimiento de los microorganismos autóctonos del yacimiento. Si la actividad microbiana requerida no se presentara, entonces se prodrán inyectar microorganismos en el yacimiento junto con los nutrientes. En algunos casos la inyección es detenida para permitir que ocurra el crecimiento *in-situ* y el metabolismo de los microorganismos; pero en otros casos se continúa inyectando salmuera después de la inyección de los microorganismos y/o nutrientes. El objetivo de la recuperación mejorada microbiana mediante la inyección de agua es el de alterar las propiedades del aceite y/o los patrones de flujo dentro del yacimiento para movilizar el petróleo atrapado, incrementando la recuperación de petróleo del yacimiento.

La siguiente figura representa esta tecnología (**Fig 3.2**).

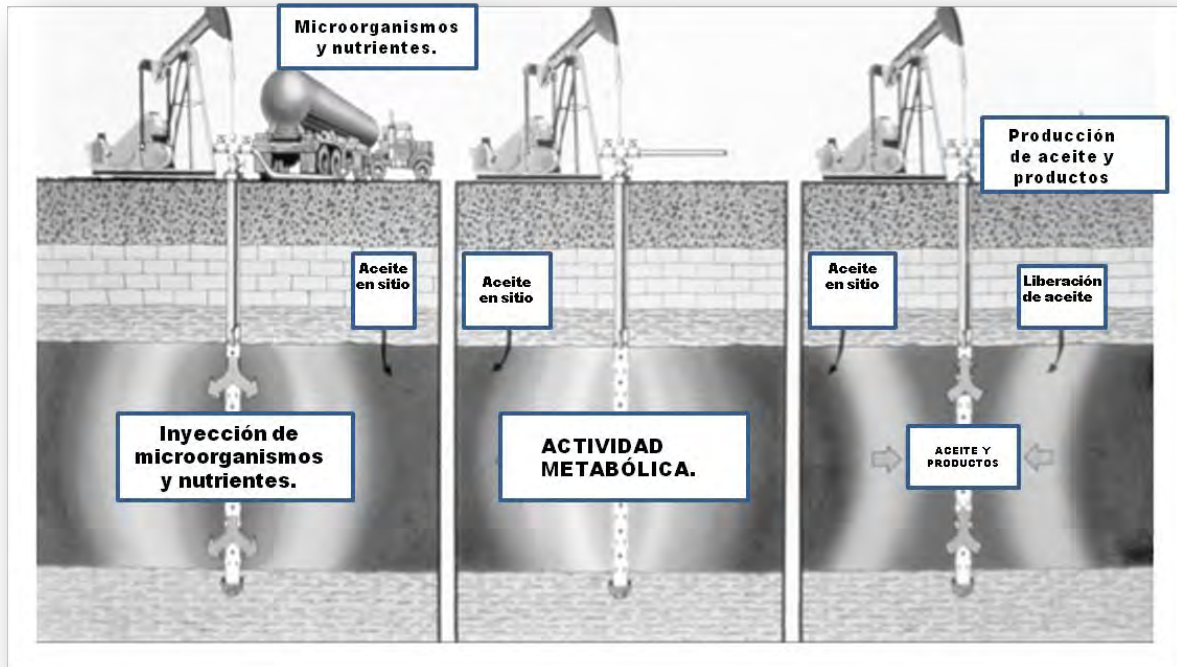


Fig. 3.2. Recuperación microbiana mediante inyección de agua adicionada con microorganismos.
Tomada de Xiangsheng Zhang (2010)

El crecimiento microbiano puede ser en el yacimiento (*in situ*) o en la superficie donde los subproductos de los microbios crecen en tanques, son removidos selectivamente del medio de los nutrientes, y luego se inyectan en yacimiento.

La consideración principal de MEOR es cuanto aceite adicional se puede producir en el yacimiento mediante la estimulación del crecimiento de bacterias autóctonas o inyectadas. Esto se logra mediante la inyección de agua adicionada con nutrientes.

Cuando ciertos tipos de microorganismos se estimulan en pruebas de núcleo del laboratorio, mejoraron la producción de petróleo mediante la movilización de aceite residual atrapado en el espacio poroso.

Esto probablemente porque los microorganismos inducen cambios en la tensión interfacial (IFT) entre el aceite y el agua, y posiblemente también debido a que causan un cambio en las propiedades humectantes.

3.2. MECANISMOS DE LA RECUPERACIÓN MICROBIANA

La recuperación mejorada microbiana se produce mediante la estimulación de microorganismos autóctonos o inyección de microorganismos en el yacimiento; sin embargo, los microorganismos tienen diversas aplicaciones en la recuperación mejorada microbiana como son:

1. La generación de gases, los cuales incrementan la presión del yacimiento y reducen la viscosidad.
2. La generación de solventes, los cuales alteran la mojabilidad de la roca y disminuye la viscosidad del petróleo.
3. La generación de ácidos que disuelven la roca, mejorando así la permeabilidad.
4. La producción de bio-surfactantes que disminuyen la tensión interfacial y superficial.
5. La conexión selectiva, la cual implica la generación de biomasa y biopolímeros los cuales modificaran el flujo de fluidos mediante la modificación de la permeabilidad.
6. La reducción de la viscosidad mediante la degradación del petróleo.

Tabla 3.1. Consorcios y productos microbianos aplicados en la recuperación microbiana.

Consortios de microorganismos	Producto Microbiano	Consiste en
<i>Bacillus, Leuconostoc, Xanthomonas</i>	Biomasa	Una conexión selectiva y alteración de la mojabilidad
<i>Acinetobacter, Arthrobacter, Bacillus, Pseudomonas</i>	Surfactantes	Crear una emulsificación y desemulsificación a través de la reducción de la tensión interfacial
<i>Bacillus, Brevibacterium, Leuconostoc, Xanthomonas</i>	Polímeros	Modificar el perfil de inyección y viscosidad y la conexión selectiva
<i>Clostridium, Zymomonas, Klebsiella</i>	Solventes	Disolución de la roca para una mejor permeabilidad y reduce la viscosidad del petróleo
<i>Clostridium, Enterobacter, Mixed acidogens</i>	Ácidos	Incrementar la permeabilidad y crea emulsificaciones
<i>Clostridium, Enterobacter Methanobacterium</i>	Gases	Incrementar la presión, barrer el petróleo y reducir la viscosidad y la tensión interfacial.

(Tomado de Ramkrishna Sen, 2006)

3.2.1. GENERACIÓN DE GAS Y PRODUCCIÓN DE SOLVENTES

La producción de gases y solventes, se llevan a cabo principalmente por cepas microbianas de Clostridia, estos gases, han sido ampliamente utilizados para la producción de solventes comerciales durante los últimos cincuenta años. Estos microorganismos anaerobios producen hidrógeno (H_2), dióxido de carbono (CO_2), acético, y butírico, después de un proceso de fermentación existe un cambio en el metabolismo de los microorganismos el cual modifica la producción de solventes; debido a este cambio los solventes producidos serán acetona, butanol, etanol, isopropanol, y otros solventes en menor cantidad. Estos productos metabólicos se disuelven en el aceite lo que resulta en la disminución de la viscosidad. Los alcoholes también actúan como co-surfactantes y trabajan sinérgicamente con los tensioactivos para reducir la tensión superficial e interfacial y movilizar el aceite atrapado.

