



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE INGENIERÍA
DIVISIÓN DE INGENIERÍA EN CIENCIAS DE LA TIERRA

“EVALUACIÓN DE PRODUCTOS DE ORIGEN BIOLÓGICO PARA LA
RECUPERACIÓN DE HIDROCARBUROS EN MEDIOS POROSOS”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
I N G E N I E R O P E T R O L E R O

P R E S E N T A:

PERLA SARAHÍ VELÁZQUEZ BERNARDO

DIRECTOR: DR. ERICK LUNA ROJERO



MEXICO, D.F. NOVIEMBRE DEL 2013

Dedicatoria

A Dios y a mi familia.

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a cada una de las personas que han llegado a mi vida, sin embargo, no alcanzarían las páginas de este texto para hacerlo. Todas son importantes y por eso están presentes.

A mi mamá, Leticia Bernardo; por tener un corazón que ama incondicionalmente, un alma que guía por la vida y un espíritu que da fortaleza en los momentos más difíciles. Por estar conmigo a pesar de la distancia y por darme mucho más que todo.

A mi fan No. 1, mi papá Martín Velázquez. Por darme las mejores oportunidades, por su apoyo y por estar siempre presente.

A mis hermanas Ceci y Celeste, este logro también es para ustedes. A mi sobrina Ale, por ser una de mis fuentes de alegría y amor.

A la familia Bernardo Barbosa, en especial a mis tías y a mi abue.

A Carlos, Ana y Liz, con cada uno de ustedes la Universidad se volvió una experiencia inolvidable. Gracias por compartir conmigo todas estas vivencias.

A la Dra. Gladys Castorena, por su paciencia, por lo que me enseñó y por apoyarme en las decisiones que tomé.

A ExxonMobil y el IIE por la beca ExxonMobil para la Investigación 2012. Especialmente a la Mtra. Carla García y a mi mentor Andrés Schiefer.

Al proyecto D417 del Instituto Mexicano del Petróleo.

A la UNAM y a mi Facultad de Ingeniería, los lugares donde formé gran parte de la persona que hoy soy.

P.S.V.B

ÍNDICE	Pág.
AGRADECIMIENTOS	II
ÍNDICE	III
LISTA DE FIGURAS	VI
LISTA DE TABLAS	VIII
RESUMEN	IX
ABSTRACT	XI
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO 1. MARCO TEÓRICO	4
1.1 Panorama general	4
1.1.1 Importancia del petróleo	4
1.1.2 Producción mundial y nacional de petróleo	5
1.1.3 Perspectiva de la demanda mundial y nacional de petróleo	7
1.2 Métodos de recuperación de hidrocarburos	8
1.2.1 Recuperación primaria	9
1.2.2 Recuperación secundaria	10
1.2.3 Recuperación mejorada	10
1.2.4 Recuperación de aceites pesados	14
1.3 Recuperación mejorada microbiana	15
1.3.1 Descripción de la tecnología de MEOR	15
1.3.2 Tipos de bacterias utilizadas en la recuperación	15
1.3.2 Productos producidos por los microorganismos	16
1.3.3 Mecanismos de MEOR que influyen en la recuperación de petróleo	17
1.3.3 Estrategias de aplicación de MEOR	18
1.3.4 Aplicaciones a nivel de campo	19
1.3.4 Ventajas y desventajas de MEOR	25
JUSTIFICACIÓN	26
HIPÓTESIS	26
OBJETIVOS	27
CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA	28
2.1 Cultivo microbiano	29
2.1.1 Microorganismos	29
2.1.2 Medio de cultivo	29

2.2 Producción de biosurfactante	31
2.3 Ensayos de recuperación a nivel tubo de ensaye	31
2.3.1 Diseño experimental Taguchi	31
2.3.2 Lavado y mallado del granulado	33
2.3.3 Medición de la porosidad	33
2.3.4 Impregnación del granulado con aceite	33
2.3.5 Medio de cultivo	34
2.3.6 Inoculación y condiciones de incubación	34
2.3.7 Medición de la recuperación	34
2.3.8 Análisis estadístico	35
2.4 Ensayos de recuperación a nivel columna	35
2.4.1 Construcción de la columna de arena	35
2.4.2 Medición de la porosidad	37
2.4.3 Medición de la permeabilidad	37
2.4.4 Impregnación con aceite	38
2.4.5 Recuperación secundaria	39
2.4.6 Recuperación de aceite utilizando microorganismos	39
2.4.7 Medición de la recuperación	39
2.4.8 Medición de la presión	39
2.5 Métodos analíticos	41
2.5.1 Dispersión de la gota	41
2.5.2 Medición de la tensión superficial	42
2.5.3 Cuantificación de gases	43
CAPITULO 3. ANÁLISIS DE RESULTADOS	44
3.1 Producción de biosurfactantes	44
3.1.1 Dispersión de la gota	44
3.1.2 Medición de la tensión superficial	46
3.2 Medición de la recuperación de un hidrocarburo pesado en sistemas granulados.	48
3.2.1 Importancia de los factores analizados en la recuperación de hidrocarburos	52
3.2.2 Producción de gases	57
3.2.3 Prueba de recuperación de hidrocarburo pesado en sistemas granulados con arena tipo carbonato de afluoramiento.	60
3.3 Pruebas de recuperación en columnas empacadas de arena	63
3.3.1 Caracterización del sistema poroso	64
3.3.2 Recuperación secundaria de crudo de densidad media	65
3.3.3 Recuperación con microorganismos de crudo de densidad media	69

3.3.4 Recuperación secundaria de crudo pesado	72
3.3.5 Recuperación con microorganismos de crudo pesado	73
3.3.6 Mecanismos que incrementan la recuperación de aceite mediano y pesado utilizando microorganismos.	76
CONCLUSIONES	80
RECOMENDACIONES	82
GLOSARIO	83
REFERENCIAS	84

LISTA DE FIGURAS		Pág.
Figura 1.1	Producción mundial de petróleo.	5
Figura 1.2	Producción de petróleo en México.	6
Figura 1.3	Prospectiva de la demanda mundial de petróleo al 2035.	7
Figura 1.4	Prospectiva de la demanda nacional de petróleo.	8
Figura 1.5	Clasificación de los métodos de recuperación mejorada.	13
Figura 1.6	Composición de las reservas probadas de aceite crudo por tipo, 2003-2012.	14
Figura 1.7	Productos y procesos que facilitan la recuperación de aceite en los yacimientos.	17
Figura 1.8	Total de proyectos evaluados respecto a la litología del yacimiento.	21
Figura 1.9	Porcentaje de aceite incremental con respecto a la porosidad.	21
Figura 1.10	Porcentaje de aceite incremental con respecto a la permeabilidad.	22
Figura 1.11	Porcentaje de aceite incremental con respecto a la gravedad API.	23
Figura 2.1	Diagrama general de la experimentación.	28
Figura 2.2	Fotografías de la preparación del medio de cultivo.	30
Figura 2.3	Fotografías de la prueba realizada en tubos de ensaye.	35
Figura 2.4	Esquema del arreglo utilizado en las columnas.	36
Figura 2.5	Impregnación de columnas.	38
Figura 2.6	Fotografías de la prueba de recuperación de aceite en columnas.	40
Figura 2.7	Dispersión del aceite en agua destilada para realizar la prueba de la gota.	41
Figura 2.8	Diagrama del tensiómetro de Du Nouy.	42
Figura 3.1	Diámetro de halo formado por el biosurfactante producido por el cultivo de microorganismos A7.	45
Figura 3.2	Fotografías de la prueba de dispersión de la gota.	46

Figura 3.3	Evaluación de la tensión superficial como medida indirecta para determinar la producción de biosurfactante.	47
Figura 3.4	Porosidad de los sistemas granulados.	49
Figura 3.5	Tamaño del efecto de cada factor en la recuperación de aceite.	50
Figura 3.6	Superficie de respuesta de las variables concentración de carbono y tipo de roca.	51
Figura 3.7	Superficie de respuesta de las variables concentración de nitrógeno y concentración de carbono.	52
Figura. 3.8	Fotografías tomadas a los sistemas granulados al finalizar los 14 días de experimentación.	56
Figura 3.9	Producción de CO ₂ en tratamientos con carbonato comercial.	58
Figura 3.10	Producción de CO ₂ en tratamientos con arena de afloramiento.	59
Figura 3.11	Producción de CO ₂ en tratamientos con arena comercial.	59
Figura 3.12	Porosidad de los sistemas de afloramiento con carbonato.	61
Figura 3.13	Valores de porosidad y permeabilidad reportados en la literatura.	65
Figura 3.14	Distribución de los fluidos durante la inyección de agua en una roca mojada por agua.	67
Figura 3.15	Porcentaje de recuperación de aceite mediano con respecto a los volúmenes porosos inyectados.	71
Figura 3.16	Recuperación de hidrocarburo mediano después de la primera inyección de microorganismos.	71
Figura 3.17	Porcentaje de recuperación de aceite pesado con respecto a los volúmenes porosos inyectados.	72
Figura 3.18	Aceite pesado recuperado después de la segunda inyección de microorganismos.	75
Figura 3.19	Comportamiento de la presión durante la primera inyección de microorganismos.	78
Figura 3.20	Comportamiento de la presión durante la segunda inyección de microorganismos.	79

LISTA DE TABLAS

Pág.

Tabla 1.1	Características de proyectos de MEOR a nivel campo.	24
Tabla 1.2	Ventajas y desventajas de MEOR.	25
Tabla 2.1	Reactivos y concentraciones del medio de cultivo para microorganismos anaerobios.	29
Tabla 2.2	Diseño experimental Taguchi L9.	32
Tabla 2.3	Niveles del diseño experimental Taguchi L9.	32
Tabla 2.4	Dimensiones de las columnas de acrílico.	36
Tabla 2.5	Características del sistema para el cálculo de la permeabilidad.	37
Tabla 3.1	Porcentaje de recuperación de hidrocarburo de los tratamientos.	48
Tabla 3.2	Promedio y efecto total de cada parámetro analizado.	49
Tabla 3.3	Recuperación de hidrocarburo de los sistemas que emplearon carbonato de afloramiento.	61
Tabla 3.4	Características del crudo mediano.	66
Tabla 3.5	Resultados de recuperación secundaria de crudo de densidad media.	67
Tabla 3.6	Resultados de recuperación mejorada con crudo de densidad media.	69
Tabla 3.7	Resultados de la recuperación secundaria de crudo pesado.	73
Tabla 3.8	Resultados de recuperación mejorada con crudo pesado.	73

RESUMEN

La explotación de los yacimientos petroleros comenzó hace más un siglo y, actualmente, la sociedad depende del petróleo para la producción de energía y de materias primas para diversas industrias. En México, la industria del petróleo se encuentra en crecimiento; el país cuenta con alta actividad de producción de petróleo, que se espera siga creciendo.

Las tecnologías tradicionales de recuperación primaria y secundaria de aceite pueden recuperar en promedio un 40% del total de crudo, y varía dependiendo de las características del yacimiento. Por lo tanto, estas operaciones de recuperación a menudo dejan las dos terceras partes del aceite en el yacimiento. Por esta razón, existe gran interés en el desarrollo de otras tecnologías que permitan recuperar parte del petróleo remanente en el yacimiento.

La atención se ha centrado en la recuperación mejorada del petróleo. Con la disminución de los descubrimientos de petróleo en las últimas décadas, se cree que las tecnologías de Recuperación Mejorada de Petróleo o Enhanced Oil Recovery (EOR, por sus siglas en inglés) desempeñarán un papel clave para satisfacer la demanda de energía en los próximos años. Dentro de estos métodos, se encuentra la recuperación microbiana mejorada de petróleo (MEOR por sus siglas en inglés). Los microorganismos y/o sus productos se utilizan para mejorar la recuperación de petróleo. Los productos metabólicos incluyen biosurfactantes, biopolímeros, biomasa, ácidos, solventes y gases para aumentar la recuperación de petróleo.

Se han publicado diferentes estudios sobre la recuperación de petróleo utilizando sistemas granulados no consolidados, sin embargo, la mayoría utiliza roca tipo arena y aceite ligero. En México, más del 37% de las reservas probadas se encuentran en los yacimientos carbonatados y más del 50% de la producción de petróleo proviene de aceite pesado.

En este trabajo se estudió la recuperación de hidrocarburos debido a la acción de un cultivo de bacterias anaerobias extremófilas, que soportan altas condiciones de temperatura (50 - 80 °C).

Primero se evaluó la producción de biosurfactantes de los microorganismos con la prueba de dispersión de la gota y la medición de la tensión superficial. A continuación se analizaron las variables: tipo de roca, tamaño del grano, concentración de nitrógeno y de carbono del medio de cultivo en sistemas no consolidados. Del experimento anterior, se determinaron las condiciones de cultivo que permitieron incrementar la recuperación de aceite en un medio poroso. Finalmente, se realizó una prueba de recuperación de un aceite de densidad media y de un aceite pesado en columnas empacadas de arena para comparar las eficiencias de recuperación.

En la evaluación de la presencia de biosurfactantes, se obtuvo un valor máximo de 0.8 cm en la prueba de dispersión de la gota y un valor mínimo de 53.8 dinas/cm en la medición de la tensión superficial. Durante los ensayos en sistemas granulados a nivel tubo de ensaye, se determinó la combinación que presentó mayor cantidad de hidrocarburo recuperado, la cual correspondió al granulado tipo arena, de tamaño de malla No. 40 y las concentración de carbono de 5 g/L y de nitrógeno de 0.25 g/L para el medio de cultivo de los microorganismos. Posteriormente, para las pruebas en columnas empacadas de arena se obtuvieron recuperaciones por acción de los microorganismos de 12.4% para aceite mediano y 9.9% para aceite pesado.

Las evaluaciones indicaron que el cultivo de bacterias utilizado y sus metabolitos pueden incrementar la recuperación de aceite de densidad media y de aceite pesado en sistemas no consolidados. Se encontró que estos microorganismos producen metabolitos útiles para la recuperación de aceite, como los gases. La comparación de eficiencias de la recuperación indicó que MEOR puede ser efectiva para aceites de densidad media, así como para aceites pesados de hasta 11°API.

ABSTRACT

The oil fields exploitation began over a century ago, and today's society depends on oil for energy production. There is a need to produce more crude oil to meet the worldwide rising energy demand. In Mexico, the oil industry is growing and the country has high activity of oil production.

After primary and secondary recovery operations, up to two-thirds of the original oil in place still remains in the reservoir. It has given strong impetus to the development of Enhanced Oil Recovery (EOR) technologies. The EOR processes include microbial technology. Microbial Enhanced Oil Recovery known as MEOR, improves oil recovery through the use of microorganisms and/or their by-products in oil reservoirs. The by-products or metabolites include: biosurfactants, biopolymers, biomass, acids, solvents and gases to increase oil recovery.

Several studies on oil recovery have been reported using a packed system; however, the majority use sandstone rock and light oil. In Mexico, more than 37% of the proven reserves are found in carbonate and quartz reservoirs and more than 50% of oil production comes from heavy oil.

The present study examined the oil recovery due a extremophile microbial culture which can grow at anaerobic and reservoir temperature conditions (50-80 °C).

The metabolites production of microorganisms was evaluated with the drop collapse technique, the surface tension measurement and CO₂ production. Oil recovery experiments were performed using granulated porous media saturated with oil in order to study the effect of four variables on oil recovery and to determine the variables combination which can enhance oil recovery in unconsolidated systems, the analyzed variables were rock type, grain size, nitrogen and carbon concentration in growth medium. Finally, laboratory experiments were conducted in sand-packed columns to compare oil recovery efficiencies using a medium and heavy gravity oil.

During the metabolites production evaluation and as a result of biosurfactant production, the maximum value of the drop collapse technique was 0.8 cm, the minimum value of surface tension was 53.8 dyne/cm. Four variables were evaluated to improve oil

recovery and the results showed that the combination which presented the highest oil recovery was sandstone type rock with grain size mesh number 40 and carbon concentration of 5 g/L and nitrogen concentration of 0.25 g/L in growth medium. Lastly, for testing sand-packed columns, the oil recoveries were 12.4% and 9.9% for medium and heavy oil, respectively.

The bacterial culture produced metabolites useful for oil recovery. It was able to enhance oil recovery after waterflooding. A comparison of oil recovery efficiencies indicates that MEOR may be effective for medium oils as well as heavy oils.



INTRODUCCIÓN

Actualmente uno de los desafíos a los que se enfrenta el sistema energético mundial es responder a la creciente demanda de energía como resultado del aumento de la población; lo anterior ha impulsado el consumo del petróleo. En México, mantener la producción de petróleo a su nivel actual para satisfacer los requerimientos energéticos, representará un importante reto técnico, ya que la mayor parte de los campos productores en el país se encuentran en etapa madura o en vía de declinación. Entre 2003 y 2012, a pesar de la inversión, las reservas probadas de petróleo disminuyeron 31.2% pasando de 20,077 millones de barriles de petróleo crudo equivalente (MMbpce) a 13,810 MMbpce, en tanto que en el mismo periodo las reservas probables disminuyeron en 27.2%, pasando de 16,965 MMbpce a 12,353 MMbpce (SENER, 2013).