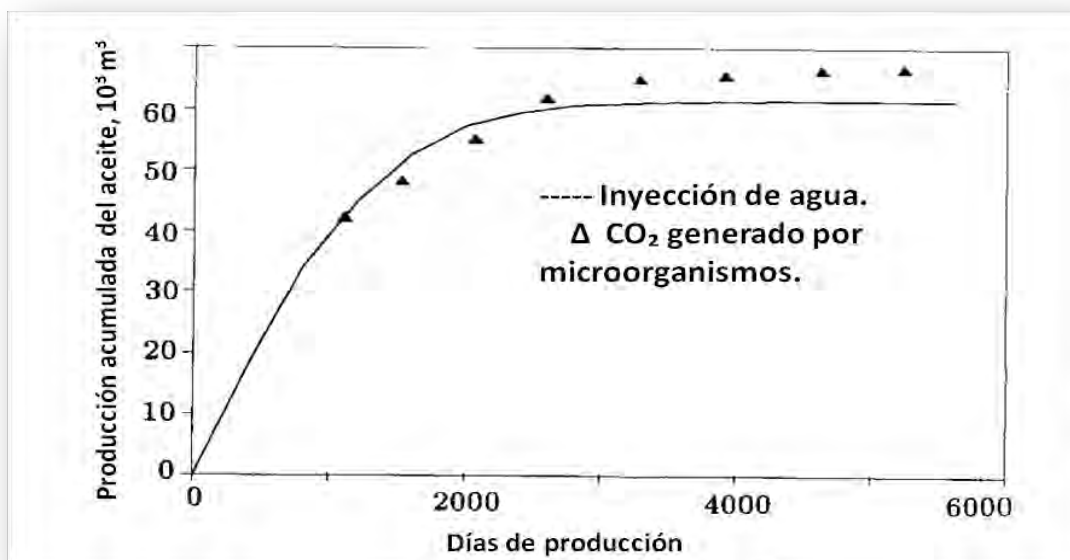


Fig. 3.3. Comparación de la producción CO_2 generado por microorganismos vs. Inyección de agua. Tomado de Chilingarian and Islam (1995).

Este mecanismo de liberación del petróleo mediante la reducción de la viscosidad y la reducción de la tensión interfacial ha sido demostrado por medio de las técnicas de recuperación mejorada del petróleo mediante el desplazamiento de miscibles, lo que implica la inyección de solventes como alcoholes, hidrocarburos refinados, hidrocarburos condensados, gases licuados de petróleo o dióxido de carbono (CO₂). Los solventes inyectados o gases que se disuelven en el yacimiento y reducen las fuerzas capilares que contribuyen a la retención de aceite.

Además de reducir la viscosidad del aceite, los microorganismos aumentan la presión en el yacimiento mediante los gases productores (H₂, CO₂, N₂, CH₄) en los espacios porosos que habrían sido evitados normalmente en las operaciones de inyección de gas.

Tabla 3.2. Solventes, ácidos y gases producidos por microorganismos y su mecanismo de operación en MEOR.

Solventes, ácidos y gases	Mecanismos de operación	Referencia
Acetona y butanol (<i>Clostridium, Zymomonas, Klebsiella</i>)	Aumenta la permeabilidad mediante la disolución de la roca carbonatada y reduce la viscosidad.	ZoBell (1997) Khire and Khan (1994)
Ácidos PROPIONIC AND BUTYRIC (<i>Clostridium, Enterobacter, mixed acidogens</i>)	Incrementa la permeabilidad y degree of emulsification.	Nazina <i>et al.</i> (2003) Kalish <i>et al.</i> (1964)
Metano e hidrógeno (<i>Clostridium, Enterobacter, Methanobacterium</i>)	Re- presiona la roca, barre el petróleo, disminuye la tensión interfacial y la viscosidad del petróleo.	Kalish <i>et al.</i> (1964) Fratesi (2002)

(Tomado de Ramkrishna Sen, 2006)

3.2.2. PRODUCCIÓN DE ÁCIDOS Y BIOSURFACTANTES.

Determinados microorganismos se especializan en la producción de biosurfactantes que reducen la tensión interfacial agua-aceite (IFT) y provocan la formación de emulsiones estables de aceite y agua. Además, estos tensioactivos o surfactantes aumentan la permeabilidad relativa del yacimiento, mediante la alteración de la mojabilidad del yacimiento a una condición más mojado por agua. Investigaciones han demostrado que algunos *Bacillus sp.*, y *Clostridium sp.*, son capaces de alterar la mojabilidad de los núcleos a una condición más mojado por agua.

Los microorganismos también producen ácidos, principalmente ácidos grasos de bajo peso molecular, los cuales, provocan la disolución de la roca y disminuyen la tensión interfacial entre el aceite y la salmuera del yacimiento.

La producción *in-situ* de ácidos a través de los microorganismos puede ser utilizada para tratar diversos problemas de producción, tales como daño de formación, la baja permeabilidad relativa del petróleo, el petróleo atrapado por las fuerzas capilares, la formación de parafinas y problemas de escalamiento.

Zhang and Quin (1983) encontraron que los líquidos producidos durante la fermentación aeróbica del petróleo fueron capaces de formar microemulsiones estables de petróleo y agua en crudos viscosos.

El uso de los biosurfactantes en la recuperación mejorada de petróleo tanto para crudo ligero como pesado fue evaluado por Olsen y Janshekar (1985). El biosurfactante rhamnolipid, producido por una *Pseudomonas Aeruginosa*, se comporto igual a un sulfonato de petróleo para la recuperación de crudos ligeros y pesados.

Tabla 3.3. Algunos surfactantes microbianos potenciales en MEOR

Fuente microbiana y Biosurfactantes	Referencia
Fuente: <i>Bacillus sp.</i> <i>Surfactin</i>	Schaller <i>et al.</i> (29004)
<i>Rhamnolipid</i>	Banat (1995)
<i>Lichenysin</i>	Jenneman <i>et al.</i> (1983) McInerney <i>et al.</i> (1990) Yakimov <i>et al.</i> (1997) Horowitz y Griffin (1991)
Fuente: <i>Acinetobacter sp.</i> Emulsan	Rubinovitz <i>et al.</i> (1982)
Alasan	Navon-venezia <i>et al.</i> (1995)
Fuente: <i>Pseudomonas</i> Rhamnolipid	Arino <i>et al.</i> (1996)
Fuente: <i>Rhodococcus sp.</i> Viscosin	Neu <i>et al.</i> (1990)
Trehalosepids	Tango e Islam (2002)

(Tomado de Ramkrishna Sen, 2006)

Se demostrado que los solventes y los gases producidos por los microorganismos combinados con una cepa productora de biosurfactantes fueron efectivos para mejorar la producción de petróleo tanto para crudos de peso medio y pesado (15-30°API). Especialmente cepas adaptadas de *Bacillus licheniformis* y *Clostridium sp.*, adicionadas a la inyección de agua fueron capaces de mejorar la producción de petróleo en aproximadamente un 20% cuando se inyectaron en el campo del Chelsea-Alluween el Condado de Rogers, Oklahoma.

El coste del tratamiento microbiano en el campo del Chelsea-Alluwe fue 2.33 dólares más por cada barril de hidrocarburos recuperados por encima del nivel básico de la producción de la inyección de agua. Una de las ventajas clave de la eficiencia de los sistemas microbianos surfactantes es que los microorganismos pasan a la interface hidrocarburos-agua y producen compuestos en la interfaz para movilizar el aceite residual atrapado. Tecnologías microbianas como estas son rentables a los precios actuales del petróleo.

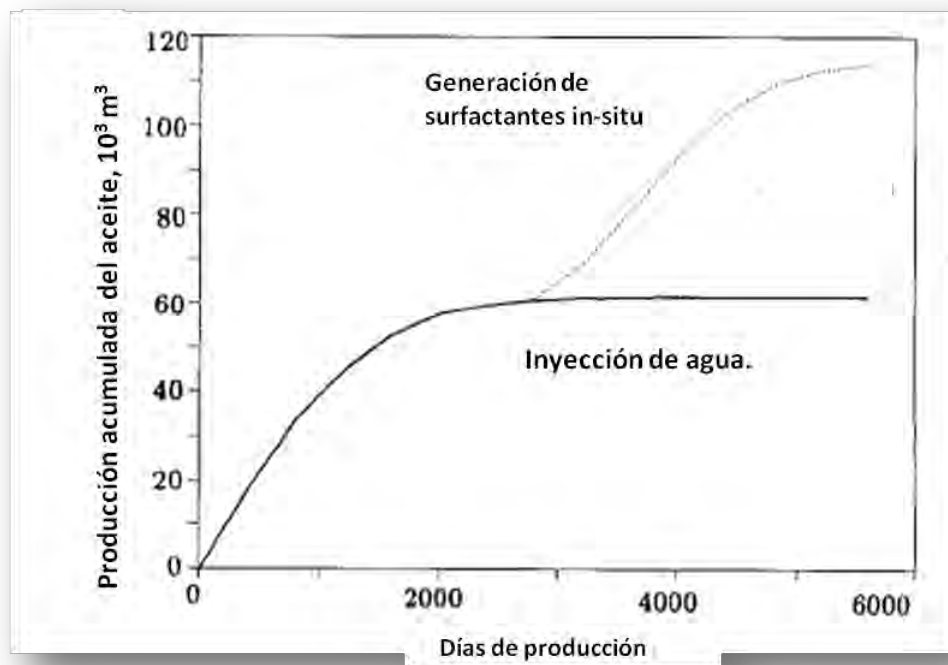


Fig. 3.4. Comparación de la producción entre surfactantes generados y la inyección de agua.

Tomado de Chilingarian and Islam (1995)

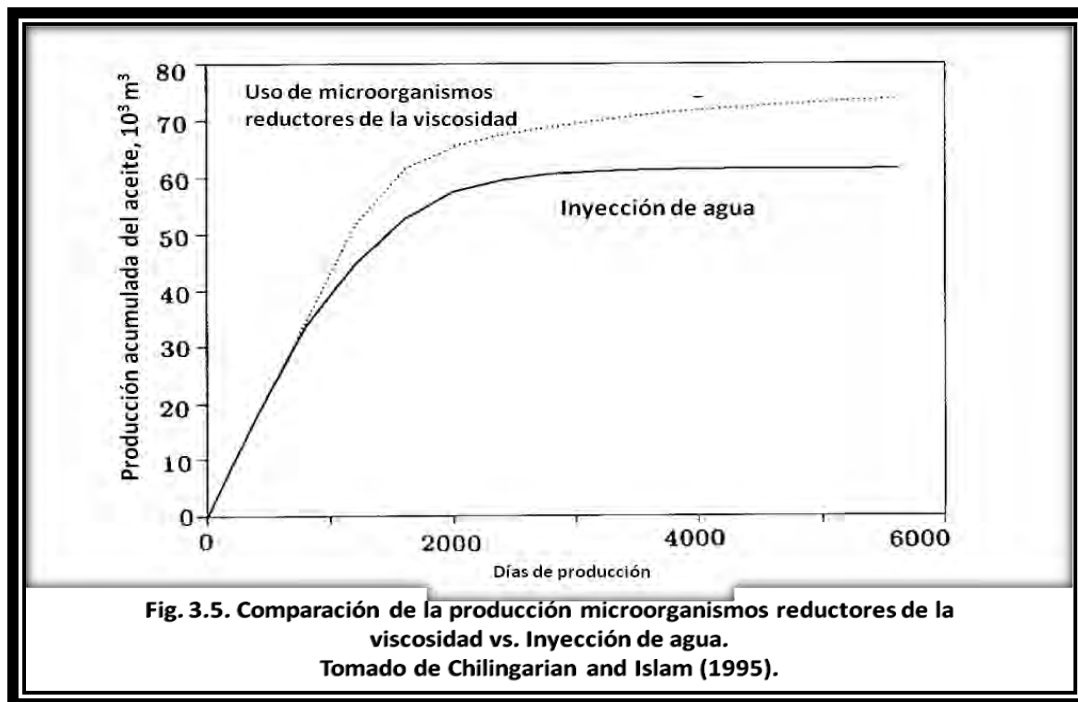
3.2.3. TAPONAMIENTO SELECTIVO.

Cuando se inyecta agua al yacimiento, los fluidos fluirán preferentemente dentro de los estratos de alta permeabilidad y evitan regiones de baja permeabilidad, Raiders et al., (1989). Por lo que existen zonas que no han sido barridas y estas pueden ser barridas al modificar el flujo de fluidos a través del yacimiento.

Este cambio de flujo de fluidos, va de las zonas de alta permeabilidad del yacimiento a las zonas de permeabilidad moderada o baja, entonces, la eficiencia de barrido será mayor resultando así una mayor recuperación de petróleo. La modificación del flujo de los fluidos, se puede lograr mediante la generación de biomasa y biopolímeros insolubles en agua. Estos productos microbianos reducen la permeabilidad de la roca, normalmente se trabaja con yacimientos con agua connatada, o bien con yacimientos que fueron inyectados con agua debido a que al reducir la permeabilidad los canales de agua son bloqueados por lo que los fluidos se redirigen a regiones de la formación que no han sido barridas.

3.2.4. DEGRADACIÓN DEL PETRÓLEO.

Este método es usado comunmente para el tratar la depositación de parafinas en el equipo de producción. Muchos microorganismos que degradan los hidrocarburos han sido aislados y existe una vasta literatura a cerca de la habilidad de los microorganismos para degradar a los hidrocarburos aeróbicamente. Los tratamientos microbianos comerciales en el tratamiento de depositación de parafinas incluye la inyección de una mezcla de microorganismos que han utilizados en la degradación de hidrocarburos, como la inyección de nutrientes y un biocatalizador, los cuales pueden ser sustancias químicas que se descomponen con el oxígeno. Las bacterias aeróbicas son efectivas en la degradación de petróleo. El principal objetivo de la degradación del petróleo es disminuir el contenido de hidrocarburos saturados e incrementa la densidad del petróleo, viscosidad y contenidos de sulfuros y metales.



En las siguientes tablas se presentara las propiedades de algunos yacimientos en los que se aplico la recuperación microbiana mejorada.

Tabla 3.4. Características del yacimiento localizado en Hebei una provincia de China.

Características del yacimiento	Roca Arenisca Sa I	Roca Arenisca Sa III
Profundidad (m.)	1801.3-1850.0	1906.6-1960.0
Permeabilidad media 10 ⁻³ μm ²	468.4	259.2
Porosidad (%)	27.6	24.9
Presión original (MPa)	17.78	18.89
Temperatura (°C)	70	73
Viscosidad del aceite en el yacimiento (MPa•s)	6	No se determino
Viscosidad del aceite en la superficie a 50°C (MPa•s)	75.8	42.5

Tomado de Jinfeng *et al.* (2005).

La **tabla 3.4** muestra las características de un yacimiento que se encuentra localizado en Hebei una provincia de China; el cual empezó a funcionar en 1984 mediante recuperación primaria, en 1988 se le comenzó a inyectar agua; sin embargo la producción bajo un 20% por lo que en 2001 se comenzó con el proyecto de inyección de microorganismos, aunque en un principio se pensó que la inyección no había tenido resultado debido a que la producción seguía disminuyendo, sin embargo, la situación cambió después de seis meses ya que la producción se elevó considerablemente en los 7 pozos que fueron tratados mediante un método de recuperación microbiana.