Con la alta demanda de petróleo, sus altos precios y una constante declinación de la producción de la mayoría de los yacimientos a nivel mundial, es necesario incrementar las reservas de hidrocarburos, pero la dificultad para descubrir nuevos yacimientos de aceite es cada vez mayor (Jimoh, 2012). Por lo anterior, crece la necesidad de encontrar tecnologías alternativas para mejorar la recuperación de petróleo de los yacimientos existentes en todo el mundo. El aceite remanente se vuelve un objetivo atractivo, por lo que las compañías petroleras están invirtiendo en el desarrollo de métodos de recuperación mejorada de hidrocarburos (EOR por sus siglas en inglés) que ayuden a incrementar la recuperación de aceite. En la etapa de recuperación mejorada, los métodos que se emplean modifican las propiedades de los fluidos o de las rocas del yacimiento, con el objetivo de lograr una recuperación adicional a la obtenida con los métodos convencionales de recuperación (Hamid *et al.*, 2012).



La recuperación mejorada de petróleo vía microbiana (MEOR) es una de las técnicas EOR, y se refiere al uso de los microorganismos y/o sus productos para mejorar la recuperación de aceite residual (Brown, 2010). A través de la inoculación de los microorganismos en un yacimiento, se logra que las bacterias o sus productos provoquen algunos efectos, que incluyen:

- a) La reducción de la tensión interfacial; los microorganismos pueden facilitar la movilización de aceite a través de la producción de biosurfactantes, que reducen la tensión interfacial entre las fases inmiscibles.
- b) Cambios en la mojabilidad; los microorganismos pueden invadir la roca del yacimiento, y formar una biopelícula que tiene propiedades mojantes diferentes a las existentes en la roca.
- c) Taponamiento, la formación de biomasa puede obstruir canales preferenciales de flujo, e incrementar la eficiencia de barrido del yacimiento.
- d) Incremento de la presión, el gas generado biológicamente puede incrementar la presión de poro y/o disolverse en el aceite, reduciendo así su viscosidad.
- e) Degradación de las fracciones pesadas de los hidrocarburos, los microorganismos pueden utilizar el aceite crudo como fuente de carbono y reducir la viscosidad del aceite.
- f) Disolución de la roca, la producción microbiana de ácidos puede causar la disolución de la roca, principalmente en carbonatos (Armstrong *et al.*, 2012).

Los mecanismos propuestos de MEOR podrían incrementar la recuperación de aceite de los yacimientos; sin embargo no todos son candidatos para la aplicación de esta tecnología. Es necesario realizar un análisis para determinar si un yacimiento es



idóneo para el empleo de MEOR; estos criterios incluyen la temperatura y salinidad del yacimiento, el tipo de roca y su permeabilidad, la viscosidad y densidad API del aceite, entre otros (Youssef *et al.*, 2009).

Algunas de las ventajas que tiene MEOR en comparación con otros procesos de EOR, son que no consume grandes cantidades de energía como los procesos térmicos, asimismo se considera como un proceso económico ya que se puede implementar con pocas modificaciones a las instalaciones existentes en los campos petroleros. Hoy en día se está convirtiendo en una importante tecnología de producción mejorada con un gran potencial de explotación (Al-Sulaimani *et al.*, 2011).



CAPITULO 1. MARCO TEÓRICO

1.1 PANORAMA GENERAL

1.1.1 Importancia del petróleo

La sociedad moderna usa cada vez más energía para la industria, los servicios y el transporte. En este contexto, el petróleo se ha convertido en el producto primario principal del comercio mundial. El aceite crudo es uno de los recursos energéticos más importantes del mundo; es la materia prima sustancial para la fabricación de otros productos. Hay toda una gama de estos productos elaborados; muchos son para fines específicos, otros para las necesidades generales de calentamiento, y los derivados del petróleo se ocupan en muchos otros procesos químicos (Wolicka *et al.*, 2012).

El petróleo continúa siendo el recurso natural que aporta el mayor porcentaje del total de la energía que se consume en el mundo. De acuerdo con el BP Statistical Review (2013) del consumo de combustible a nivel mundial, el aceite crudo fue el principal con el 33.1% del total. Su importancia no ha dejado de crecer desde sus primeras aplicaciones industriales a mediados del siglo XIX. Además, ha desempeñado un papel único en la economía y la historia de los países.

En México, el petróleo es un producto estratégico y ha sido determinante para la economía, la industria, el desarrollo tecnológico y las relaciones con otros países (Gil, 2008). En 2011, los ingresos petroleros aportaron 33.7% de los ingresos presupuestarios del sector público (SENER, 2012).

1.1.2 Producción mundial y nacional de petróleo

El mapa energético mundial está cambiando debido al aumento de la producción de petróleo y gas principalmente en Estados Unidos y en otras partes del mundo. En 2012, la producción mundial de petróleo crudo fue de 86.152 millones de barriles diarios (MMbd), 2.2% mayor respecto a 2011. El principal productor de aceite fue Arabia Saudita, su producción correspondió al 13.3% del total mundial. La Federación Rusa se ubicó como el segundo mayor productor de petróleo aportando 12.8% de la producción mundial. Estados Unidos fue el tercer país productor del mundo, con 9.6% y México se colocó en el séptimo lugar con 3.5% del total (BP Statistical Review 2013). En la Fig. 1.1 se presenta la producción de petróleo en millones de barriles diarios.

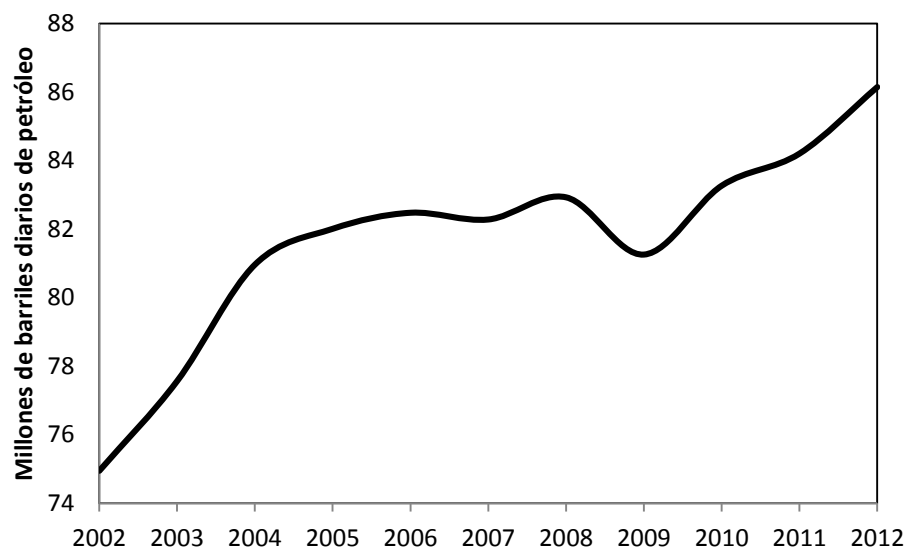


Figura. 1.1 Producción mundial de petróleo. Elaboración propia con información del BP Statistical Review, 2013.

El aumento de la producción de petróleo a lo largo de los últimos años se debe a los avances tecnológicos como la perforación horizontal y el fracturamiento hidráulico. Lo anterior ha sido importante para aprovechar las reservas existentes en campos maduros y marginales. Este aumento de producción, también se ha atribuido

a la explotación de recursos provenientes de fuentes no convencionales y al petróleo obtenido por métodos EOR (Adams, 2012).

El comportamiento de la producción de aceite en México es diferente comparado con el que ocurre en el mundo. Como se puede observar en la Fig. 1.2, después de alcanzar un máximo de 3.38 MMbpd en 2004, el volumen producido ha ido disminuyendo cada año debido a la declinación de la producción de Cantarell.

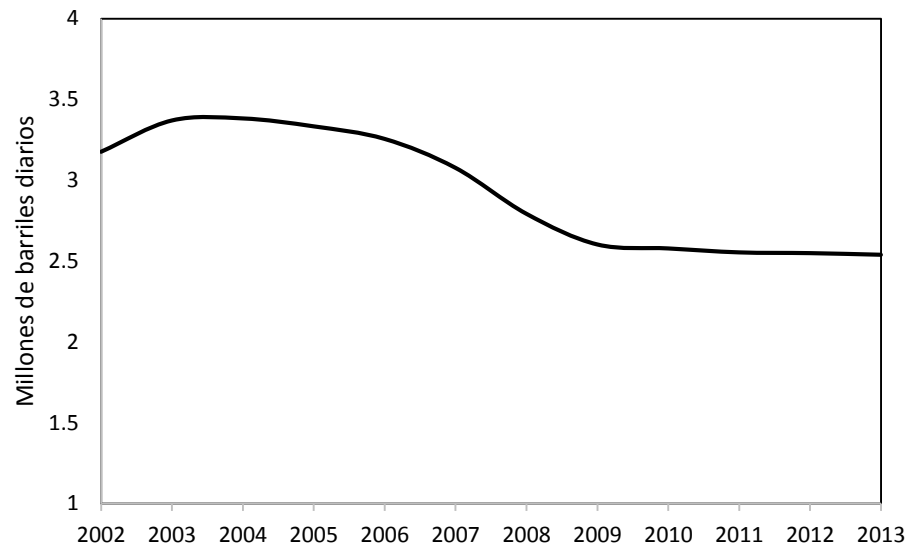


Figura. 1.2 Producción de petróleo en México. Elaboración propia con información de la Comisión Nacional de Hidrocarburos.

En México y en todo el mundo, el número de campos maduros seguirá creciendo y cada año más campos excederán su pico de producción (Sheldon *et al.*, 2008). Los operadores trabajan para optimizar la recuperación de estos campos y acceder al recurso remanente.

1.1.3 Perspectiva de la demanda mundial y nacional de petróleo

Se han realizado diferentes estimaciones de la demanda mundial de los hidrocarburos a largo plazo. En este trabajo se presenta la perspectiva realizada por la OPEP al 2035. Para la mayor parte del periodo de proyección, el petróleo continuará siendo el energético de mayor demanda. En 2035 la demanda mundial de petróleo ascenderá a 109.7 MMbd. (World Oil Outlook OPEC, 2011), como se puede observar en la Fig. 1.3. Los países con economías en desarrollo serán un importante impulso para el crecimiento de la demanda mundial de crudo. Se estima que estos países registrarán una tasa de crecimiento promedio superior a 2.2 % anual (World Oil Outlook OPEC, 2011).

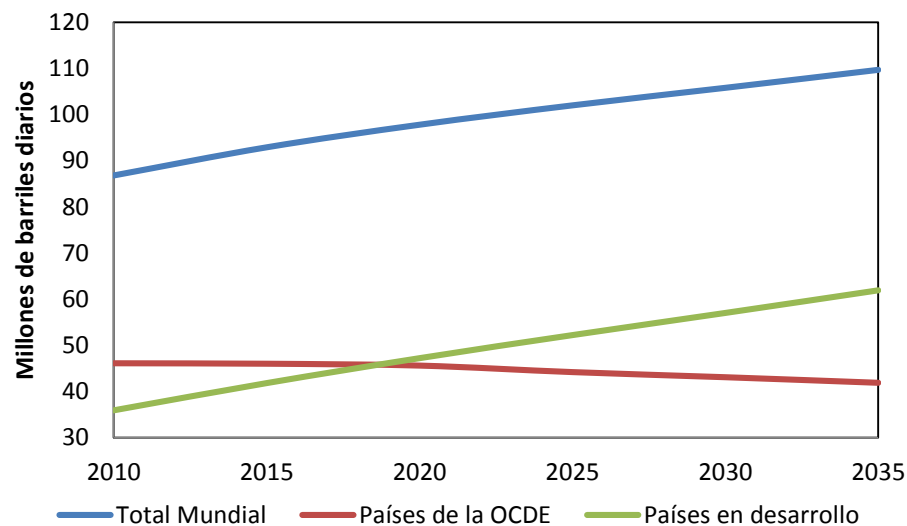


Figura. 1.3 Prospectiva de la demanda mundial de petróleo al 2035. Elaboración propia con información del World Oil Outlook OPEC, 2011.

En el caso de México, la SENER realizó un pronóstico de la demanda de petróleo al 2026. Se prevé el desarrollo inmediato de los nuevos descubrimientos así como de reservas ya identificadas; adicionalmente se considera la implementación de un programa de recuperación mejorada. En la Fig. 1.4 se presenta el comportamiento de la demanda de petróleo del año 2012 al 2026.

Como se ha observado en las Fig. 1.3 y 1.4, cada vez será mayor la necesidad de producir más crudo. A esto se agrega la disminución de los descubrimientos de petróleo en las últimas décadas y los altos precios del crudo. Por lo anterior, la mayoría de las compañías petroleras han invertido en importantes programas para desarrollar nuevas tecnologías. Estos programas han dado lugar al crecimiento de las tecnologías de recuperación mejorada de petróleo (EOR) que se espera desempeñarán un papel clave para satisfacer la demanda de energía en los próximos años (Alvarado *et al.*, 2010).

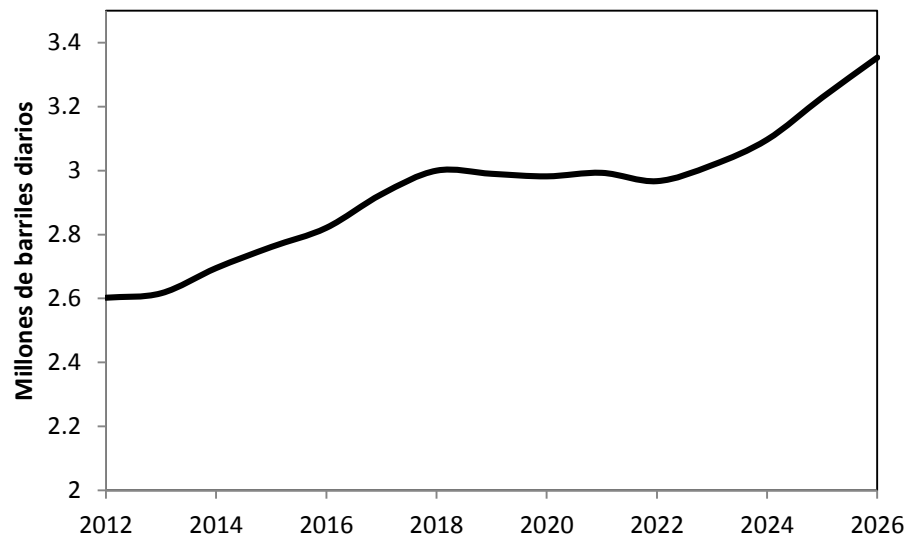


Figura 1.4. Prospectiva de la demanda nacional de petróleo. Elaboración propia con información de la Secretaría de Energía, 2012.

1.2 MÉTODOS DE RECUPERACIÓN DE HIDROCARBUROS

Las operaciones de recuperación de aceite, tradicionalmente se han subdividido en tres etapas: primaria, secundaria y terciaria o mejorada. Históricamente, estas etapas describen la producción de un yacimiento en sentido cronológico. Sin embargo, es una



consideración inconveniente si se toma en cuenta que en muchos yacimientos, las operaciones de producción no siguen este orden debido a las características de la roca y de sus fluidos (Green *et al.*, 1998).

1.2.1 Recuperación primaria

La producción inicial de hidrocarburos de un yacimiento, se efectúa por la energía natural de yacimiento. Este tipo de producción se denomina producción primaria. Depende de la energía interna y de las características de la roca del yacimiento además de las propiedades de los fluidos. El petróleo y el gas se desplazan hacia los pozos productores bajo producción primaria mediante alguno o la combinación de los mecanismos de producción siguientes:

- Expansión del sistema roca-fluidos
- Empuje por gas disuelto liberado
- Empuje por casquete de gas
- Drene gravitacional
- Empuje hidráulico

En muchos yacimientos pudieran simultáneamente operar varios mecanismos de producción, pero generalmente predomina uno o dos. Durante la vida del yacimiento el índice de empuje puede cambiar de un mecanismo a otro, ya sea natural o artificialmente (Escobar, 2010).

La presión inicial del yacimiento suele ser suficientemente alta para elevar el aceite hasta la superficie, pero a medida que avanza la producción de petróleo, la presión del yacimiento se agota hasta un punto en el que se requiere levantamiento artificial o bombeo para mantener la producción de petróleo (Rashedi *et al.*, 2012).



1.2.2 Recuperación secundaria

Cuando la energía natural del yacimiento se ha agotado y es insuficiente para elevar los fluidos del fondo a la superficie, es necesario incrementar la energía con una fuente externa. La inyección de gas o agua al yacimiento se llama producción secundaria. El propósito principal ya sea de un gas o del agua, es aumentar y mantener la presión del yacimiento (Cruz *et al.*, 2005).

Cuando se utiliza el gas como medio para el mantenimiento de la presión, por lo general se inyecta en una zona de gas libre (casquete de gas) para maximizar la recuperación mediante el drenaje por gravedad. El gas inyectado es comúnmente gas natural producido de un yacimiento. Otros gases como el nitrógeno, pueden inyectarse para mantener la presión del yacimiento (Brito, 2011).

Por medio de la inyección de agua, se recupera el aceite por el movimiento del agua a través del yacimiento que empuja al aceite. La eficiencia de recuperación por inyección de agua es en gran medida una función de la eficiencia de barrido del flujo y de la relación de las viscosidades del agua y aceite. Las heterogeneidades en la roca conducen a eficiencias de barrido bajas. Cuando el agua inyectada es mucho menos viscosa que el petróleo que va a desplazar, el avance del frente de desplazamiento del agua deja de ser uniforme y el fluido desplazante avanza más rápidamente en unas partes que en otras o podría canalizarse a través del yacimiento. Esto puede provocar que se queden cantidades significativas de aceite residual y lograr menores eficiencias de recuperación (Terry, 2010).