Los microorganismos inyectados primeramente, tenían el objetivo de remover parafinas y alcalinos depositados en las gargantas de los poros en la regiones cercanas al agujero del pozo; sin embargo hubo una nueva inyección de microorganismos, los cuales tenían como objetivo la generación de biosurfactantes, para mejorar el desplazamiento de los hidrocarburos,

El siguiente yacimiento se localiza en Alemania. Las características principales de este yacimiento es que contaba con alta temperatura y formación de agua y baja viscosidad por lo que se consideraba que la inyección de biosurfactantes o biopolímeros no era favorable debido a experiencias de otros yacimientos.

Por lo que se consideró la posibilidad de inyectar microorganismos, cuyo principal objetivo era represurizar el yacimiento, sin embargo, la inyección de estos dio como resultado la disminución en la producción de agua, al igual que la represurización del yacimiento, ya que se tenía 0.5 MPa de presión en la cabeza del pozo la cual pasó a 2.5 MPa y se generó CO₂, producto de la actividad metabólica de los microorganismos. Los microorganismos utilizados en este yacimiento provenían principalmente de cepas de *Clostridium*. También se incrementó la recuperación del petróleo a pesar de que se creía que no se iba a tener, de hecho se recuperó un 15% más de lo que se tenía contemplado.

Tabla 3.5. Características de un yacimiento localizado en german democratic republic.

Características del yacimiento	
Profundidad (m)	1240
Temperatura (°C)	53
Presión de la formación (MPa)	8
Tipo de yacimiento	Carbonatado
Fissure porosity	0.1-0.5
Fissure permeability	10-50

Tomado de Wagner, M. (1985)

En este yacimiento mediante una recuperación microbiana se tuvo una recuperación del aceite en sitio del 29 al 33% mientras que en una inyección de agua se tuvo una recuperación del 15 al 17%. Para este yacimiento fueron seleccionados cultivos de *Clostridium*. La inyección de los microorganismos comenzó en 1992, este yacimiento está formado por rocas carbonatadas por lo que se consideró apta la inyección de microorganismos debido que los microorganismos pueden desplazarse más rápido a través de las fracturas y grietas del yacimiento, además de que los carbonatos generan naturalmente ácidos orgánicos, los cuales intensifican la formación de productos microbianos como pueden ser ácidos, surfactantes y alcoholes.

En este yacimiento se generó un aumento en la permeabilidad mediante el incremento de la porosidad, principalmente se debió a la disolución de la roca.

Tabla 3.6. Características de un yacimiento localizado Alemania

Características del yacimiento	
Temperatura de la formación (°C)	20
Presión de la formación (MPa)	7-8
viscosidad	50-60 mPa*s
Factor de volumen del aceite	1.03
Factor de volumen del gas	3.2 m ³ /t
Permeabilidad de la matriz	0.1 a 2 mD
Radio medio de los poros	2.4-3.8µm.

Tomado de Wagner *et al.*, (1993)

CAPÍTULO 4 INÓCULO E INYECCIÓN.

4.1 INÓCULO BACTERIANO.

El éxito de los experimentos realizados para incrementar la recuperación de petróleo mediante la inyección de microorganismos se debe al inóculo bacteriano.

El inóculo bacteriano juega un papel importante. En más de 30 importantes experimentos de pruebas de campo realizados en varios países en los últimos 30-35 años, diferentes tipos de inóculo de microorganismos se han utilizado en cientos de pozos. En muchos casos, se utilizaron cultivos puros, en otros casos, cultivos mixtos de poblaciones microbianas. En todos estos casos, los microorganismos seleccionados contaban con las características adecuadas para crecer a las condiciones del yacimiento donde se va a inyectar. En algunos casos sólo una estimulación de la microflora natural presente en el agua de la formación (o en el agua de inyección dentro del yacimiento respectivo) se lleva a cabo.

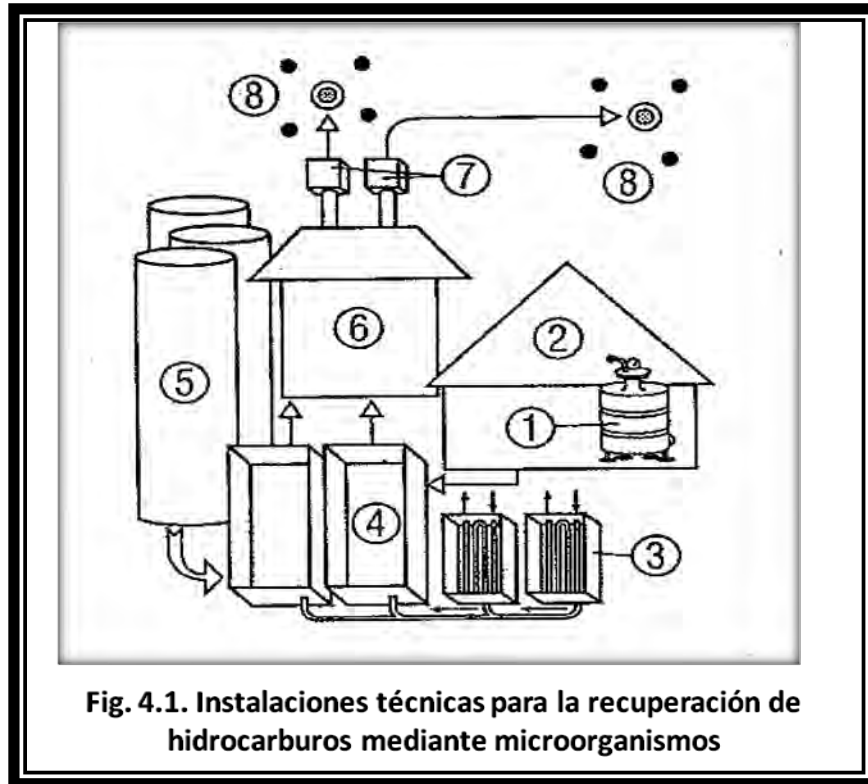
Casi 30 pruebas de campos experimentales de MEOR se llevaron a cabo en diferentes países. Los tipos de inóculo se presentan en la **Tabla 4.1**, agrupados de acuerdo con la forma en que los pozos fueron tratados por el estímulo y la recuperación mejorada de petróleo.

De acuerdo a la **Tabla 4.1**, se presenta la "primera generación" de inóculos (1975-1980), así como los experimentos de la "segunda generación", iniciado a partir de 1986, el inóculo bacteriano utilizado consistía en una mezcla de cultivos (CM).

El inóculo bacteriano comúnmente usado en los yacimientos es AMEC (adapted mixed enrichment culture). El pre-inóculo bacteriano fue preparado en un contenedor de 25 l. (**Fig.4.1**) y entonces, las cantidades de inóculo para la inyección en los pozos fue preparada en una instalación especial.

Los cultivos adaptados de enriquecimiento mixto (the adapted mixed enrichment cultures, AMEC) son más utilizados debido a que son por lo menos diez veces más activo que el

cultivo puro, para la liberación de aceite residual y hasta diez veces más activo que la mezcla de cultivos puros.



Donde:

1. Recipiente para el inóculo bacteriano.
2. Cuarto termostático para la preparación del inóculo.
3. Tanque con serpentina de vapor para la melaza (30 m³)
4. Tanque de homogeneización para el apoyo de nutrientes (salmuera y 2% de melaza) y inóculo bacteriano
5. Tanque de almacenamiento para la salmuera
6. Bomba de homogenización (salmuera + melaza)
7. Sistema de distribución para la inyección de los pozos.
8. ☉ Pozos de inyección
● Pozos de reacción

El rendimiento del inóculo en la producción de gases, ácidos, solventes, biosurfactantes y biopolímeros en los yacimientos así como la capacidad del inóculo en liberar el aceite residual del medio poroso de debe a la selección y al cultivo de microorganismos adecuados para el yacimiento.

Los tipos de inóculos que normalmente usados son presentados en las siguientes tablas estos inóculos dependen del tipo de mecanismo de recuperación microbiana que se quiera implementaren un yacimiento petrolero; estos cultivos de microorganismos son usados tanto puros o bien se realiza un mezcla de varios cultivos puros para poder mejorar el inóculo lo que normalmente se hace para tener un mayor rendimiento.

Tabla 4.1. Tipos de inóculo utilizado para pruebas de campo meor para una recuperación microbiana ciclica.

Número	Ciudad	Referencias	Tipo de inóculo
1	Estados Unidos	Johnson, 1979	Cultivo mixto de <i>Bacillus</i> y <i>Clostridium</i>
2	Estados Unidos	Microbial Systems Corp. 1984	Cultivos Mixto de microorganismos anaerobicos
3	Estados Unidos	Gruła et al., 1985	<i>Clostridium sp.</i>
4	Estados Unidos	Covington Leases, 1985	Suspensión de esporas de <i>Clostridium sp.</i>
5	Estados Unidos	Zajic, 1987	Bacterias anaerobicasy anaerobicas facultativas
6	Estados Unidos	Bryant et al., 1988	Cultivi mixto de <i>Clostridium sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i> , <i>B. licheniformis</i> y <i>Bacillus Gram-negativos.</i>
7	Estados Unidos	King, 1989	Tipo de cultivos <i>Clostridium</i>
8	Rumania	Lazar 1987, Lazar and Constantinescu, 1985, Lazar et al., 1988, 1989, 1990	Adapted mixed enrichment cultures predominado por <i>Clostridium</i> , <i>Bacillus</i> y <i>Bacillus Gram- negative.</i>

Tabla 4.2. Tipos de inóculo utilizado para pruebas de campo MEOR para una recuperación microbiana

Número	Ciudad	Referencias	Tipo de inóculo
1	Checoslovaquia	Dostalek y Spurny, 1958, 1961	Cultivo mixto de bacterias reductora de sulfato y <i>Pseudomonas sp.</i> Mixed cultures of Sulfat reducing bacteria and <i>Pseudomonas sp.</i> hydrocarbon Utilizing
2	Hungría	Jaranyi, 1968 Dienes y Jaranyi, 1973.	Mixed sewage-sludge cultures Anaerobic thermophilic mixed cultures (predominants: <i>Clostridium</i> , <i>Desulfovibric</i> and <i>Pseudomonas</i>
3	Polonia	Karaskiewics, 1974	Mezcla de microorganismos aerobicos y anaerobicos pertenecientes al género <i>Arthrobacter</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Pseudomonas</i> y <i>Peptococcus</i>
4	Rusia	Senyukov et al., 1970	Mezcla de microorganismos aerobicos y anaerobicos
5	Estados Unidos	Yarbrough y Coty, 1983	<i>Clostridium acetobutylicum</i>
6	Rumania	Lazar 1987, Lazar and Constantinescu, 1985, Lazar et al., 1988, 1989, 1990	AMEC predominado por <i>Clostridium</i> , <i>Bacillus</i> y <i>Bacillus Gram-negativos</i> .
7	Estados Unidos	Bryant et al., 1988	Cultivos mixtos de <i>Clostridium sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i> , <i>B. Licheniformis</i> y <i>Bacillus Gram negativos</i> .
8	Estados Unidos	Donaldson, 1988	Cultivos mixto de <i>Pseudomonas</i> y <i>Hydrocarbon oxidizing bacteria</i>
9	China	Wang Xiu-Yuan, 1988	Bacteria productora de gases, ácidos y solventes.

Tabla 4.3. Tipos de inóculo utilizado para pruebas de campo MEOR para una recuperación microbiana mediante una conexión selectiva

Número	Ciudad	Referencia	Tipo de inóculo
1	Holanda	Von Heininger et al., 1958	<i>Betacocus Dextranicus</i>
2	Rusia	Yukbarisov, 1972, 1976	Bacteria aerobia y anaerobia
3	Rusia	Yukbarisov, 1989	Aerobic and anaerobic activated sludge bacteria
4	Canadá	Jack y Stehneier, 1988	Microorganismos productores de biopolimeros
5	China	Wang Xiu-Yuan, 1988	Bacterias formadoras de lodo
6	Estados Unidos	Berry energy and petrol.	Cultivos productores de surfactantes

El mecanismo de selección de estos cultivos se realiza con los pasos del siguiente diagrama.

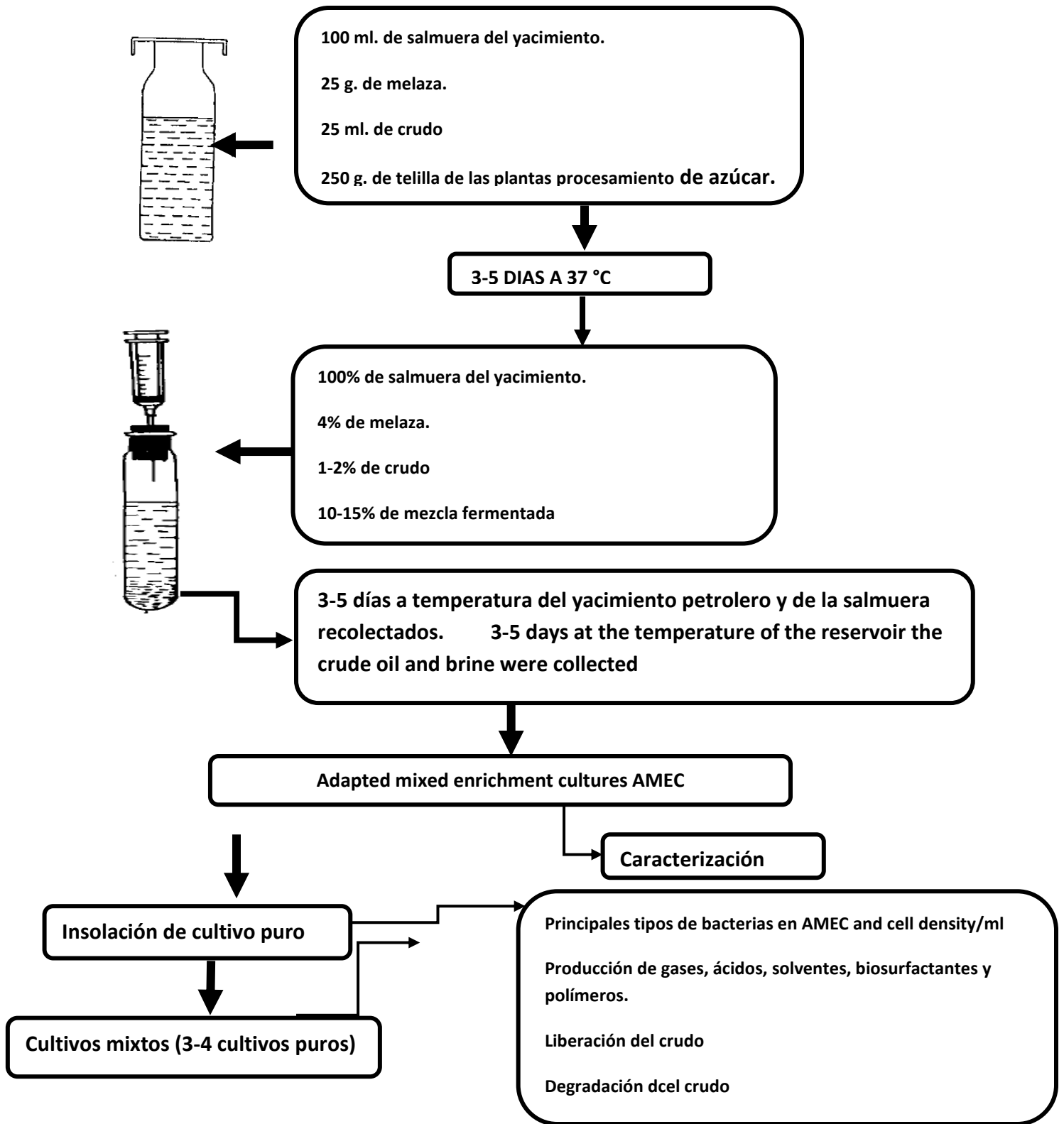


Fig. 4.2. Pasos para la selección de AMEC

4.2 APOYO NUTRICIONAL

Junto con el inóculo bacteriano, se inyecta salmuera en cada yacimiento, fortificada con 2-4% de melaza, que cuenta con un 50% de azúcar polarizable.