1.2.3 Recuperación mejorada (Métodos EOR)

Con las técnicas de recuperación de aceite mencionadas anteriormente, una gran cantidad de aceite permanece en el yacimiento después de la recuperación primaria y secundaria (Rashedi *et al.*, 2012). En muchos casos, las reservas de petróleo deben abandonarse porque la producción ya no es económicamente factible (Sidsel, 2010). Por lo anterior, la atención se centra en la etapa de recuperación de aceite, que se denomina recuperación mejorada de petróleo o Enhanced Oil Recovery (EOR), para



la recuperación de más petróleo de los yacimientos existentes y en muchas ocasiones abandonados.

Los procesos de recuperación mejorada de petróleo se refieren, en general, a cualquier proceso que permita extraer volúmenes de aceite que normalmente no se podrían obtener por los métodos convencionales de recuperación (primaria y secundaria). Asimismo, los procesos EOR interactúan con las propiedades del sistema roca-fluidos originales para crear condiciones favorables para la recuperación de aceite. (Terry, 2001).

La recuperación de petróleo es un reto porque el aceite remanente frecuentemente se encuentra en las regiones del yacimiento que son de difícil acceso y el aceite se mantiene en los poros debido a la presión capilar (Khire *et al.*, 1994). El efecto de las fuerzas capilares en la retención de aceite dentro de los poros de la roca del yacimiento es normalmente caracterizado por el uso de un número adimensional, el número capilar. El número capilar se define como la relación entre las fuerzas viscosas y las fuerzas de capilaridad, como se expresa en la ecuación siguiente (Sen, 2008):

$$N_{cap} = \frac{\text{Fuerzas viscosas}}{\text{Fuerzas capilares}} = \frac{v \mu}{\sigma \cos \theta}, \quad (1.1)$$

donde v y μ son la velocidad y la viscosidad del fluido desplazante, respectivamente, σ es la tensión interfacial agua-aceite y θ es el ángulo de contacto. Cuanto mayor sea el número capilar, menor es la saturación de petróleo residual en el depósito y por lo tanto mayor es el aceite recuperado (Xu, 2005).

La mayoría de los proyectos comienzan con la selección de los candidatos para los métodos EOR, en función de parámetros de campo tales como temperatura, presión, salinidad y composición del petróleo. Las técnicas EOR que pasan la selección inicial se evalúan posteriormente con estudios de laboratorio de la roca y los fluidos, y de estudios de simulación que utilizan las propiedades del campo. Si las pruebas de laboratorio proporcionan resultados positivos, el operador puede efectuar



a continuación pruebas a nivel de campo. La elección de un método de recuperación mejorada es mejor si se basa en un estudio detallado para cada campo específico. Dado que la mayoría de las técnicas EOR involucran componentes físicos complejos, el yacimiento debe caracterizarse en muchos niveles (Al-Mjeni *et al.*, 2011).

Utilizando la nomenclatura adoptada por la revista *Oil and Gas Journal*, los procesos EOR se dividen en cuatro categorías: térmicos, gases, químicos y otros. Los cuales se definen básicamente por la naturaleza de su fluido inyectado. (Lake *et al.*, 2008). La Fig. 1.5 resume los procesos principales dentro de cada categoría. Como se aprecia, dentro de los métodos de recuperación mejorada se encuentran: químicos, térmicos, gases y otros, como el método microbiano.

Métodos Químicos

En estos procesos, los productos químicos se añaden al agua de desplazamiento con el fin de cambiar las propiedades físico-químicas del agua y el aceite en contacto haciendo el proceso de desplazamiento más efectivo (Rashedi *et al.*, 2012).

Se invade al yacimiento con químicos como:

- Surfactantes
- Polímeros
- Álcalis
- Espumas
- Geles

Métodos térmicos

El mecanismo de producción de los procesos térmicos consiste en añadir energía al yacimiento en forma de calor. La temperatura del aceite se eleva por lo que se expanden los fluidos y se reducen las viscosidades, aumentando la movilidad (Qadir, *et al* 2011). Entre los métodos térmicos se consideran:

- Inyección de agua caliente

- Inyección continua de vapor
- Inyección cíclica de vapor
- Inyección de vapor asistida por gravedad
- Combustión in-situ

Gases

En estos métodos, un solvente se mezcla por completo con el aceite remanente, así supera las fuerzas capilares e incrementa la movilidad del petróleo; los solventes utilizados son gas licuado de petróleo, nitrógeno, dióxido de carbono y gas combustible principalmente (Alvarado *et al.*, 2010).

Otros métodos

Existen otros métodos de recuperación que han sido poco desarrollados comparados con los anteriores, pero que tienen potencial en la recuperación de petróleo; entre ellos se encuentra el método de recuperación microbiano.

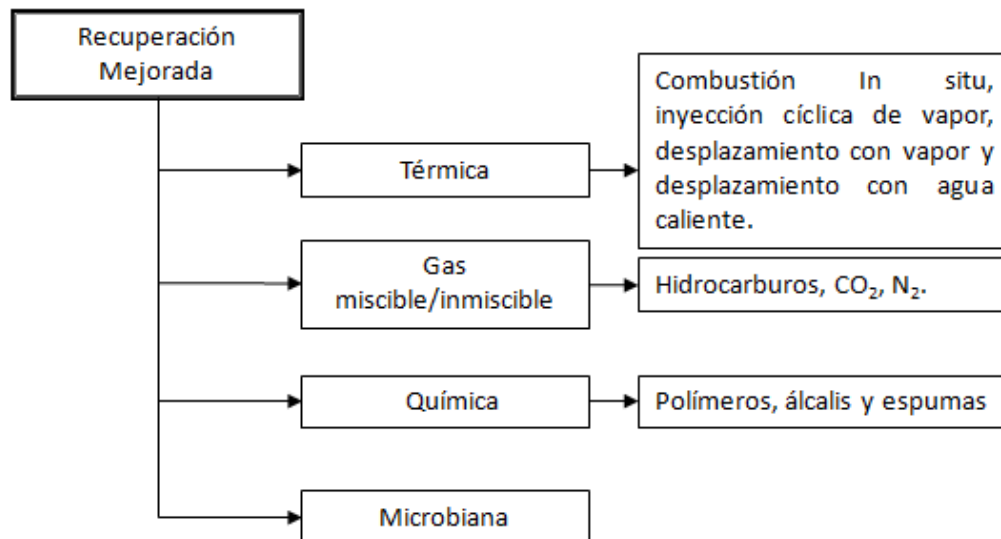


Figura. 1.5. Clasificación de los métodos de recuperación mejorada (Modificado de Ramírez, 2008).

1.2.4 Recuperación de aceites pesados

El petróleo pesado se define como un aceite que tiene una viscosidad a la temperatura original del yacimiento, mayor a 100 centipoise, o una densidad relativa API menor a 22.3°.

Gran parte de las reservas mundiales se encuentran en acumulaciones no convencionales, donde predominan yacimientos de aceite pesado y extra pesado. A medida que disminuye el suministro global de crudos livianos y medianos, los depósitos de crudos pesados cobran importancia.

En su mayor parte, México posee importantes reservas de petróleo pesado y hasta 2012 representaron más del 50% de las reservas totales del país, como se puede observar en la Fig. 1.6.

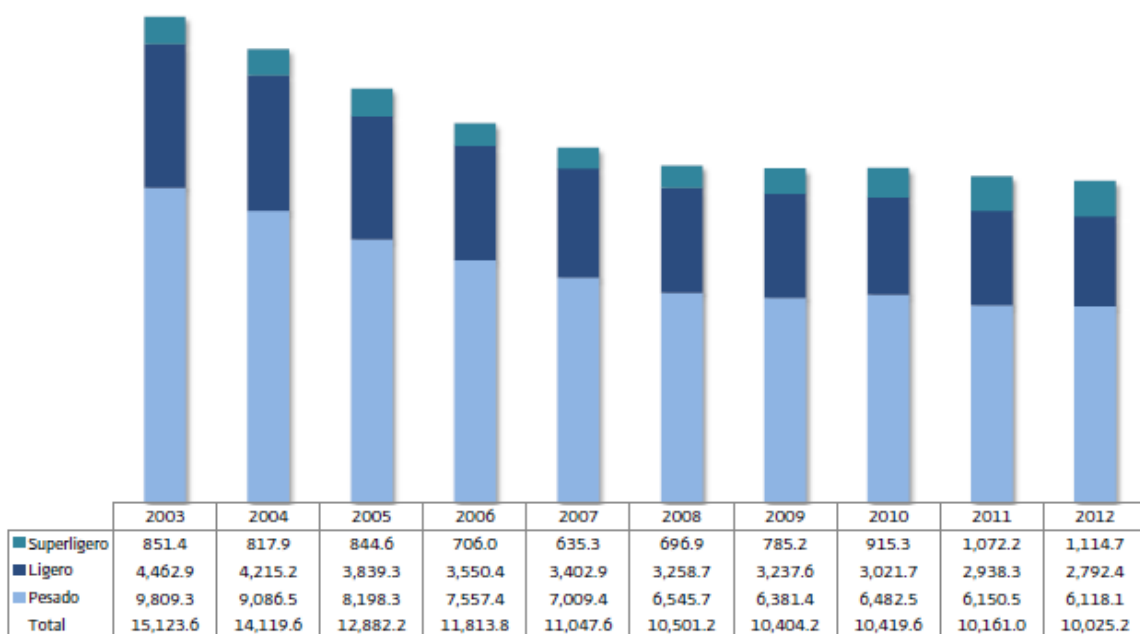


Figura. 1.6 Composición de las reservas probadas de aceite crudo por tipo, 2003-2012 (SENER, 2012).

En los próximos años, si no hay nuevos descubrimientos, la producción nacional de crudos pesados se incrementará sobre todo en México, Canadá, Venezuela y Brasil. Por los retos técnicos que representa la explotación de los aceites pesados, será necesario mejorar e incorporar más tecnologías de recuperación mejorada.



1.3 RECUPERACIÓN MICROBIANA DE PETRÓLEO

1.3.1 Descripción de la tecnología de MEOR

La recuperación mejorada microbiana de petróleo o Microbial Enhanced Oil Recovery (MEOR, por sus siglas en inglés) constituye el uso de microorganismos o sus productos para extraer el aceite remanente de los yacimientos. El aceite se queda atrapado en los poros capilares de la roca de la formación, o en zonas no barridas por otros métodos de recuperación (Lazar *et al.*, 2007). MEOR fue desarrollado como un método alternativo para la extracción de petróleo de los yacimientos.

En 1926, Beckman fue el primero en sugerir la inyección de microorganismos en los yacimientos con el fin de mejorar la recuperación de petróleo. Sin embargo, los primeros experimentos de laboratorio se llevaron a cabo veinte años después por ZoBell en 1946 (Sharma *et al.*, 1993). La primer prueba de MEOR a nivel campo se llevó a cabo en el campo Lisbon, en Arkansas E.U. en 1954 (Rashedi *et al.*, 2012).

1.3.2 Tipos de bacterias utilizadas en la recuperación

Existen diferentes tipos de microorganismos que han sido aislados e identificados de los yacimientos con fines de recuperación de petróleo. Youseef *et al.* (2009) presenta una clasificación de estos microorganismos.

- **Metanogénicos:** Estas bacterias metabolizan hidrógeno, CO₂, acetato, metilaminas y dimetilsulfuros, produciendo metano.
- **Reductores de sulfato:** Fueron los primeros microorganismos recolectados de los yacimientos de aceite.
- **Microorganismos fermentativos.** Muchos microorganismos de este grupo poseen doble habilidad fermentativa y metabólica, por lo que podrían utilizar ambas estrategias para su crecimiento *in situ*. Se han aislado un gran número



de microorganismos fermentativos de yacimientos de alta presión y alta temperatura.

- Otros microorganismos. En esta categoría se incluyen a los microorganismos hipertermófilos, capaces de tener actividad por arriba de los 90°C. Los autótrofos y los reductores de nitrato, hierro y manganeso.

Para fines prácticos, el yacimiento se considera como un ambiente anaerobio. Eso significa que los microorganismos con requerimientos aerobios no son adecuados para esta estrategia de MEOR. Los microorganismos anaerobios o facultativos (es decir, que crecen en presencia o ausencia de oxígeno), se consideran los más adaptados para la inyección en un yacimiento con fines de recuperación (Sharma *et al.*, 1993).

1.3.3 Productos producidos por los microorganismos

Los microorganismos producen una serie de productos que son potencialmente útiles para la recuperación de petróleo (Jack, 1991). En la Fig. 1.7 se presentan estos productos y el efecto que tienen en las propiedades de la roca y de los fluidos.

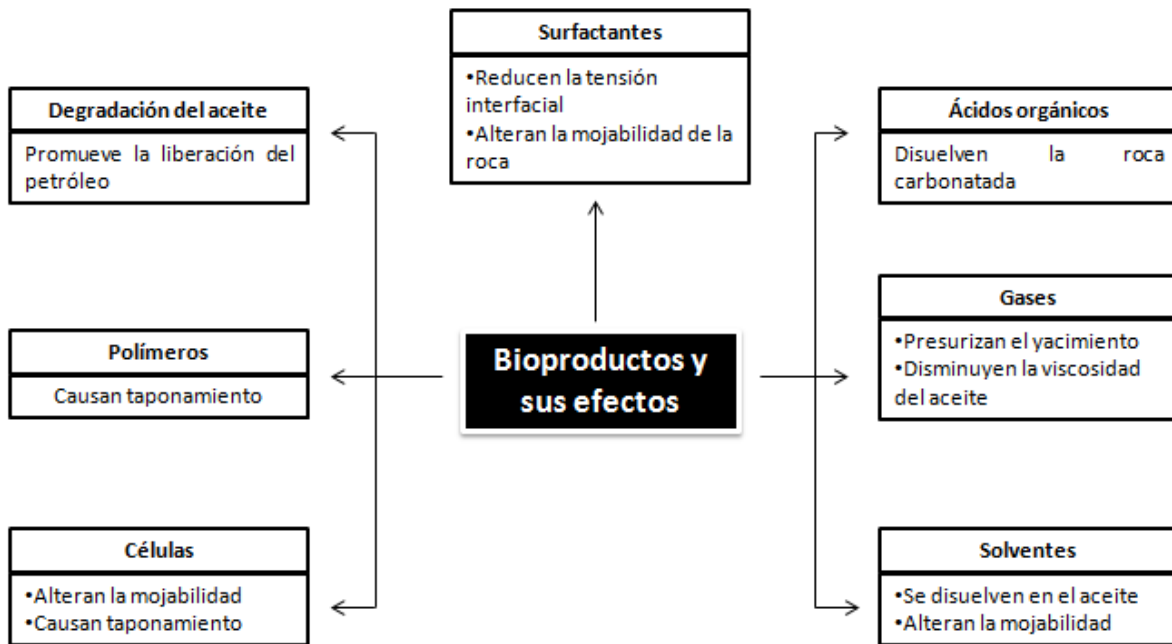


Figura 1.7 Productos y procesos que facilitan la recuperación de aceite en los yacimientos (Jack, 1991).

1.3.4 Mecanismos de MEOR que influyen en la recuperación de petróleo

Los bioproductos microbianos afectan el medio ambiente del yacimiento y las propiedades de flujo del aceite, por lo tanto facilitan su transporte (Sharma *et al.*, 2003). En la literatura se han propuesto diferentes mecanismos para explicar la recuperación de petróleo debido a la acción de los microorganismos o sus productos. A continuación se enlistan los mecanismos descritos por Armstrong *et al.*, (2012).

- ✓ Reducción de la tensión interfacial: Los microorganismos pueden facilitar la movilización de aceite a través de la producción de compuestos anfífilos, llamados biosurfactantes, que reducen la tensión interfacial (IFT) entre las fases inmiscibles.
- ✓ Cambio de mojabilidad: Los microorganismos pueden colonizar la roca del yacimiento y formar una biopelícula con propiedades de mojabilidad



significativamente diferentes que la roca del yacimiento; por lo tanto, la mojabilidad de la roca puede cambiar a un estado más mojado por agua o por aceite dependiendo de la naturaleza de la biopelícula.

- ✓ Taponamiento: La formación de la biomasa puede obstruir las trayectorias preferenciales del flujo y aumentar la eficiencia de barrido de un yacimiento o al desviar el flujo por rutas alternativas.
- ✓ Generación de gas: el metano, el dióxido de carbono u otros gases generados biológicamente pueden aumentar la presión de poro y/o disolverse en el aceite, reduciendo así la viscosidad del crudo.
- ✓ Degradación de hidrocarburos: Los microorganismos pueden utilizar petróleo crudo como fuente de carbono y reducir o, en algunos casos, aumentar la viscosidad del aceite.

Aunque los mecanismos microbianos para la recuperación de petróleo se describen de forma independiente, es muy probable que actúen de forma sinérgica en un mismo sistema (Youseef *et al.*, 2009).

1.3.5 Estrategias de aplicación de MEOR

Existen tres estrategias generales para la aplicación de MEOR (Youseef *et al.*, 2009):

A) Inyección de nutrientes para estimular los microorganismos autóctonos

La estrategia consiste en evaluar la presencia de microorganismos útiles para MEOR y adicionar nutrimentos para inducir el crecimiento y producción de metabolitos dentro del yacimiento.