Sin ningún mineral especial, tal como fuentes de nitrógeno o fósforo fueron añadidas y experimentos de laboratorio demostraron que estos suplementos no eran necesarios.

4.3 PROTOCOLO DE INYECCIÓN

Basados en experiencias del todo mundo, publicadas en varias actas de simposios, recientemente se ha publicado algunos nuevos protocolos para la inyección en pozos, para la recuperación mediante inyección de agua adicionada con microorganismos y la inyección cíclica de microorganismos. La experiencia práctica parece demostrar que este protocolo cuida a la melaza, que se ha vuelto cara (los costos han aumentado diez veces), y así aumentar la rentabilidad de la aplicación. La idea principal de este protocolo es la inyección de salmuera con melaza de 2-4% a través del pozo de inyección, hasta que esta solución llega a reaccionar en los pozos y luego de detener la adición de melaza y sólo ir a la inyección de agua, hasta que no haya más melaza en los pozos. La inyección de melaza debió ser detenida cuando las concentraciones estaba alrededor de 0.04 y 0.05 mg. glucosa/ml en los fluidos tomados a partir de la reacción en los pozos.

Dependiendo de los resultados, entonces es tiempo de decidir si la melaza se debe inyectar de nuevo con inóculo de bacterias (**Fig. 4.3**).

Al mismo tiempo, se evalúa si el inóculo de bacterias se debe utilizar sólo en la primera etapa (**Fig. 4.3**). O si debe ser usado más tarde, cuando la inyección de melaza se reanude (**véase la etapa IV de la Fig. 4.3**).

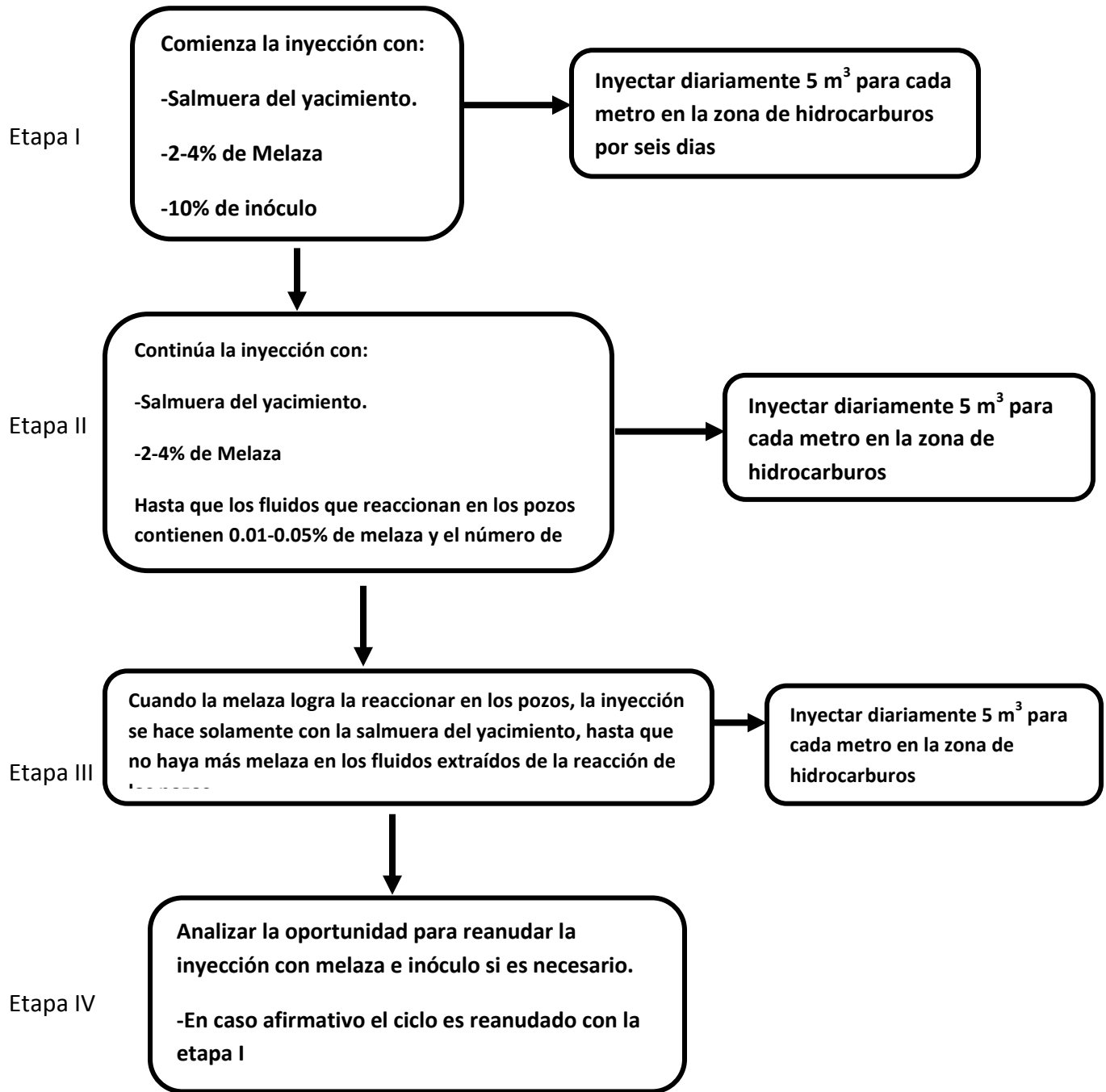


Fig. 4.3. Protocolo de inyección

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

CONCLUSIONES

- La recuperación mejorada microbiana, consiste principalmente en inyectar microorganismos a los yacimientos, pero también consiste en estimular el crecimiento de microorganismos autóctonos.
- La aplicación de este método de recuperación no es reciente; sin embargo hubo un período en el cual no se consideró y es hasta años recientes que se comenzó nuevamente a darle importancia.
- La aplicación de microorganismos como un método de recuperación, es una buena alternativa debido a la capacidad de los microorganismos de generar diferentes productos y combinarlos, generando así un incremento en la recuperación de los hidrocarburos.
- Se deben tomar en cuenta las características del yacimiento, para poder elegir el cultivo de microorganismos que más favorezca a la recuperación de hidrocarburos.
- El rango de aplicación de microorganismos es muy amplio; ya que estos pueden ser inyectados en cualquier tipo de yacimiento.
- El uso de los microorganismos en lugar de químicos, puede llegar a resultar ser más efectivo y económico.
- Se debe analizar correctamente el tipo de cultivo a inyectar así como sus nutrientes para que la recuperación sea efectiva.

RECOMENDACIONES

- Se deben tomar en cuenta las características que tiene el yacimiento a tratar, para poder determinar que cultivo de microorganismos es el más apropiado.
- Se debe analizar cuidadosamente cuál o cuales son los mecanismos que se quiere generar mediante la inyección de microorganismos para que la recuperación de hidrocarburos aumente.
- En México, la recuperación microbiana no se ha estudiado a fondo, por lo que sería una buena opción comenzar a darle importancia debido a que muchas de las pruebas y aplicaciones realizadas en otros países han sido en yacimientos carbonatados y en yacimientos de aceites pesados, teniendo como resultado un incremento en la producción de hidrocarburos de un 10-20% lo cual bastante significativo.

BIBLIOGRAFÍA.

Abdus, Satter Ph. D., Ganesh, C., Thakur, Ph. D., 1994. Integrated Petroleum Reservoir Management. Pennwell Books. Chapter 8.

Akit RJ, Cooper DG, Neufield RJ., 1989. "Effects of oil reservoir conditions on the production of water-insoluble levan by *Bacillus licheniformis*". *Geomicrobiol J*, 7:115-65.

Almeida P.F., Moreira R.S., Almeida R.C.C., Guimarães A. K., Carvalho A.S., Quintella C., and Taft C. A., 2004." Selection and Application of Microorganisms to Improve Oil Recovery"

Arino S, Marchal R, Vandecasteele JP., 1996. "Identification and production of a Rhamnolipid biosurfactant by a *Pseudomonas* sp". *Appl Microbiol Biotechnol*, 45:162-8.

Banat IM., 1995. Biosurfactant production and possible uses in microbial enhanced oil recovery and oil pollution remediation: a review. *Biores Technol*; 51: 1-12.

Beck J., 1947. "Penn grade progress on use of bacteria for releasing oil from sand".

Beckman, J.W., 1926. "The action of bacteria on mineral oil". *Ind. Eng. Chem. News*, 4(Nov-10):3

Belyaev, J.W., 1926. The dynamics of development of aerobic and anaerobic bacteria during aeration of an oil-bearing stratum to enhance oil recovery In: T.F.Yen (Chairman), Symposium on Biological Pressure Related to Petroleum Recovery. Div. Pet. Chem., Am Chem. Soc. Seattle, Wash., March 20-25, pp. 810-812

Brown, Lewis R., 2010. "Microbial Enhanced Oil Recovery (MEOR)". *Science Direct, Current Opinion in Microbiology*. Vol. 13 pp 1 - 5.

Bubela, B., 1983. "Combined effect of temperature and other environmental stresses on microbiologically enhanced oil recovery". In: E.C. Donaldson and J.B. Clark (Editors) *Proceedings, 1982 International Conference on Microbial Enhancement of Oil Recovery*. NTSI, Springfield, Va, pp, 118-123.

Buller CS, Vossoughi S., 1990. "Subterranean permeability modification by using microbial polysaccharide polymers". US Patent # 4, 941, 533.

Chilingarian, G. V. and Islam, M. R., 1995. "A Three - Dimensional numerical Simulator for Microbial Enhanced Oil Recovery". *Scientia Iranica*, Vol. 2, No. 1.

Cho DH, Chae HJ, Kim EY., 2001. "Synthesis and characterization of a novel extracellular polysaccharide by *Rhodotorula glutinis*". *Appl Biochem Biotechnol*, 95:183-93.

Crescente, C., Rasmussen, K., Torsaeter, O., Strom, A., Kowalewski, E., 2005. "An experimental study of microbial improved oil recovery by using *rhodococcus* sp. 094"

- Norwegian University of Science and Technology, Trondheim, Norway Statoil ASA.
Trondheim, Norway.
- Davis J, Updegraff D.M., 1954: "Microbiology in the petroleum industry", 18:215-238.
- Davis J., 1967: "Petroleum Microbiology". Amsterdam (New York, NY): Elsevier Publishing Company.
- Donaldson, E. C. and Clark, J.B., 1982. "Conference focuses on microbial enhancement of oil recovery". *Oil Gas J.*, 80(51): 47-52
- Donaldson, Erle C., Chilingarian, George V., Yen, Teh Fu., 1989. "Microbial Enhanced Oil Recovery". ELSEVIER - Amsterdam - Oxford - New York - Tokyo. Chapter 1.
- Fratesi SE., 2002. "Distribution and morphology of bacteria and their byproducts in microbial enhanced oil recovery operations". MS thesis, Mississippi State University.
- Gaudy, A. F., Jr. And Gaudy, E.T., 1980 "Microbiology for Environmental Scientists and Engineers"., McGraw Hill, New York, N.Y., 736 pp.
- Gruła, E.A., Russell, H.H., Bryant, D., Kenaga., M. and Hart, M. 1983. "Isolation and screening of Clostridium for possible use in MEOR", In: E.C. Donaldson and J.B. Clark proceedings 1982 International Conference on Microbial Enhancement of Oil Recovery, Afton, Okla., May 16-21. NTIS, Springfield, Va., pp 43-47.
- Gruła, M.M. and Sewell G.W. 1983 "Microbial Interaction with polycrylamide polymers" In: E.D. Donaldson and J.B. Clark (Editors) Proceedings, 1982 International Conference on Microbial Enhancement Oil Recovery. NTIS Springfield, Va, pp, 129-134
- Hiorth A., Kaster K., Lohne A., Siqveland I.O.K., Berland H., Giske N.H. , Stavland A., 2007. "Microbial enhanced oil recovery - mechanism" University of Stavanger, N-4036 Stavanger, Norway., Presentation at the International Symposium of the Society of Core Analysts held in Calgary, Canada, 10-13.
- Hitzman D., 1959: "Bactericidal composition comprising tetra alkyl quaternary ammonium halide and hydrogen peroxide". 2, 917, 428.
- Hitzman, D.O., 1983 "Petroleum Microbiology and the history of its role in EOR" In: E.C. Donaldson and J.B. Clark Proceedings, 1982 International Conference on Microbial Enhancement of Oil Recovery. NTIS Springfield, Va., pp 162-218.
- Horowitz S, Griffin WM., 1991 "Structural analysis of Bacillus licheniformis 86 surfactant". *J Ind Microbiol.*, 7: 45-52.
- Ivanov, M.V., Belyaev, S. S., Laurinavichus, K.S., Obratsova, A.Y. and Gorlatov, S.N., 1982. *Microbiologiya*, 4: 336

Jack T, Stehmeier LG, Islam MR, Ferris F. G., 1991: "Microbial selective plugging to control water channeling. Microbial Enhancement of Oil Recovery—Recent Advances". Elsevier Publishing Company; 433-446.

Jenneman GE, McInerney MJ, Knapp RM, Clark JB, Ferro JM, Menzie D.E., 1983. "A halotolerant, biosurfactant producing *Bacillus* species potentially useful for EOR". *Dev Ind Microbiol*; 24: 485-92.

Jinfeng L., Lijun M., Bozhong M., Rulin L., Fangtian N., Jiayi Z., 2005. "The field pilot of microbial enhanced oil recovery in a high temperature petroleum reservoir". A Department of Chemistry, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China Dagang Oilfield Company, PetroChina, Tianjin, 300280, China Department of Microbiology, Nankai University, Tianjin.

Kalish PJ, Stewart JA, Rogers WF, Bennett EO., 1964. "The effect of bacteria on sandstone permeability". *J Petrol Technol.*, 805-13.

Kashefi K, Lovley D.R., 2003: "Extending the upper temperature limit for life" ., 301:934.