B) Inyección de microorganismos exógenos y nutrientes

En este proceso se adicionan microorganismos exógenos al yacimiento conjuntamente con nutrientes. Los microorganismos deben ser capaces de crecer bajo las condiciones ambientales del yacimiento y en presencia de la población autóctona.



C) Inyección de productos producidos *ex situ* (Biosurfactantes o biopolímeros)
Algunos productos generados por los microorganismos como los biosurfactantes y biopolímeros pueden incrementar la recuperación. Estos productos biológicos se producirán en condiciones normales de presión y temperatura. En este caso sólo se inyecta al pozo el bioproducto de interés, el cual debe mantenerse estable a las condiciones del yacimiento.

1.3.6 Aplicaciones a nivel de campo

Las pruebas de campo sirven para determinar y documentar la eficacia de los procesos microbianos y para evaluar la validez de los estudios de laboratorio (Sen, 2008).

Desde la mitad de los años 50's, se han llevado a cabo numerosas pruebas en el Este de Europa, en Rusia, en Países Bajos y en Estados Unidos, principalmente (Sharma *et al.*, 1993). En la última década se han realizado más proyectos de MEOR a nivel campo en varias partes del mundo con diversos grados de éxito. La aplicación de MEOR se ha traducido en un aumento de la producción. Las diferencias en la recuperación de petróleo han sido afectadas por varios factores, incluyendo las características del yacimiento, como litología, la naturaleza de la roca, la porosidad, la permeabilidad, la temperatura y salinidad del yacimiento, la densidad del petróleo crudo, entre otros. Además de las condiciones de fondo de pozo y la naturaleza de las formaciones, la composición bacteriana y la concentración de los inóculos; su tiempo de adaptación y el tiempo de aplicación constituyen los factores principales que rigen en un proceso de MEOR (Bryant *et al.*, 2000).

Ahora ha aumentado la atención en el diseño de un proyecto de MEOR. Las pruebas realizadas en campo en los últimos años, han permitido evaluar la compatibilidad de MEOR con las condiciones del yacimiento y su habilidad para mejorar la recuperación de petróleo bajo estas condiciones. Han permitido analizar aspectos como los que a continuación se explican (Sharma *et al.*, 1993).



- A) Compatibilidad de los cultivos microbianos con los fluidos del yacimiento. Se ha podido investigar la compatibilidad de los microorganismos con el agua inyectada, el agua producida, los nutrientes, el aceite y la roca del yacimiento.
- B) Compatibilidad con los microorganismos autóctonos. Se han llevado a cabo inyecciones en un solo pozo, para verificar la habilidad de algunas bacterias para competir exitosamente con la flora microbiana autóctona.

En estudios de MEOR, la información de las especies que componen un consorcio microbiano en un yacimiento es importante, porque proporciona una comprensión de las capacidades metabólicas de los grupos microbianos en condiciones ambientales específicas (Hernández *et al.*, 2013). Por la razón anterior, se destaca la relevancia que tienen los estudios que identifican las bacterias que habitan en los yacimientos. En México, se han realizado estudios para identificar algunas de las bacterias que habitan en yacimientos ubicados en Veracruz (Castorena *et al.*, 2011; Hernández *et al.*, 2013). En un estudio realizado por Hernández *et al.*, (2013) se examinó el crecimiento y la producción de CO₂ de cultivos microbianos recolectados de un yacimiento de Chicontepec. Como resultado, se identificaron y seleccionaron dos cultivos de bacterias como candidatos potenciales para utilizarse en estudios futuros de MEOR.

Como ya se mencionó, las características de un yacimiento son factores importantes para determinar si un método MEOR es aplicable o no. Portwood, (1995) recopiló y analizó la información recabada de 322 proyectos realizados en Estados Unidos, en los que se llevó a cabo un proceso con MEOR. La información se organizó por rangos de características del yacimiento, como litología, porosidad y permeabilidad, además de propiedades del crudo como su densidad.

En la Fig. 1.8 se muestra que aproximadamente 73 % de los proyectos de MEOR se realizaron en yacimientos de arenas y solo el 27 % en yacimientos carbonatados.

■ Yacimientos de arenas ■ Yacimientos de carbonatos

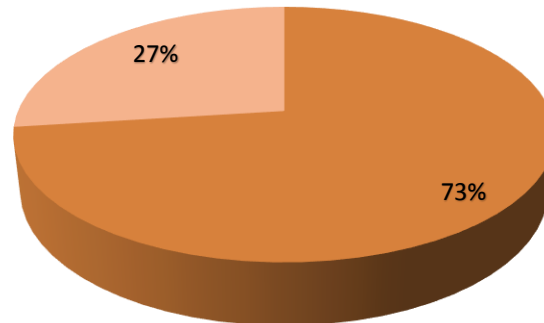


Figura 1.8 Total de proyectos evaluados respecto a la litología del yacimiento (Portwood, 1995).

En la Figura 1.9 se presenta la información de los proyectos y se observa que con un aumento de la porosidad, el porcentaje de aceite incremental disminuye. Sin embargo, hay que señalar que, incluso en el rango más alto de porosidad, el promedio de aumento gradual de la producción de petróleo ha sido casi un 20%; por lo tanto, no se considera como un factor limitante.

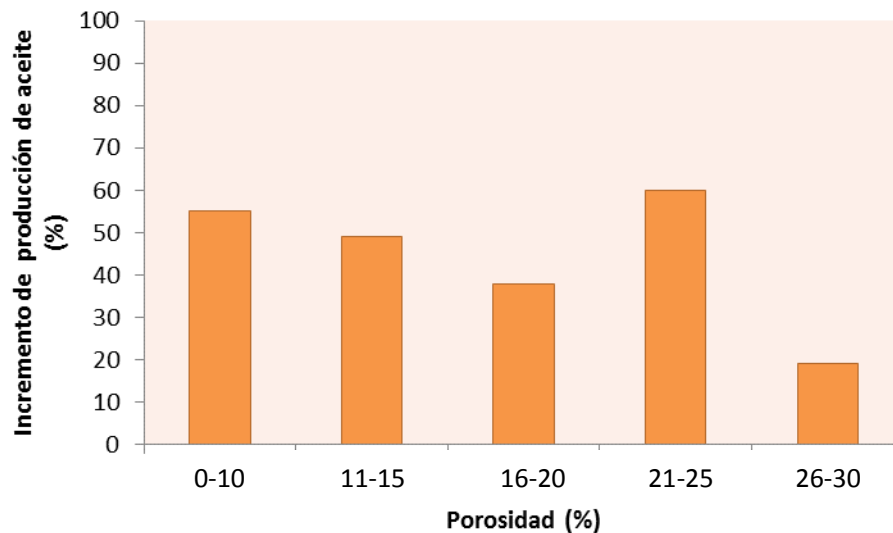


Figura 1.9 Porcentaje de aceite incremental con respecto a la porosidad.

En la Figura 1.10 se ilustra que a medida que aumenta la permeabilidad del yacimiento, el porcentaje de aceite incremental también aumenta. Esta observación es general, con excepción de los yacimientos que presentaron un promedio de permeabilidad arriba de 501 md. De los 322 proyectos evaluados, sólo tres se realizaron en yacimientos con una permeabilidad de más de 501 md, es posible que el promedio bajo presentado en este rango se deba a una falta de datos. El promedio bajo observado en este rango también puede indicar que, debido a la alta permeabilidad, un gran porcentaje del aceite original ya se había recuperado, lo que deja poco a recuperar con tecnologías EOR (Portwood, 1995).

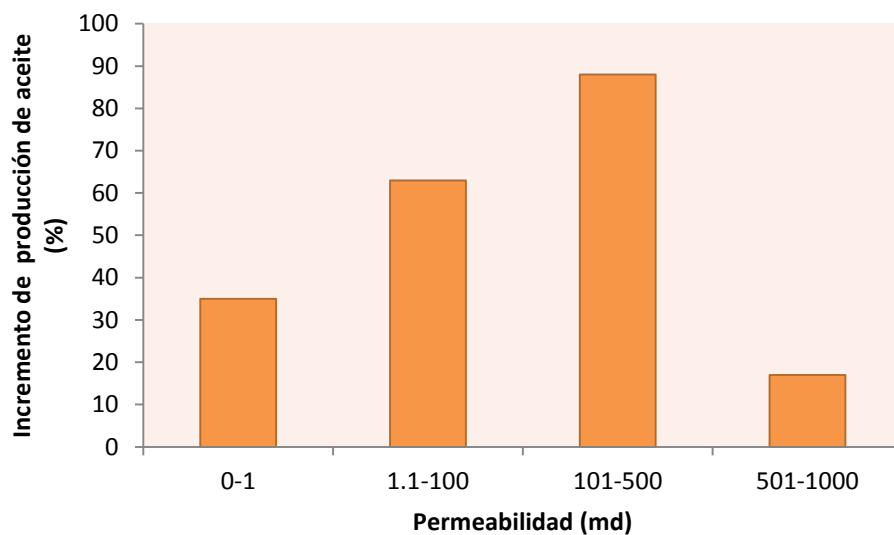


Figura 1.10 Porcentaje incremental de aceite con respecto a la permeabilidad.

La Figura 1.11 sugiere que de entre los 322 proyectos evaluados, a medida que la densidad del aceite disminuye, el aumento en la producción de aceite que se puede esperar de MEOR también se incrementa, aunque no se considera que exista una relación directa. No se registraron proyectos en los que el crudo haya sido menor a 20°API.

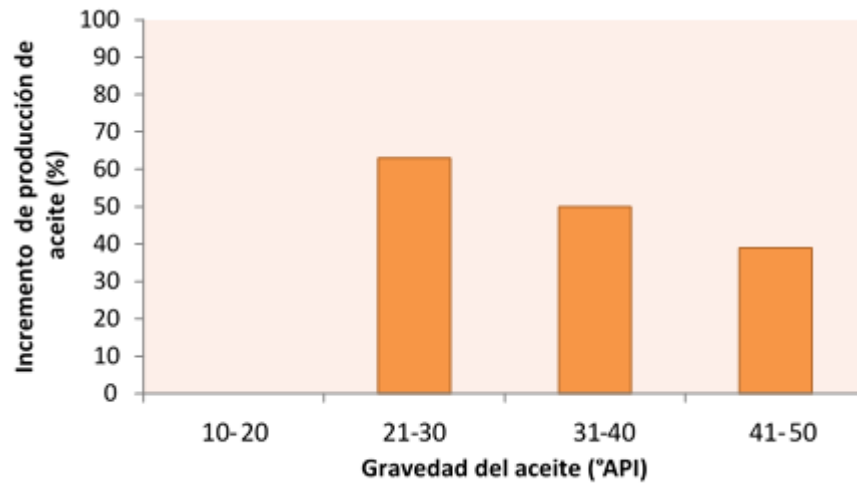


Figura 1.11 Porcentaje incremental de aceite con respecto a la gravedad API.

Los datos mostrados anteriormente corresponden a proyectos llevados a cabo en Estados Unidos.

También se han realizado pruebas de MEOR a nivel campo en diferentes países en años más recientes. En la Tabla 1.1 se muestran algunos datos de proyectos realizados con microorganismos. Destaca el interés por evaluar MEOR en campos petroleros de China, además de que la mayoría de los proyectos se han realizado en yacimientos de arenas y con crudos medianos y ligeros. Por lo anterior, es conveniente realizar más pruebas para ampliar el rango de aplicabilidad de ésta estrategia de recuperación.



Tabla 1.1 Características de proyectos de MEOR a nivel campo.

Campo, país	Φ (%)	k (md)	$^{\circ}$API	T $^{\circ}$C	Presión (psi)	Tipo de formación	Tipo de microorganismo	Año	Referencia
Eunice Monument, EU.	9.4	13	32	32.2	150	Dolomitas	Anaerobios	1997	(Lee et al., 1998)
Piedras Coloradas, Argentina	16	120	32	82	1023	Arenas	Anaerobios	1997	(Maure et al., 1999)
Vizcacheras, Argentina	25	1000	29	92	2130	Arenas	Anaerobios	1999	(Strappa et al., 2004)
Fuyu, China	25	240	31	28	572	Arenas	Aerobios	2000	(Nagase et al., 2002)
Dagang, China	33	1902	15.8	60	N/A	Arenas	Fermentativas, reductoras de sulfato, metanogénicas	2000	(Nazina et al., 2006)
Bokor, Malasia	15-32	50-4000	19-22	48	N/A	Arenas	Aerobias y anaerobias	2000	(Ghazali et al., 2001)



1.3.6 Ventajas y desventajas de MEOR

MEOR puede ofrecer ventajas significativas en comparación con otros métodos EOR (ver Tabla 1.2). Sin embargo, se deben resolver otros problemas técnicos antes de considerarse una tecnología ampliamente aplicable (Sharma *et al.*, 1993).

Tabla 1.2 Ventajas y desventajas de MEOR (Wolicka, 2012; Lazar *et al.*, 2007).

Ventajas	Desventajas
Menor consumo de energía.	El método no es aplicable a todos los yacimientos.
Los productos de los microorganismos son biodegradables y por lo tanto amigables con el medio ambiente.	Taponamiento de la roca del yacimiento por la masa bacteriana en lugares no deseados.
Menores costos que provienen del hecho de que después de la introducción de los microorganismos en el yacimiento, su crecimiento aumenta de forma exponencial; por lo tanto, es posible obtener una gran cantidad de productos a partir de un pequeño volumen inicial de material orgánico.	Ciertos metales que se encuentran en el yacimiento como el cromo, el níquel y el zinc, son tóxicos para los microorganismos en altas concentraciones.
Las bacterias inyectadas y sus nutrientes son baratos y fáciles de obtener y manejar en campo.	Los microorganismos sulfato reductores producen H_2S y SO_2 , causando biocorrosión del equipo y contaminación de los acuíferos (Pwaga <i>et al.</i> , 2010), por lo que debe controlarse la población de este tipo de microorganismos.
La aplicación del proceso necesita modificaciones menores a las instalaciones existentes del campo.	



JUSTIFICACIÓN

Con la actual demanda de hidrocarburos en el mundo, sus precios altos y una declinación constante de la producción de la mayoría de los yacimientos, la atención de la industria petrolera se está desplazando hacia otras técnicas de explotación. Por estas razones es que las compañías buscan desarrollar métodos de recuperación mejorada, como una alternativa para incrementar la recuperación de hidrocarburos. Las regiones petroleras de México tienen muchos campos maduros que han sido explotados por recuperación secundaria, y en casos excepcionales se ha probado la recuperación mejorada.

La recuperación mejorada microbiana de petróleo (MEOR) es una tecnología biológica. Los microorganismos sintetizan un gran número de productos (ácidos, solventes, gases, biosurfactantes), que tienen un uso potencial para la recuperación de petróleo porque favorecen su movilidad en el yacimiento; adicionalmente, algunos estudios han demostrado la aplicación potencial de este método porque ofrece importantes ventajas frente a los métodos convencionales, no requiere de grandes instalaciones superficiales para su implementación y los bioproductos obtenidos por los microorganismos no contaminan el ambiente; sin embargo, es necesario realizar las pruebas a nivel laboratorio para evaluar su viabilidad.

HIPÓTESIS

Los microorganismos anaerobios extremófilos pueden producir metabolitos, que mejoran la recuperación de hidrocarburo mediano y pesado en medios porosos.



OBJETIVOS

Objetivo general. Evaluar la actividad microbiana de microorganismos anaerobios extremófilos como alternativa para aumentar la recuperación de hidrocarburos en medios porosos a nivel de laboratorio.

Objetivos particulares

- Evidenciar la producción de biosurfactantes del cultivo de microorganismos extremófilos anaerobios.
- Determinar el efecto del tipo de roca en la recuperación de hidrocarburo con microorganismos en medios porosos a nivel laboratorio.
- Determinar la concentración de carbono y de nitrógeno de un medio de cultivo que permita mayor producción de productos biológicos del cultivo de microorganismos.
- Evaluar la producción de biosurfactantes y gases que son útiles en la recuperación de hidrocarburo.
- Comparar el efecto de los microorganismos y sus metabolitos en la recuperación de hidrocarburos medianos y pesados en columnas empacadas de arena.

CAPITULO 2. METODOLOGÍA

En este capítulo la metodología se divide en cuatro partes; en la primera se indican los microorganismos y los medios de cultivo que se emplearon en la experimentación; en la segunda el procedimiento empleado para la determinación de la producción de biosurfactantes; la tercera comprende los ensayos de recuperación de crudo a nivel de tubos de ensaye y en la cuarta las pruebas de recuperación en columnas empacadas de arena. En la Fig. 2.1 se muestra el esquema general de la experimentación.