Khire JM, Khan MI., 1994. Microbially enhanced oil recovery (MEOR). Part 2. Microbes and subsurface environment for MEOR. *Enzyme Microb Technol.*, 16:258-9.

Kim DS, Fogler HS., 1999. "The effects of exopolymers on cell morphology and culturability of *L. mesenteroides* during starvation". *Appl Microbiol Biotechnol*, 52: 839-44.

Kuznetsov, S.I. (Editor) 1961. "Geologic Activity of Microorganisms" (translated from Russian by consultants Bureau, New York 1962) *Tr. Inst Mikrobial Akad Nauk SSSR*, IX, 112 pp.

Kuznetsov, S. I., Ivanov M.V. and Lyalikova, N.N., 1962. "Introduction to Geological Microbiology" (Translated from by P.T. Bronner and C.H. Oppenheimer) *Introduction to Geological Microbiology*, McGraw-Hill, New York, N.Y., 252 pp.

Lazar I: "MEOR field trials carried out over the world during the last 35 years. Microbial Enhancement of Oil Recovery—Recent Advances". Elsevier Publishing Company; 1991.

Lazar, I, 1983. "Microbial Enhancement Oil Recovery in Romania" In: E.C. Donaldson and J. B. Clark (Editor), *Proceedings 1982 Conference on Microbial Enhanced Oil Recovery*. NTISI Springfield, Va., pp 140-148

Lazar I., S. Dobrota, Stefanescu M., and V. Velehorschii., "Characteristics of the bacterial inoculum used in some recent MEOR field trials in Romania". Institute of Biological Science, Spl. Independent 296, Bucharest, Romania.

Lazar I., S. Dobrota, Stefanescu M. C., Sandulescu L., Paduraru R., and Stefanescu M., "MEOR, Recent field trials in Romania: Reservoir Selection, Type of inoculum", Protocol

for well treatment and line monitoring. Institute of Biological Science, Spl. Independent 296, Bucharest, Romania.

Marquis, R. E., 1983. "Barobiology of deep oil formations". In: E. C. Donaldson and J. B. Clark (Editor), Proceedings 1982 Conference on Microbial Enhanced of Oil Recovery. NTSI Springfield, Va., pp 124-128

Maudgalya S, Knapp RM, McInerney M.J., 2007: "Microbial enhanced oil- recovery technologies: a review of the past, present, and future". SPE Production and Operations Symposium; Oklahoma City, OK.

Maure, M. A., Dietrich, F. L., Diaz V. A., Argañaraz, H., 1999. "Microbial Enhanced Oil Recovery Pilot Test in Piedras Coloradas Field, Argentina". Society of Petroleum Engineers Inc.

McInerney MJ, Javaheri M, Nagle Jr. D.P., 1990. "Properties of the biosurfactant produced by *Bacillus licheniformis* strain JF-2". *J Ind Microbiol*; 5: 95-102.

Moses, V. and Springham, D. G., 1982. "Bacteria and the Enhancement of Oil Recovery". Applied Science Publishers, London, 178 pp.

Moses V., 1991: MEOR in the field: why so little? *Microbial Enhancement of Oil Recovery—Recent Advances*.21-28.

Navon-venezia S, Zosim Z, Gottlieb A, Legmann R, Carmeli S, Ron EZ, et al., 1995. Alasan, "A new bioemulsifier from *Acinetobacter radioresistens*". *Appl Environ Microbiol*, 61:3240-4.

Nazina TN, Sokolova DS, Grigor'yan AA, Xue Y-F, Belyaev SS, Ivanov MV., 2003. "Production of oil-releasing compounds by microorganisms from the Daqing Oil Field", China. *Microbiology.*, 72:173-8.

Neu T, Haertner T, Poralla K., 1990. "Surface active properties of viscosin: a peptidolipid antibiotic". *Appl Microbiol Biotechnol*, 32:518-20.

Nester, E. W. Roberts, C. E., Pearsall, N. N. and McCarthy, B. J., 1978. *Microbiology*. Halt, Rinehart and Winston, New York, N.Y., 769 pp.

O'Bryan O, Ling T.D., 1949: "The effect of the bacteria. *Vibrio desulfuricans* on the permeability of limestone cores". *Tex J Sci*, 1:117-128.

Pollock TJ, Thorne L., 1994. "Xanthomonas campestris strain for production of xanthan gum". US Patent # 5279961.

Premuzic E, Lin M., 1996: "Process for producing modified microorganisms for oil treatment at high temperatures, pressures and salinity". 5, 492,828.

Petzel, G. A. and Williams, B., 1986. Operations trim basic EOR research. *Oil Gas J.*, 84/6 (Feb. 10): 41-45

Pye D. J., August 1964. *Pet. Tech.*, 911.

Reyadh A., Abdulrazag Y., 2002. "Optimization of microbial flooding in Carbonate reservoirs" United Arab Emirates University.

Rubinovitz C, Gutnick DL, Rosenberg E., 1982. Emulsan production by *Acinetobacter calcoaceticus* in the presence of chloramphenicol. *J Bacteriol*, 152:126-32.

Sandford PA., 1979. Exocellular microbial polysaccharides. *Adv Carbohydrate Chem Biochem*, 36:265-312.

Sandiford B. B., J., August 1964. *Pet. Tech.*, 917.

Schaller KD, Fox SL, Bruhn DF, Noah KS, Bala G.A., 2004. Characterization of surfactin from *Bacillus subtilis* for application as an agent for enhanced oil recovery. *Appl Biochem Biotechnol*; 113-116: 827-36.

Sen, Ramkrishna., 2008. *Biotechnology in petroleum recovery: The microbial EOR*. *Progress in Energy and Combustion Science*, pp 714 - 724.

Tango MSA, Islam MR., 2002. Potential of extremophiles for biotechnological and petroleum applications. *Energy Sources*, 24:543-59.

Updegraff D, Wren G.B., 1953: Secondary recovery of petroleum oil by *Desulfovibrio*., 2, 660, 550.

Updegraff D., 1983: Plugging and penetration of petroleum reservoir by microorganisms. In *Proceedings of the International Conference on Microbial Enhancement of Oil Recovery*., 80-85.

Xiangsheng Z. and Tingsheng X., 2010. "Review on Microbial Enhanced Oil Recovery Technology and Development in China"., Key Laboratory of Exploration Technologies for Oil and Gas Resources, Ministry of Education, Yangtze University, Jingzhou, 434025, P. R. China.

Yakimov MM, Amro MM, Bock M, Boseker K, Fredrickson HL, Kessel DG, et al., 1997 The potential of *Bacillus licheniformis* strains for in situ enhanced oil recovery. *J Petrol Sci Eng.*, 18: 147-60.

Yen, T.F., 1986. *A State-of the Art Review on Microbial Enhanced Oil Recovery*. Unpublished report, University of Southern California, Los Angeles., 278 pp.

Yen T. 1990: *Microbial Enhanced Oil Recovery: Principle and Practice* Boca Raton, FL: CRC Press, Inc.

Zhang, Z. And Qin T., 1983. A survey of research on the application of microbial techniques to the petroleum productions in China: E.C. Donaldson and J.B. Clark (Editors), Proceedings, 1982 International Conference on Microbial Enhancement of Oil Recovery. NTIS Springfield, Va., pp 135-139.

ZoBell C., 1946: Action of microorganism on hydrocarbons. *Bacterial Rv*, 10:149

ZoBell C.E., 1947. Bacterial release of oil bearing material Parts I and II *World Oil*, 126(13): 36-47(1); 127 (1): 35-41 (11)

Zobell CE., 1947 Bacterial release of oil from sedimentary materials. *Oil Gas J.*, 2:62-5.