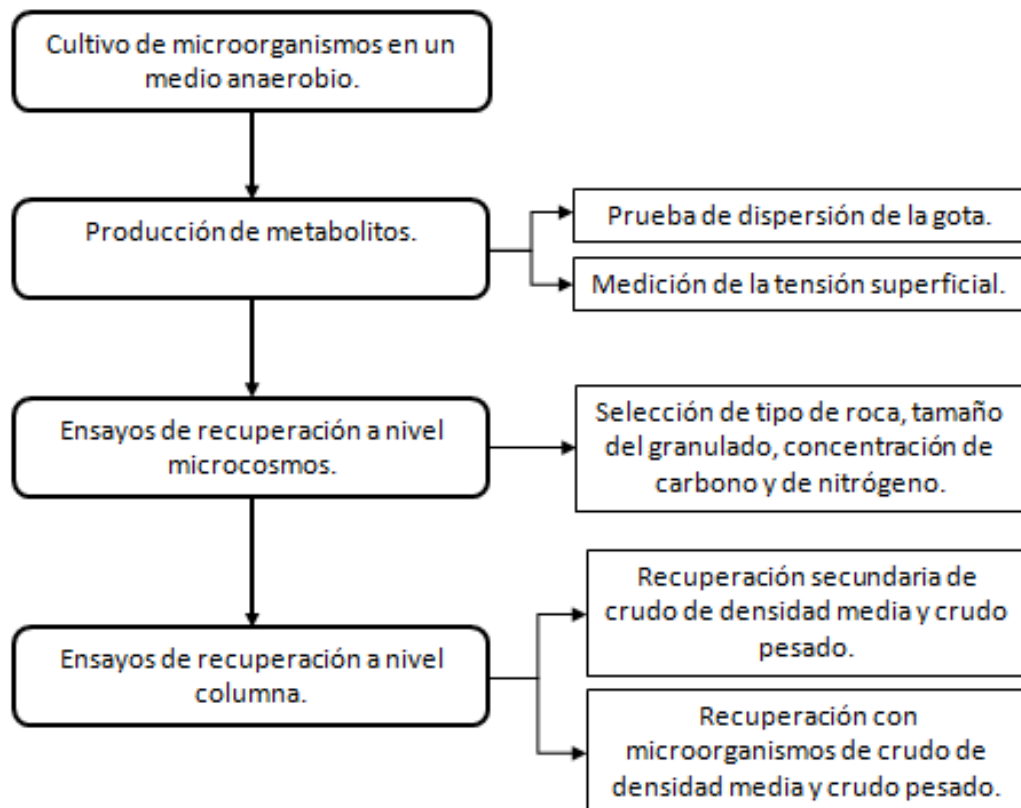


Figura 2.1 Diagrama general de la experimentación.



2.1 CULTIVO MICROBIANO

2.1.1 Microorganismos

El cultivo anaerobio de microorganismos se considera termófilo; fue obtenido de un yacimiento de aceite pesado ubicado en Veracruz.

2.1.2 Medio de cultivo

Para que las bacterias crezcan adecuadamente, sus condiciones de cultivo deben reunir una serie de requisitos, entre los que se encuentran: la temperatura, grado de acidez o alcalinidad, formulación de los nutrientes necesarios y ausencia de oxígeno cuando se trate de microorganismos anaerobios (Madigan *et al.*, 2009).

En la Tabla 2.1 se muestran los reactivos y las concentraciones que se utilizaron para la realización del medio de cultivo para microorganismos anaerobios.

Tabla 2.1 Reactivos y concentraciones del medio de cultivo para microorganismos anaerobios (Castorena *et al.*, 2012).

Compuesto	Fórmula	Concentración (g L ⁻¹)
Cloruro de sodio	NaCl	25
Fosfato de potasio dibásico	K ₂ HPO ₄	0.14
Cloruro de calcio dihidratado	CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.14
Cloruro de potasio	KCl	0.335
Extracto de levadura		2.0
Triptona peptona		2.0
Cisteína-HCl		0.5
Resazurina 0.1%		1 (mL/L)
Soluciones estándar y fuente de carbono		
Sulfuro de sodio al 2%	Na ₂ S·9H ₂ O	7.1 (mL/L)
Bicarbonato de calcio al 10%	CaCO ₃	7.1 (mL/L)
Melaza al 10%		100 (mL/L)

Para la preparación del medio de cultivo se utilizó agua anóxica y se conservó en atmósfera de N_2 para mantener la condición anaerobia (Fig.2.2). El medio se esterilizó en autoclave durante 15 minutos, a $121^\circ C$ y 15 lb/pg^2 de presión.

El medio base que se utiliza para el crecimiento de los microorganismos necesita presentar un pH neutro, el cual se consiguió al añadir soluciones estándar de sulfuro de sodio al 2% y bicarbonato de sodio al 10%.

Como fuente de carbono se utilizó melaza al 10%. La melaza es un producto residual que se obtiene de la refinación de la caña de azúcar. Se utiliza como fuente de carbono debido a su abundancia y precio bajo, comparado con otra materias disponibles y por su alto contenido de hidratos de carbono y minerales útiles para el crecimiento de los microorganismos (Ríos, 2008).

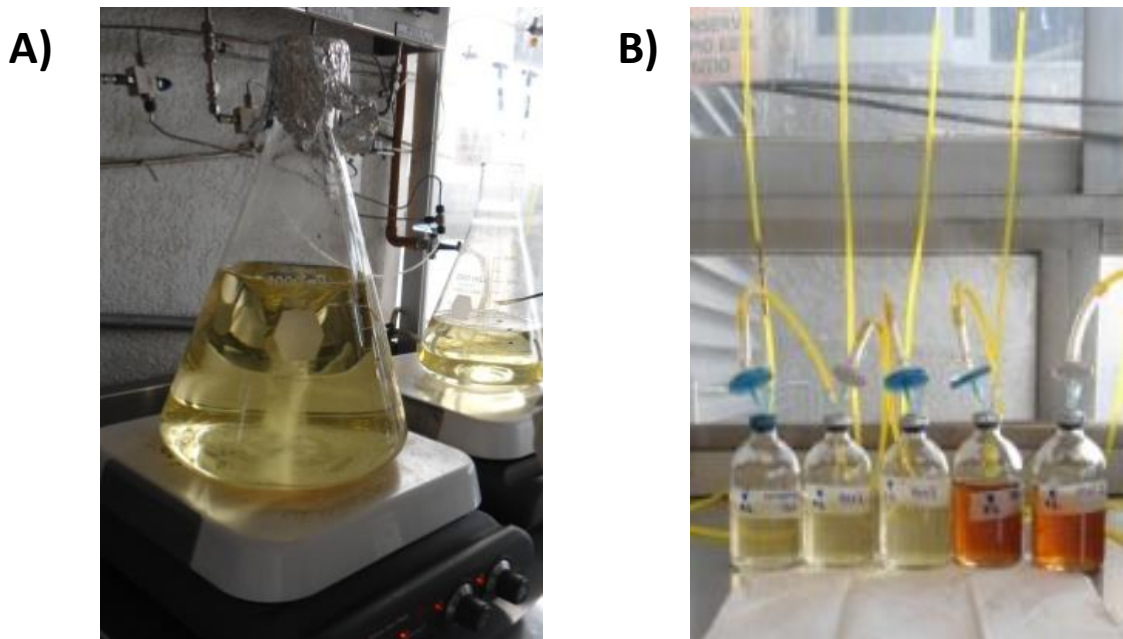


Figura 2.2 Fotografías de la preparación del medio de cultivo. (A) Medio de cultivo. (B) Botellas serológicas con medio de cultivo e intercambio de atmósfera.



2.2 PRODUCCIÓN DE BIOSURFACTANTE

Para evaluar la producción de biosurfactante, se utilizaron botellas serológicas con 50 mL de medio de cultivo, descrito en la parte 2.1.1 de este capítulo (Tabla 2.1). Se agregaron 0.7 mL de microorganismos en condiciones estériles y anóxicas. Los sistemas fueron incubados a 80°C y presión atmosférica, durante 5 días.

Se realizaron las pruebas de dispersión de la gota y medición de la tensión superficial para evaluar la producción de biosurfactante. La descripción de estos métodos analíticos se presenta al final de este capítulo.

2.3 ENSAYOS DE RECUPERACIÓN A NIVEL TUBO DE ENSAYE

2.3.1 Diseño experimental Taguchi

Se realizó un diseño experimental Taguchi para evaluar el efecto que tienen: el tipo de roca, el tamaño de grano, la concentración de carbono y de nitrógeno del medio de cultivo de los microorganismos, en la recuperación de un hidrocarburo pesado.

La metodología Taguchi para el diseño de experimentos, se utiliza con el propósito de identificar aquella combinación de factores que proporcione el mejor desempeño de los productos o procesos. Además sirve para reconocer la importancia relativa de los factores que influyen en el desempeño con el mínimo número de pruebas. Una característica de esta metodología son los arreglos ortogonales, los cuales son arreglos factoriales en los que se basa como medio para examinar simultáneamente varios factores (Cruz *et al.*, 2008).

El arreglo L9 del diseño experimental con cuatro factores (variables) a tres niveles se muestra en la Tabla 2.2.



Tabla 2.2 Diseño experimental Taguchi L9.

No. de tratamiento	Variables (4)			
	Tipo de granulado	Número de malla	Concentración de melaza (Fuente de Carbono)	Concentración de Cloruro de Amonio (Fuente de Nitrógeno)
1	1	1	1	1
2	1	2	2	2
3	1	3	3	3
4	2	1	2	3
5	2	2	3	1
6	2	3	1	2
7	3	1	3	2
8	3	2	1	3
9	3	3	2	1

Los 3 niveles de experimentación se presentan en la Tabla 2.3.

Tabla 2.3 Niveles del diseño experimental Taguchi L9.

Niveles	Tipo de granulado	Número de malla	Concentración de Melaza (Fuente de Carbono)	Concentración de Cloruro de amonio (g/L) (Fuente de Carbono)
1	Carbonato comercial	30	6 %	0.25
2	Arena de afloramiento	40	10 %	0.61
3	Arena comercial	50	20 %	3.8

Las pruebas se llevaron a cabo en tubos de ensaye por duplicado y se utilizaron como testigos sistemas con solución salina al 25% sin microorganismos. La concentración de sal proviene del medio de cultivo base (Ver Tabla 2.1) utilizado comúnmente con este consorcio microbiano (Castorena *et al.*, 2012).

El procedimiento para la realización de esta prueba se describe a continuación.



2.3.2 Lavado y mado del granulado

- 1.- Los diferentes tipos de granulado fueron: arena de afloramiento, arena comercial y carbonato comercial; se lavaron con agua destilada para dejarlos sin impurezas.
- 2.- Los granulados se secaron en un horno a 70°C, hasta que se eliminó la humedad contenida en la arena.
- 3.- Cada tipo de arena se tamizó con mallas número 30, 40 y 50.
- 4.- Se colocaron 6 gramos de cada granulado en tubos de ensaye.

2.3.3 Medición de la porosidad del sistema

- 1.- Se pesaron los tubos de ensaye con el granulado.
- 2.- Se agregó agua destilada hasta que llegó a la superficie de la arena.
- 3.- Nuevamente se pesaron los tubos para determinar la cantidad de agua que llenó el espacio poroso.

Se sabe que la porosidad coincide con el contenido de fluidos del medio poroso, en este caso agua. La porosidad del sistema se obtuvo relacionando el volumen que ocupa el granulado en el tubo de ensaye con la cantidad de agua absorbida, según la fórmula siguiente.

$$Porosidad (\%) = \frac{Volumen\ poros}{Volumen\ de\ la\ roca} \times 100 = \frac{Volumen\ de\ agua\ absorbida}{Volumen\ de\ la\ roca} \times 100 \quad (2.1)$$

Después de realizar las mediciones de porosidad, el granulado fue secado en un horno a 80°C durante 24 horas y colocado nuevamente en los tubos de ensaye.

2.3.4 Impregnación del granulado con hidrocarburo

Se utilizó un hidrocarburo pesado de 11.16 °API.



- 1.- Se pesaron los tubos de ensaye con los 6 gramos de granulado contenido en ellos.
- 2.- Se agregaron 3 mL de hidrocarburo a cada tubo de ensaye.
- 3.- Los tubos se sometieron a vacío durante 24 horas para eliminar el aire contenido en la arena y para que se impregnara la mayor cantidad de hidrocarburo en el granulado.
- 4.- Se limpió el hidrocarburo que quedó en las paredes de los tubos de ensaye y se pesaron nuevamente para estimar sólo la cantidad de hidrocarburo impregnado en la arena.
- 5.- Se taparon los tubos con un septo de hule y anillos de metal; se sellaron con teflón.

2.3.5 Medio de cultivo

Se utilizaron botellas serológicas con 50 mL de medio de cultivo, en la forma descrita en la parte 2.1.1 de este capítulo. Adicionalmente se añadió al medio cloruro de amonio (NH_4Cl) como fuente de nitrógeno y la melaza como fuente de carbono en diferentes concentraciones, según las Tablas 2.2 y 2.3.

De las botellas serológicas se tomaron 5 mL de medio de cultivo y se inyectaron en los tubos de ensaye en condiciones estériles.

2.3.6 Inoculación y condiciones de incubación

Se agregaron a los tubos de ensaye 0.5 mL de un cultivo de microorganismos termófilos como inóculo y se realizó intercambio de atmósfera con N_2 durante 5 minutos, para mantener condiciones anóxicas. Los tubos se incubaron a presión atmosférica a una temperatura de 80°C , durante 12 días. Generalmente el tiempo de incubación es 12 días debido a que en este lapso se consumen los nutrientes del medio de cultivo y los microorganismos dejan de reproducirse.

2.3.7 Medición de la recuperación

Al finalizar el experimento de recuperación, el hidrocarburo se liberó y se ubicó en la superficie del tubo; se cuantificó calculando el volumen que ocupaba en el tubo.

Asimismo, se obtuvieron los valores de recuperación debido a la acción de los microorganismos restando las cantidades de crudo que se obtuvieron en los sistemas

testigo. En la Fig. 2.3 se muestran fotografías la preparación de la prueba de recuperación realizada en tubos de ensaye.

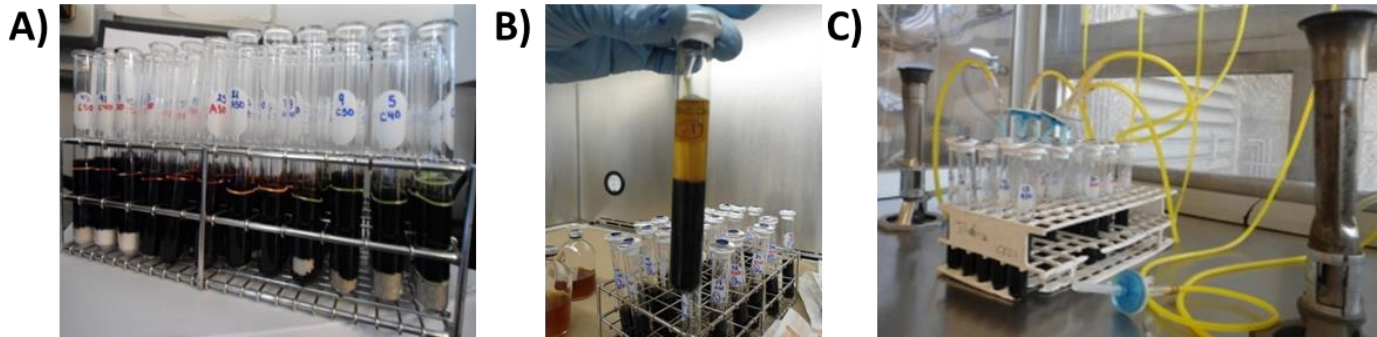


Figura 2.3 Fotografías de la prueba realizada en tubos de ensaye. (A) Impregnación de aceite en el granulado. (B) Tubo de ensaye con medio de cultivo y microorganismos. (C) Intercambio de atmósfera con N_2 .

2.3.8 Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico con los factores del diseño Taguchi y los resultados de recuperación de aceite. Se utilizó el software Statistica versión 8.

2.4 ENSAYOS DE RECUPERACIÓN A NIVEL COLUMNA

Los procedimientos que se describen a continuación fueron realizados de igual manera para la recuperación de crudo mediano así como la de crudo pesado

2.4.1 Construcción de las columnas de arena

Se utilizaron tres columnas de acrílico orientadas verticalmente, cuyas dimensiones se especifican en la Tabla 2.4.

Tabla 2.4 Dimensiones de las columnas de acrílico.

Columna	Diámetro externo [cm]	Diámetro interno [cm]	Longitud
A	6.66	5.85	29.3
B	6.69	5.72	29.8
C	6.67	5.84	29.3

En las pruebas de recuperación a nivel tubo de ensaye, se determinó que a esas condiciones el tipo de granulado que favoreció la recuperación de hidrocarburo fue la arena de afloramiento; sin embargo, se seleccionó la arena tipo comercial para las pruebas en columnas, debido a que no se contó con la cantidad suficiente de arena de afloramiento para realizar el siguiente experimento.

Se lavó la arena comercial y se dejó secar en un horno a 80°C durante 24 horas. Posteriormente se tamizó con mallas número 30, 40 y 50 y se colocaron 600 gramos de arena en cada columna.

Para evitar que la arena obstruyera la entrada y salida de los fluidos, se colocó en las columnas una base de esferas de acrílico y sobre ellas una malla metálica como sostén de la arena; adicionalmente se utilizó un difusor para lograr una mejor distribución de fluidos. El la Fig. 2.4 se muestra un esquema del arreglo interno de las columnas.

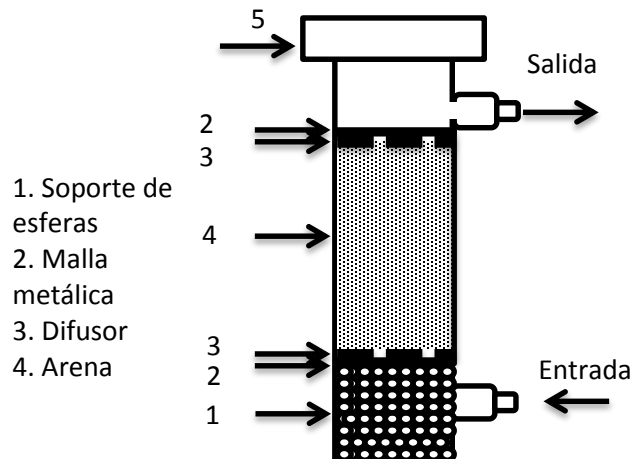


Figura 2.4 Esquema del arreglo utilizado en las columnas.



2.4.2 Medición de la porosidad

Se sabe que el volumen de poros está relacionado con el nivel de los fluidos en un medio poroso. Para determinar el valor de porosidad, se pesó la columna con la arena y sus accesorios. A continuación se inyectó agua destilada hasta el nivel de la válvula de salida. Se pesó nuevamente para determinar la cantidad de agua absorbida y por diferencia de pesos se calculó el volumen de agua.

2.4.3 Medición de la permeabilidad

Para el cálculo de la permeabilidad se utilizó el método descrito por Alireza et al. (2010). Se inyectó un volumen de agua destilada suficiente para medir el tiempo que tardó en llegar desde la entrada hasta la salida de la columna.

Los datos necesarios para el cálculo de esta propiedad se indican en la Tabla 2.5.

Tabla 2.5. Características del sistema para el cálculo de la permeabilidad.

Característica	Valor	Nomenclatura
Longitud de la columna de arena	0.14 m	<i>L</i>
Área transversal de la columna de arena	26.6 cm ²	<i>A</i>
Gasto de inyección de agua	50 mL/seg	<i>Q</i>
Viscosidad del agua	1.0020 cp @ 20°C	μ
Área transversal del contenedor del líquido de inyección	24.6 cm ²	<i>a</i>
Tiempo de inyección	269 segundos	<i>t</i>
Aceleración gravitacional	9.81 m/s ²	<i>g</i>
Altura inicial del volumen de líquido inyectado en el contenedor	0.513 m	<i>h0</i>
Altura final del volumen de líquido inyectado en el contenedor	0.48 m	<i>h1</i>

El valor de la permeabilidad se calculó con la siguiente fórmula:

$$k = 1.0133 \cdot 10^5 \frac{\alpha L \mu}{A t g \rho} \ln \left(\frac{h_0}{h_1} \right) \quad (2.2)$$

Después de realizar las mediciones de porosidad y permeabilidad, se extrajo la arena de las columnas y se introdujeron nuevamente 600 gramos de arena seca, limpia y tamizada, además de los accesorios antes mencionados.

2.4.4 Impregnación con aceite

Se utilizaron un aceite de densidad de 31.8 °API y un aceite pesado de 11.6 °API. A continuación las columnas se impregnaron con 125 mL de crudo y se sometieron al vacío durante 5 horas para extraer el aire y saturar el sistema con hidrocarburo.

En la Fig. 2.5 se observa la impregnación de las columnas con hidrocarburo.



Figura 2.5. Impregnación de columnas.



2.4.5 Recuperación secundaria con inyección de agua

Se efectuó la inyección de salmuera en las tres columnas como método de recuperación secundaria. Se inyectó solución salina al 25%, a un flujo de 48 mL/h y se detuvo en el momento en que ya no fluía más aceite del sistema.

Después del procedimiento, la cantidad de aceite residual que quedó en las columnas se determinó volumétricamente.

2.4.6 Recuperación de aceite utilizando microorganismos

Se realizó intercambio de atmósfera con N₂ para asegurar condiciones anóxicas dentro de las columnas. Se utilizó el medio de cultivo descrito en la parte 2.1.1 de este capítulo, con la concentración 5 g/L de carbono y 0.25 g/L. de nitrógeno del medio de cultivo, seleccionadas de acuerdo con los resultados de la prueba de recuperación a nivel tubo de ensaye.

Se saturaron dos columnas con medio de cultivo, microorganismos y melaza en condiciones estériles y atmósfera libre de oxígeno. Como sistema de control, se utilizó la tercera columna, en la que se inyectó salmuera al 25%. El flujo de inyección fue de 60 mL/h.

Se incubó en un horno a 80°C durante 12 días. Se realizaron tres inyecciones con microorganismos, cada una de dos volúmenes porosos. La cantidad de inyecciones se determinó con base en los experimentos reportados en la literatura que utilizan sistemas de columnas empacadas de arena.

2.4.7 Medición de la recuperación de aceite

El aceite liberado durante las pruebas de inyección secundaria y con microorganismos se recuperó en frascos, en los que se determinó su cantidad volumétricamente.

2.4.8 Medición de la presión

Como se mencionó anteriormente, la producción de gases está relacionada con la actividad microbiana. Al ser las columnas sistemas cerrados durante la incubación, un aumento en la producción de gases provocaría un incremento en la presión; que se

monitoreó diariamente en la columna A, la cual contaba con un dispositivo para su medición; se utilizó un manómetro marca Cole Parmer.

En la Fig. 2.6 se muestran fotografías de diferentes etapas de la prueba de recuperación realizada en columnas. En la Fig. 2.6 (A) se observan las columnas y los contenedores con solución salina colocados en el soporte universal. En la Fig. 2.6 (B) se aprecian las columnas conectadas a las mangueras de flujo de nitrógeno y a la izquierda la bomba utilizada para la inyección de los microorganismos. Finalmente, en la Fig. 2.6 (C) las columnas se encuentran en la estufa de incubación y cada una se encuentra conectada al frasco en el que se recuperó el aceite liberado.

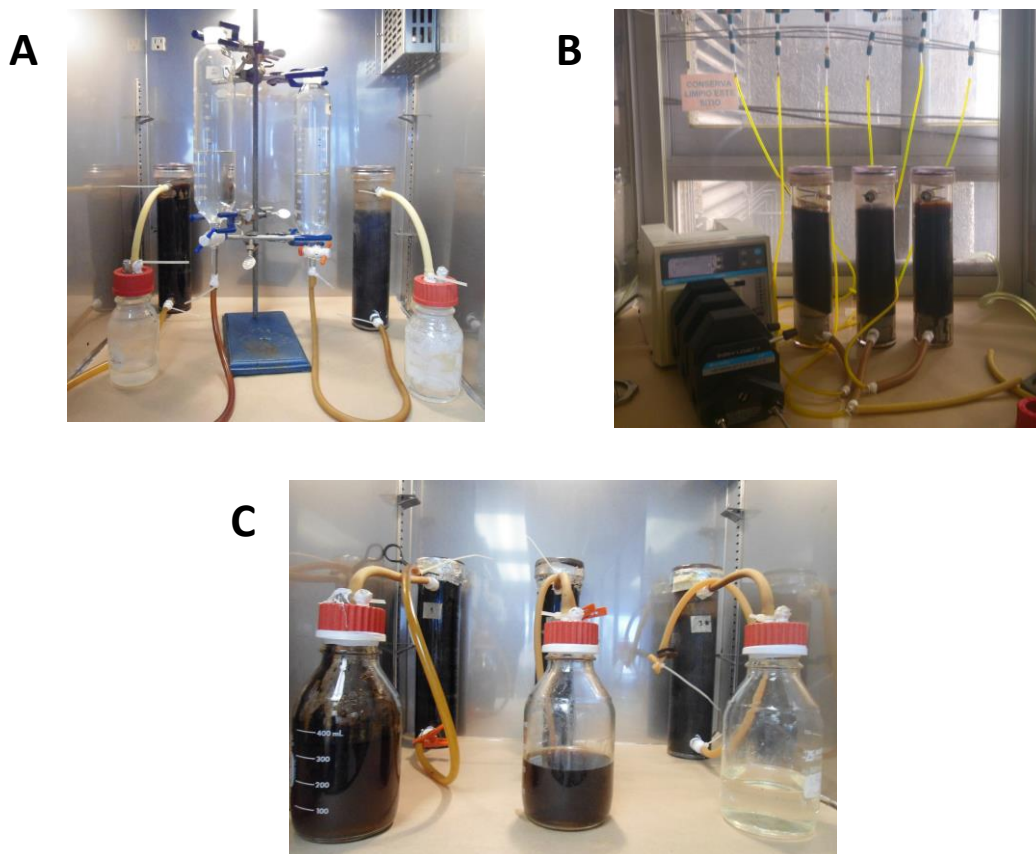


Figura 2.6. Fotografías de la prueba de recuperación de aceite en las columnas. (A) Etapa de recuperación secundaria con inyección de salmuera. (B) Inyección de medio de cultivo con microorganismos en las columnas. (C) Columnas en etapa de incubación.

2.5 MÉTODOS ANALÍTICOS

2.5.1 Dispersión de la gota

Con esta prueba se puede determinar de manera sencilla si un microorganismo produce biosurfactantes.

Para realizar la prueba, se utilizaron cajas petri con 40 mL de agua destilada. Se agregó una gota de hidrocarburo sobre su superficie para formar una capa delgada y con ayuda de una micropipeta, se adicionaron 40 μ L de sobrenadante del cultivo. Se observó el efecto del sobrenadante sobre la capa de hidrocarburo y se midió el halo formado (Bodour *et al.*, 1998).

Todos los ensayos se llevaron a cabo por triplicado, empleando medios salinos sin microorganismos como sistemas testigos.

En la Fig. 2.7 se muestra una fotografía del hidrocarburo utilizado para realizar la prueba de la gota, además de la dispersión del crudo al entrar en contacto con el agua destilada de la caja petri.



Figura 2.7 Dispersión del aceite en el agua destilada para realizar la prueba de la gota.

2.5.2 Medición de la tensión superficial

En este método se determina la fuerza necesaria para separar un anillo de la superficie de un líquido. La fuerza necesaria para separar el anillo de la superficie del líquido se suministra mediante un hilo de torsión, y se registra en dinas sobre un dial calibrado. La fuerza necesaria para despegarlo está relacionada con la tensión superficial o interfacial (Drelich, *et al.*, 2002).

Para realizar las mediciones de la tensión superficial, se utilizó un Tensiómetro Du Nouy modelo 70545, como se puede observar en la Fig. 2.8. El tensiómetro está constituido por un alambre de acero (a) fijo por uno de sus extremos a una pieza metálica accionada por tres tornillos (A, B y C), los cuales cumplen con las siguientes funciones: con un tornillo de desplazamiento grueso, se modifica la tensión del alambre y con el tercero se fija la posición que se ha conseguido con los anteriores. Estos tornillos permiten fijar el cero de la balanza. El otro extremo del alambre (a), asociado a un dial graduado (T), puede accionarse mediante el tornillo D. En la parte media del alambre (a) se halla una palanca liviana en cuyo extremo libre puede colgarse un platillo o un anillo de platino.

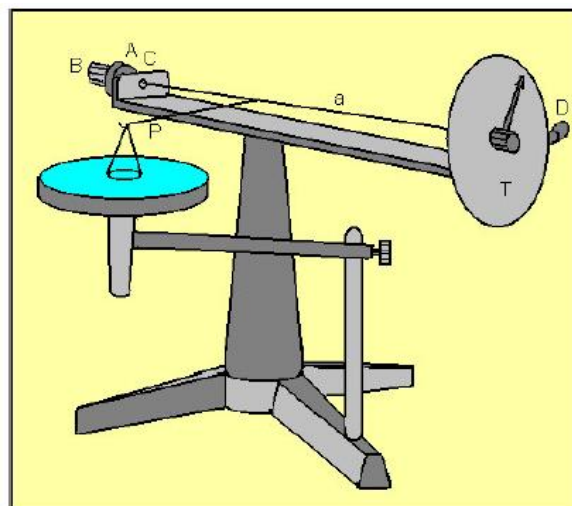


Figura 2.8. Diagrama del tensiómetro de DuNouy.



Bajo el anillo de platino, se colocaron cajas Petri de vidrio con una muestra del sobrenadante y se tomaron las lecturas. Los testigos fueron los medios de cultivo sin inóculo.

Una parte importante de esta prueba es la calibración del tensiómetro; se debe verificar el buen funcionamiento del equipo haciendo mediciones con agua destilada y correcciones por temperatura.

2.5.3 Cuantificación de gases

Una forma de determinar si los microorganismos tienen actividad metabólica, es mediante la cuantificación de la producción de gas del sistema; en esta prueba se midió la cantidad de gas producido.

Las condiciones del equipo fueron las siguientes:

- ✓ Temperatura de la columna: 22 °C
- ✓ Temperatura del inyector: 45 °C
- ✓ Temperatura del detector: 100 °C
- ✓ Gas conductor: Helio a un flujo de 65 mL min⁻¹
- ✓ Corriente: 125 mV

Se obtuvo una muestra de gas de 500 µL de los tubos de ensaye, la cual se inyectó directamente en el cromatógrafo.

Para el análisis de las muestras, el cromatógrafo de gases está conectado a un equipo de cómputo con el software Clarity Lite.



CAPITULO 3. ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1 PRODUCCIÓN DE BIOSURFACTANTE

Los microorganismos poseen la capacidad de sintetizar una gran variedad de productos siempre y cuando se les provean los nutrientes y las condiciones ambientales propicias. Entre estos productos se encuentran los biosurfactantes, cuyas aplicaciones incluyen la modificación de la mojabilidad y la reducción de la tensión superficial e interfacial, que pueden emplearse en la industria petrolera (Dehghan et al., 2009).

3.1.1 Dispersión de la gota

Se evaluó la producción de biosurfactantes por medio de la prueba de dispersión de la gota. La prueba se basa en el principio de que al caer líquido con biosurfactante sobre una capa de aceite, ésta se colapsa formando un halo sobre la superficie acuosa, debido a que el biosurfactante provoca que disminuya la fuerza interfacial entre el agua y el aceite. Ésta es una forma indirecta de evidenciar la presencia de biosurfactantes, existiendo una relación directa entre el diámetro del halo formado y la concentración de biosurfactante (Bodour *et al.*, 1998).

En la Fig. 3.1 se muestran los resultados obtenidos de la prueba de dispersión de la gota.

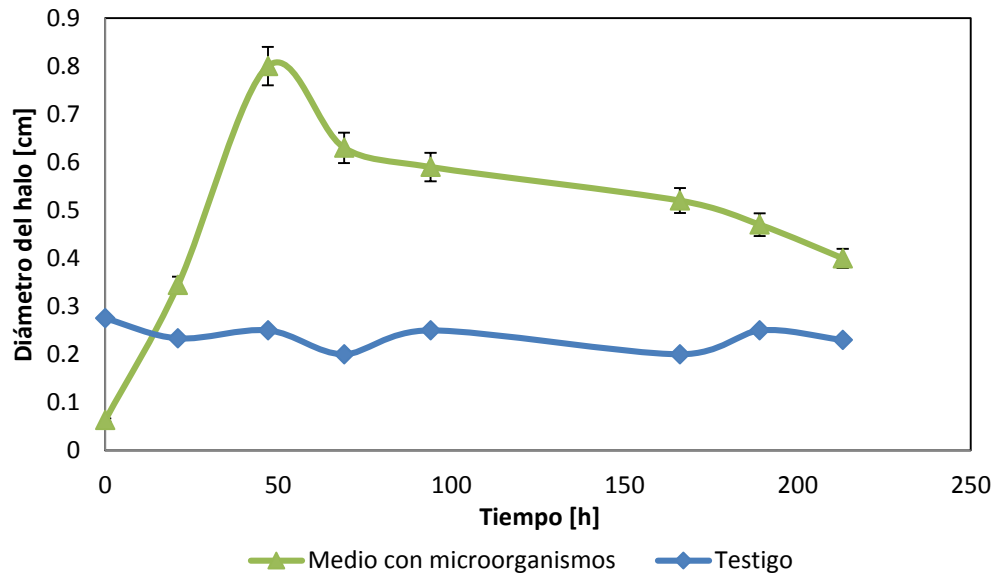


Figura 3.1 Diámetro de halo formado por el biosurfactante producido por el cultivo de microorganismos A7.

El máximo diámetro de dispersión de aceite fue de 0.8 cm y se obtuvo a las 48 horas. En los resultados se observa que después de alcanzar la producción máxima de biosurfactante, hubo una disminución de la producción, que se estabilizó después de las 60 horas. Esta disminución y estabilización de la producción de biosurfactante se atribuye a varias causas, que incluyen el agotamiento de la fuente de carbono y la degradación del biosurfactante. Además se evidenció la ausencia de biosurfactantes en el sistema testigo, debido a que no aumentó su halo de dispersión durante la prueba.

En la Fig. 3.2 (A) se muestra la fotografía de la caja Petri con agua y sobre ella la capa de aceite antes de realizarse la prueba de dispersión de la gota. La capa de aceite es uniforme porque las fuerzas interfaciales están en equilibrio. En la Fig. 3.2 (B) se muestran los halos formados en la superficie después de haberse realizado la prueba; la presencia de los biosurfactantes causa que disminuyan las fuerzas interfaciales, logrando dispersar la delgada capa de aceite (Walter *et al.*, 2010); en la parte izquierda de esta imagen se observan los halos que se obtuvieron de los medios

de cultivo con microorganismos y a la derecha se observan los halos formados por el medio de cultivo testigo.

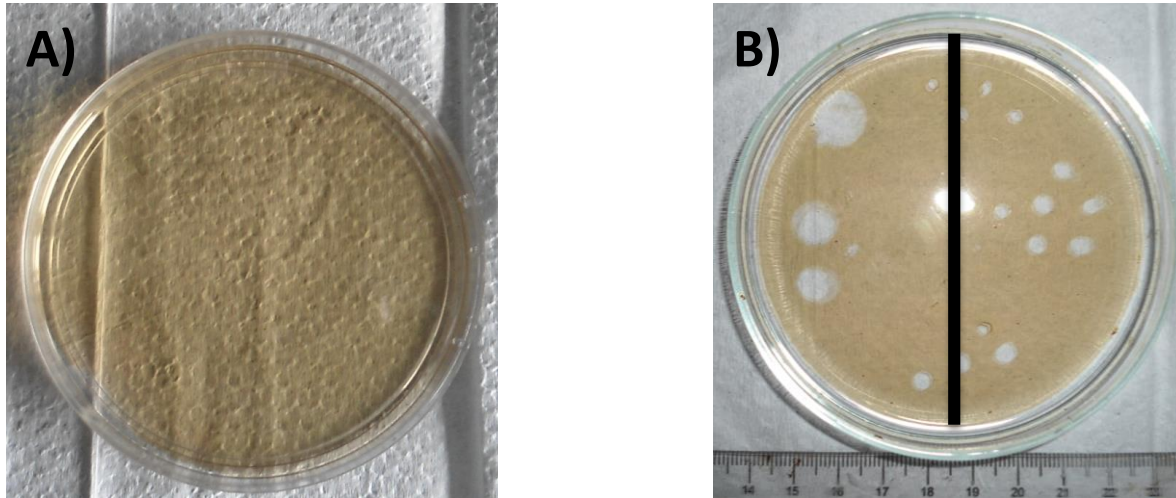


Figura 3.2 Fotografías de la prueba de dispersión de la gota. (A) Caja petri con agua y capa de aceite sin alteración; (B) Halos de dispersión formados por el biosurfactante.

Los resultados indican que este cultivo en presencia de hidrocarburo produce metabolitos, que reducen la tensión interfacial agua-aceite.

3.1.2 Medición de la tensión superficial

Con la técnica del Anillo de Du Nouy se evaluó la producción de biosurfactante; este producto metabólico reduce la tensión superficial de un líquido (Saharan *et al.* 2012).

En la Fig. 3.3 se muestran los valores de tensión superficial obtenidos.

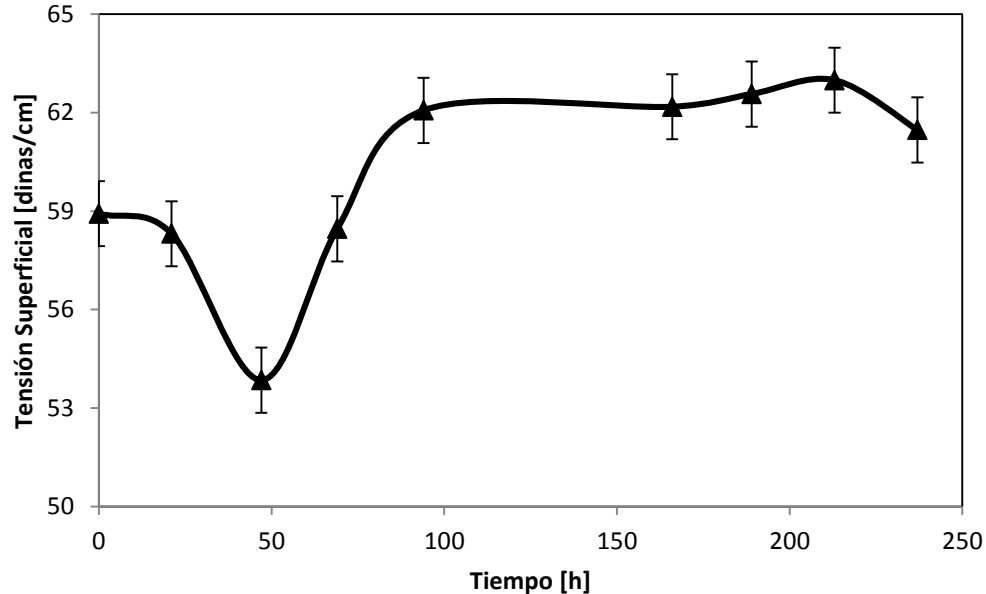


Figura 3.3 Evaluación de la tensión superficial como medida indirecta para determinar la producción de biosurfactante.

La mayor disminución de la tensión superficial se obtuvo a las 48 horas con un valor final de 53.8 dinas/cm, que coincide con el máximo diámetro de dispersión de aceite que fue de 0.8 cm y que se observa en la Fig. 3.1. Yakimov et al. (1995) reporta un valor mínimo de tensión superficial de 35 dinas/cm de un cultivo de microorganismos anaerobios; sin embargo, las bacterias se incubaron a temperaturas entre 40 y 45° C, condición menor a la que se realizó este experimento. Este consorcio de microorganismo ha registrado un valor mínimo de tensión superficial de 49 dinas/cm, a una temperatura de 70°C (Castorena *et al.*, 2012). A una temperatura de 80°C, a la que se realizó este experimento, se reporta una disminución de la tensión superficial, aunque no se alcanzan los valores mínimos obtenidos a temperaturas más bajas. Es importante considerar que muchos yacimientos petroleros poseen altas temperaturas (Clark *et al.* 1981). Este cultivo de microorganismos puede producir biosurfactantes aunque a altas temperaturas pueden ser afectados por la misma y podrían no tener el mismo efecto que presentan a temperaturas más bajas. Por esta razón es importante evaluar la termoestabilidad de los surfactantes.



3.3 MEDICIÓN DE LA RECUPERACIÓN DE UN HIDROCARBURO PESADO EN SISTEMAS GRANULADOS.

Los datos que se muestran a continuación se obtuvieron al medir la recuperación de un hidrocarburo pesado en sistemas granulados de carbonato y arenisca empacados en tubos de ensaye, esto permitió evaluar el efecto que tienen los siguientes factores como: tipo de roca, el tamaño de grano, la concentración de carbono y de nitrógeno del medio de cultivo de los microorganismos en la recuperación del hidrocarburo pesado.

En la Tabla 3.1 se reporta el porcentaje de recuperación de hidrocarburo de cada tratamiento. En la Fig. 3.4 se muestra la gráfica de la porosidad de los sistemas granulados.

Tabla 3.1 Porcentaje de recuperación de hidrocarburo de los tratamientos.

No. tratamiento	Variables				Recuperación de hidrocarburo (%)	Desviación estándar
	1 Tipo de roca	2 Tamaño de malla	3 Concentración de melaza (g/L)	4 Concentración NH ₄ Cl (g/L)		
1	Carbonato comercial	30	3	0.25	0	0
2	Carbonato comercial	40	5	0.61	10.20	1.52
3	Carbonato comercial	50	10	3.8	0	0
4	Arenisca afloramiento	30	5	3.8	17.64	1.64
5	Arenisca afloramiento	40	10	0.25	14.89	0.05
6	Arenisca afloramiento	50	3	0.61	9.44	1.45
7	Arenisca comercial	30	10	0.61	7.03	2.02
8	Arenisca comercial	40	3	3.8	2.07	1.26
9	Arenisca comercial	50	5	0.25	17.41	2.65

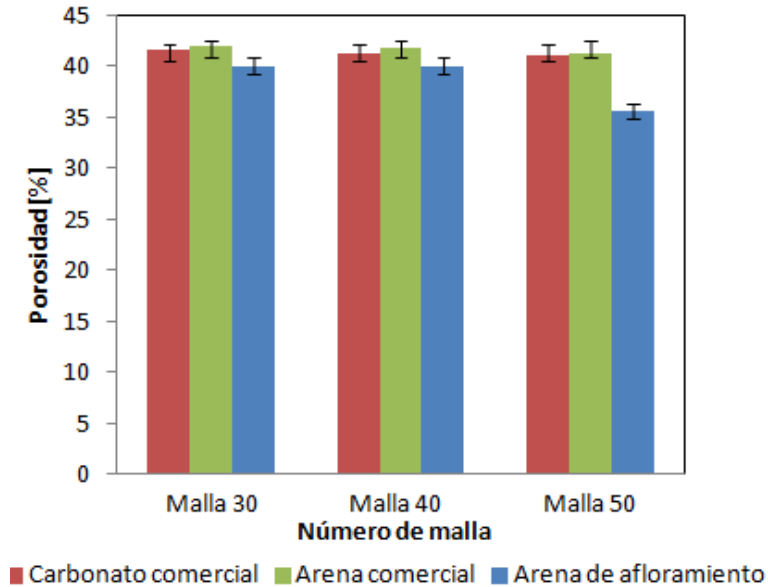


Figura 3.4. Porosidad de los sistemas granulados.

Con los datos obtenidos se realizó un análisis estadístico para poder observar el efecto que tiene cada factor del experimento en la recuperación de aceite, se presenta en la Tabla 3.2 el promedio y el efecto total de cada uno.

Tabla 3.2 Promedio y efecto total de cada parámetro.

Factor	Tipo de roca		Malla		Concentración de carbono		Concentración de nitrógeno	
	Total	Promedio	Total	Promedio	Total	Promedio	Total	Promedio
Nivel 1	10.20	3.40	24.67	8.22	11.51	3.84	32.30	10.77
Nivel 2	41.97	13.99	27.16	9.05	45.25	15.08	26.67	8.89
Nivel 3	26.51	8.84	26.85	8.95	21.92	7.31	19.71	6.57

Como se mostró en el análisis estadístico, la combinación que presentó la mayor recuperación fue la que corresponde al granulado arenisca de afloramiento de malla 40, con la concentración de carbono de 5 g/L y de nitrógeno de 0.25 g/L.

Los factores: tipo de roca, tamaño de grano, concentración de carbono y de nitrógeno, tienen un efecto en la recuperación de hidrocarburos, que puede calcularse. La gráfica del efecto de estos factores se muestra en la Fig. 3.5. Cada columna corresponde a un factor y la longitud vertical de la línea azul es proporcional al efecto que tiene el factor en la recuperación de aceite. Se puede observar que de los cuatro factores seleccionados en este experimento, el tipo de roca y la concentración de carbono tienen el efecto mayor en la recuperación de hidrocarburo, seguidos de la concentración de nitrógeno; también se observa que el tamaño de la malla no influye en la recuperación.

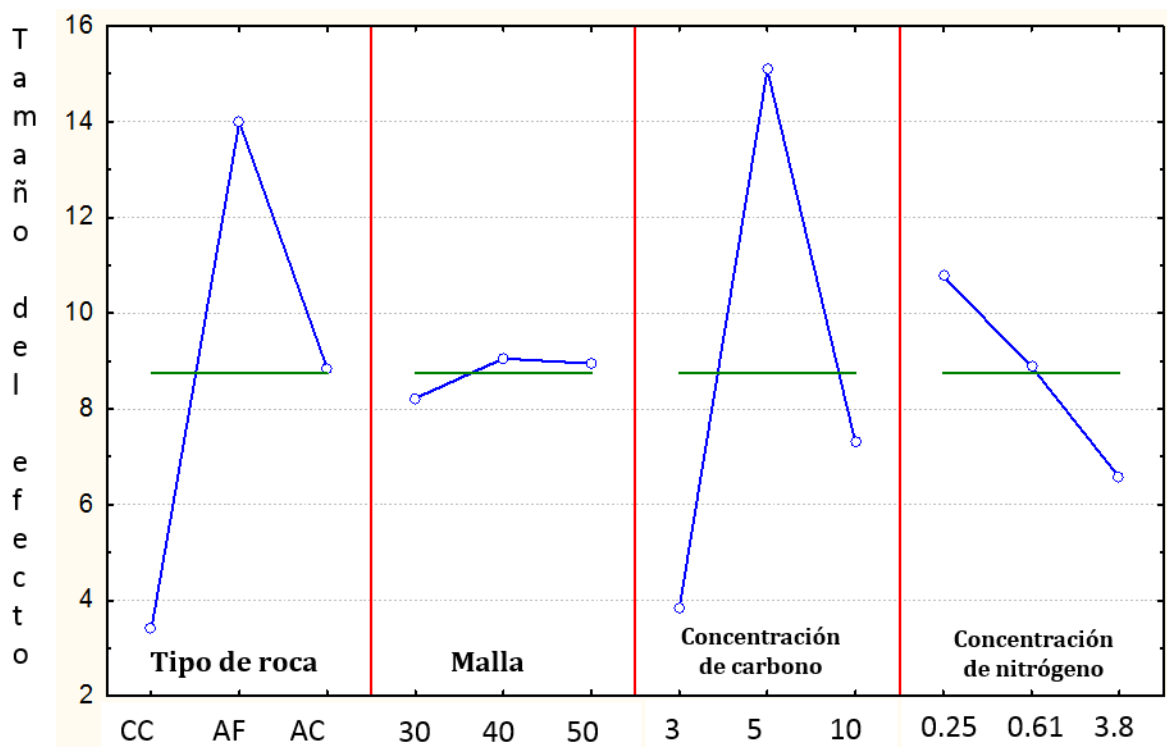


Figura 3.5 Cuantificación del efecto de cada factor en la recuperación de aceite.

CC= Carbonato Comercial

AF=Arena de afloramiento

AC =Arena Comercial

Al determinar los factores de mayor efecto, se recurrió a los modelos de superficies de respuesta, que se utilizan para modelar y analizar problemas en los que una variable de interés está afectada por otras. El objetivo es optimizar la variable de interés. Esto se logra al determinar las condiciones óptimas de operación del sistema.

Es de interés realizar el análisis de los factores de mayor efecto. De las variables estudiadas en este experimento, se realizaron combinaciones de los dos factores que incidieron más en la recuperación de aceite y que son: la concentración de carbono y el tipo de roca.

En la Fig. 3.6 se obtuvo la superficie de respuesta que tiene como variables la concentración de carbono y el tipo de roca, respectivamente, y como variable respuesta el porcentaje de recuperación de hidrocarburo. Ubicándonos en la zona más alta de la superficie, bajando en forma perpendicular al plano x-y, se encuentra que los valores que optimizan la recuperación son los que corresponden a la concentración de carbono de 5 g/L y roca tipo arena de afloramiento.

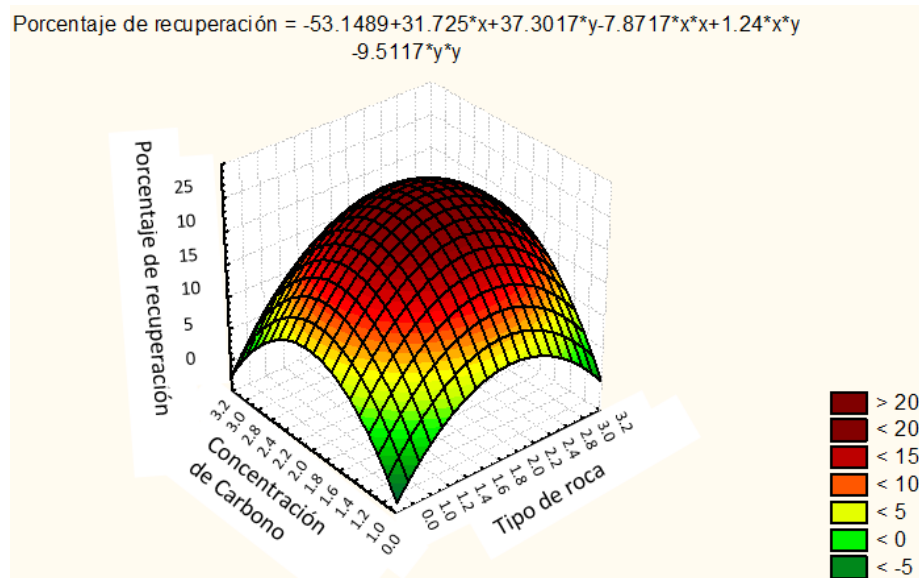
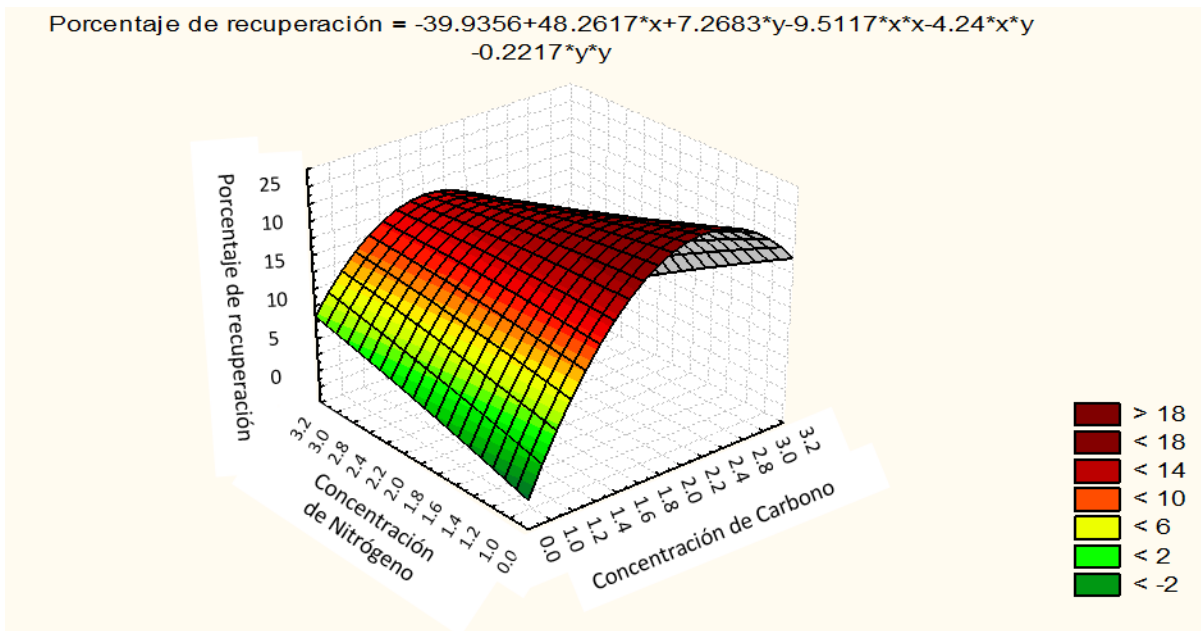


Figura 3.6 Superficie de respuesta de las variables concentración de carbono y tipo de roca.

En la Fig. 3.7 se muestra la superficie de respuesta de la concentración de carbono y la concentración de nitrógeno. Se observa que las combinaciones de

valores que optimizan la recuperación corresponden a las concentraciones de 0.25 g/L nitrógeno y concentraciones de 5 g/L de carbono.



De acuerdo con los resultados, a continuación se analiza la importancia de los factores en la recuperación de aceite.

3.2.1 Importancia de los factores analizados en la recuperación de hidrocarburos

- **Tipo de roca**

La litología de los yacimientos es una de las consideraciones de selección de los métodos de recuperación mejorada de petróleo, que a menudo limita la aplicación de métodos específicos de EOR (Alvarado *et al.*, 2010). Se requieren estudios a nivel laboratorio que se centren en la comprensión de las interacciones entre los



componentes del petróleo y los minerales de la roca de la formación en presencia de salmuera; también la interacción aceite-roca-microorganismos debe estudiarse para recomendar formas para mejorar la recuperación de petróleo.

Según los resultados de la Tabla 3.1, se observa que los sistemas con mayor recuperación de aceite fueron los de arenisca. Aunque los sistemas control también tuvieron recuperación, en todos los casos fue menor que la registrada en los que contenían microorganismos. También es evidente que los sistemas de tipo carbonato comercial no lograron la recuperación que se obtuvo en los de arenisca de afloramiento, ni en los de arenisca comercial. Existen diferentes mecanismos que pueden explicar la recuperación de aceite y cuando se analiza un experimento de MEOR a escala de laboratorio, con frecuencia es difícil adjudicar la recuperación adicional a un mecanismo único, ya que estos no ocurren de manera independiente (Armstrong *et al.*, 2012). Sin embargo, un mecanismo que puede explicar la diferencia de recuperación entre los carbonatos y las areniscas es la mojabilidad, que se define como la tendencia de un fluido a adherirse a una superficie sólida en presencia de otros fluidos inmiscibles (Algarni *et al.*, 2008); ésta no es simplemente una propiedad de la roca del yacimiento; su importancia práctica es la influencia que tiene sobre la recuperación de aceite. Las evaluaciones obtenidas para la mojabilidad muestran que la mayoría de los yacimientos carbonatados son mojados por aceite o de mojabilidad mixta (Legens *et al.*, 1998). Por otra parte, los yacimientos de arenisca son generalmente mojados por agua (Abulrazag *et al.*, 2003). Se sabe que la recuperación de petróleo es mayor en rocas mojables por agua porque provoca un desplazamiento de aceite más eficiente (Norman, 1990). Los resultados obtenidos en experimentos de laboratorio indican que los métodos microbianos son más efectivos para la recuperación de aceite bajo sistemas preferentemente mojables por agua, como las areniscas (Armstrong *et al.*, 2011).

El crecimiento de bacterias puede alterar la mojabilidad del sistema, un sistema inicialmente mojado por aceite puede resultar en condiciones de mayormente mojado por agua (Kowalewski *et al.*, 2006). La adhesión bacteriana a la superficie de la roca, la formación de biopelículas y la acción de los biosurfactantes en la reducción de la



tensión interfacial, son los mecanismos propuestos de alteración de la mojabilidad durante los procesos de MEOR (Karimi *et al.*, 2011). Esta alteración de la mojabilidad se considera que es uno de los mecanismos importantes que conducen al aumento de la recuperación de petróleo durante los procesos de MEOR.

Los microorganismos producen una serie de productos (ácidos, solventes, gases, biosurfactantes, biopolímeros y emulsificantes) que son potencialmente útiles para la recuperación de petróleo (Youseff *et al.*, 2009). En trabajos anteriores realizados por Castorena *et al.* (2012), se ha demostrado la capacidad de este cultivo de microorganismos anaerobios para mejorar la recuperación de aceite pesado debido a la producción de metabolitos. Se sabe que es capaz de producir biosurfactantes que reducen la tensión superficial e interfacial agua-aceite, además de solventes, ácidos y gases que por su interacción con el aceite provocan cambios fisicoquímicos en sus propiedades, y también logra la degradación de fracciones pesadas del aceite. Como se ha mencionado, en los métodos microbianos pueden actuar más de un mecanismo para favorecer la recuperación del petróleo. En este caso, la escala del experimento dificulta determinar cuál es el mecanismo que proporciona la mayor recuperación de aceite, por lo que la descripción del comportamiento de los sistemas se vuelve más compleja; sin embargo, los resultados demuestran que la presencia bacteriana sí provoca efectos que aumentan la recuperación. Con lo anterior se establece que en estos tipos de roca, saturadas con aceite pesado, es mayor la recuperación en los sistemas de tipo arena que en los de carbonato comercial, coincidiendo con los resultados obtenidos en experimentos de laboratorio, en los que se obtuvo que los métodos microbianos son más efectivos para la recuperación de aceite bajo sistemas preferentemente mojables por agua (Armstrong *et al.*, 2011).

- **Tamaño del granulado**

La red porosa es extremadamente compleja, aunque es posible comprender cualitativamente que el tamaño de poro está relacionado con el tamaño de grano, la forma del grano, etc. (Glover *et al.*, 2009). También se ha reconocido por



investigadores, que el tamaño de grano es una variable independiente fundamental que controla la permeabilidad en sedimentos no consolidados.

La porosidad es otra de las propiedades de la roca, de interés porque es la medida del espacio vacío y donde se almacenan los fluidos. En la gráfica de la Fig. 3.4 se observa que el tamaño de grano no influyó en los valores de porosidad. Como se ha demostrado en otros experimentos, la porosidad no depende del tamaño de grano pero si de la distribución, el arreglo y la forma que tengan los granos (Sperry *et al.*, 1994); al haberse empleado sistemas con granos de la misma malla, la porosidad no se vio afectada. En los resultados de la Tabla 3.2, el tamaño de grano resultó ser el factor menos importante en este experimento, por lo que no es relevante en la recuperación de aceite para los tres tipos de granulado.

En la Fig. 3.8 se pueden observar fotografías tomadas al finalizar el experimento, donde se aprecia el aceite liberado en los sistemas que contenían microorganismos comparados con su sistema de control respectivo.

- **Efecto de la formulación del medio de cultivo (Concentración de Carbono y de Nitrógeno)**

La importancia del carbono radica en que es un componente esencial del medio de cultivo para el crecimiento microbiano y de diferentes microorganismos que producen biosurfactantes (Mahdy *et al.*, 2012). Como lo muestra la Tabla 3.2, en este experimento el factor que tiene mayor impacto en la recuperación del hidrocarburo es la concentración de carbono. Los porcentajes mayores de recuperación se obtuvieron en los sistemas que contenían la concentración de carbono correspondiente a 5 g/L. En varios experimentos de laboratorio, el efecto que tiene la concentración de carbono y de nitrógeno del medio de cultivo, se determina midiendo la producción de biosurfactante de los microorganismos. En el trabajo reportado por Rashedi *et al.* (2005) se evaluó la producción de metabolitos variando las concentraciones de melaza utilizada como única fuente de carbono; se encontró que la producción aumentó con el incremento de la concentración de melaza y la producción máxima se

produjo cuando se utilizó 7% de la misma; es decir, que esta producción se obtuvo con los valores de concentración intermedios que se evaluaron. Aunque haya un incremento en la concentración de melaza, no afecta significativamente la producción de metabolitos.

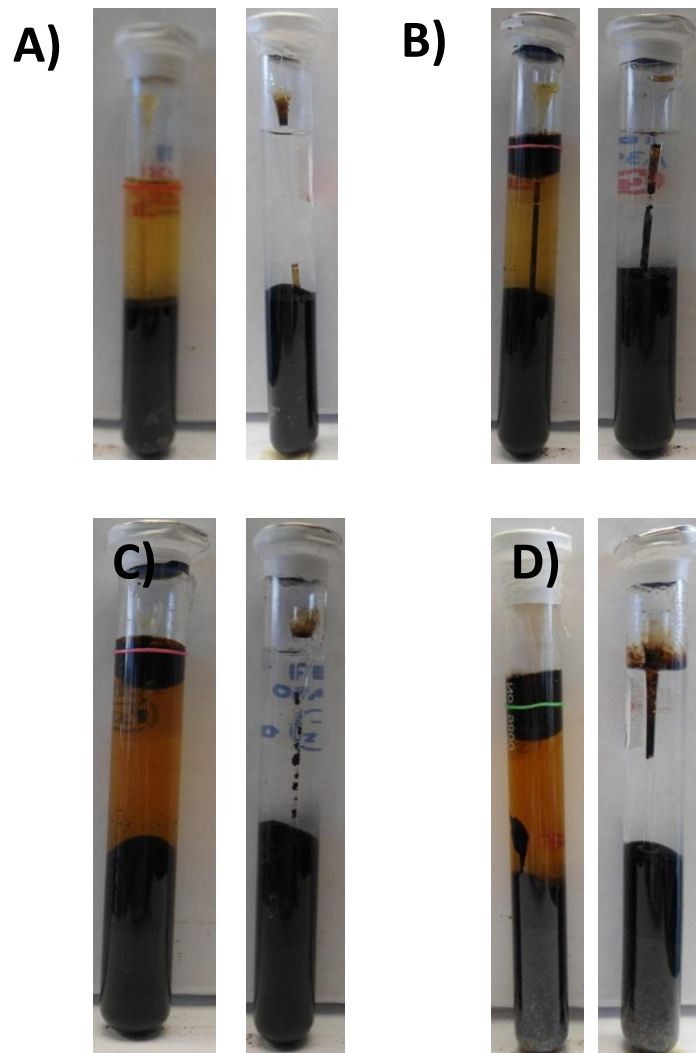


Figura. 3.8 Fotografías tomadas a los sistemas granulados al finalizar los 14 días de experimentación. (A) Sistema tipo carbonato comercial malla 30. (B) Sistema de tipo arenisca de afloramiento malla 30. (C) Sistema tipo arenisca afloramiento malla 40. (D) Sistema tipo arenisca comercial malla 50.



Algunos elementos tienen un rol importante en las actividades biológicas y el nitrógeno entra en esta categoría. La concentración óptima de este elemento es importante en MEOR, porque algunas veces una alta concentración de este químico tiene efectos inhibidores en las actividades biológicas de los microorganismos, así como su carencia en la formulación de nutrientes tiene un efecto negativo en el crecimiento microbiano (Abtahi *et al.*, 2003). De acuerdo con los resultados obtenidos, la concentración de nitrógeno que mostró las recuperaciones mayores fue la de 0.25 g/L, la menor de las que se evaluaron. En otros experimentos se ha reportado que la limitación de nitrógeno mejora la producción de biosurfactante (Mahdy *et al.*, 2012).

3.2.2 Producción de gases

En esta parte del experimento, se evaluó la actividad metabólica del cultivo de microorganismos mediante la técnica de Cromatografía de Gases.

Aunque durante el crecimiento microbiano se producen diferentes gases como el CO₂, CH₄, H₂ y N₂, el que ha mostrado ser el producto principal del cultivo de microorganismos utilizado es el CO₂. El gas CO₂ producido por los microorganismos resulta de la fermentación de la fuente de carbono, que en este caso es la melaza. La producción de gas es uno de los mecanismos propuestos que actúan en la recuperación microbiana. El CO₂ producido por las bacterias mejora la recuperación de aceite en dos maneras, reduciendo la viscosidad del aceite o incrementando la presión en el yacimiento (Hernández *et al.*, 2013).

Se monitoreó la producción de CO₂ en los nueve tratamientos; se presentan y analizan los resultados de aquellos que se realizaron con el mismo tipo de roca.

Los resultados en la producción de CO₂ en los tratamientos realizados con carbonato comercial se muestran en la Fig. 3.9. Se observa la influencia que tiene el medio de cultivo de los microorganismos; aunque estos tres tratamientos se realizaron con el mismo tipo de roca, existe una diferencia en la producción de gas CO₂. De los tratamientos con carbonato comercial, se produjeron más moles de CO₂ en el que contenía la concentración media de carbono que es de 5 g/L. En general, los tres

presentaron una producción de CO₂ de manera continua y creciente durante el tiempo de monitoreo.

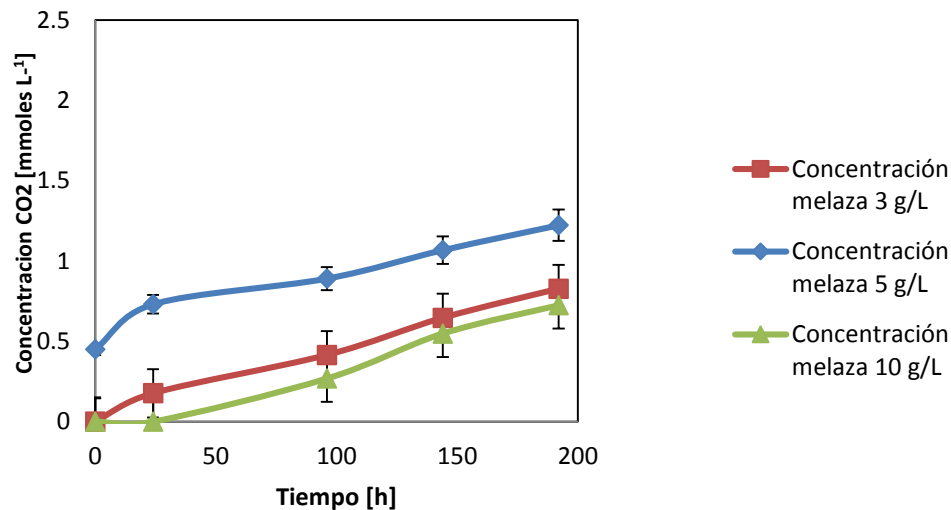


Figura 3.9 Producción de CO₂ en tratamientos con carbonato comercial.

La Fig. 3.10 muestra la producción de CO₂ en los tratamientos realizados con arena de afloramiento. Se observa que hay una producción mayor de CO₂ comparada con la que presentaron los tratamientos de carbonato comercial. En los tres hay producción continua hasta las 150 horas, tiempo en el que se concluye la producción de gas; esto se puede explicar porque se utilizó un cultivo mixto, lo que significa que hay diferentes bacterias y al terminarse la fuente de glucosa principal, algunas utilizan, para alimentarse, las sustancias que otras han producido; sin embargo, la actividad microbiana no vuelve a tener el comportamiento que presentó en las primeras horas.

No sólo la fermentación de la fuente de carbono produce CO₂. Se sabe que los microorganismos también producen ácidos y que la producción de ácido orgánico puede provocar la disolución de las rocas carbonatadas (Youssef *et al.*, 2009); es decir, este proceso además de producir CO₂ puede aumentar de la porosidad y la permeabilidad de la roca.

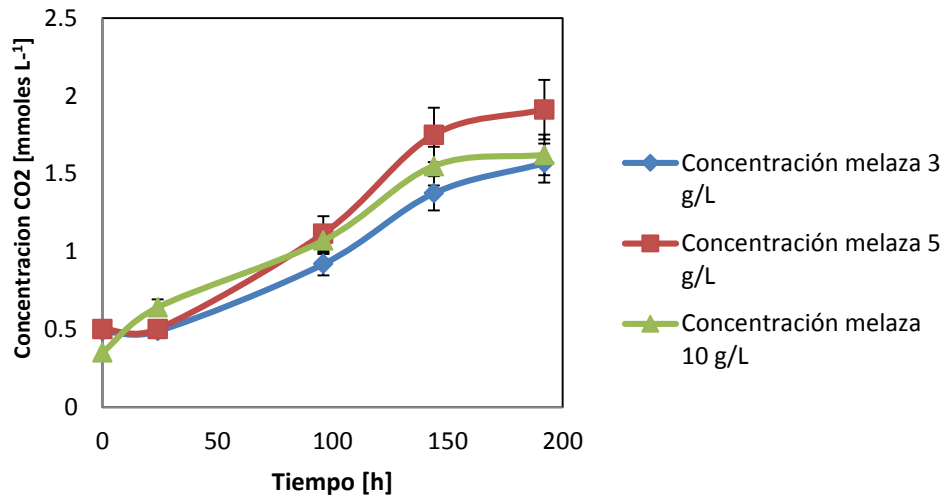


Figura 3.10 Producción de CO₂ en tratamientos con arena de afloramiento.

Los resultados en la producción de CO₂ en los tratamientos realizados con arena comercial se muestran en la Fig. 3.11. Se observa que la producción de gas es continua, a las 100 horas se registró en los tres tratamientos un aumento en la actividad microbiana debido, como se mencionó anteriormente, a que algunas bacterias utilizan las sustancias que otras han producido para alimentarse.

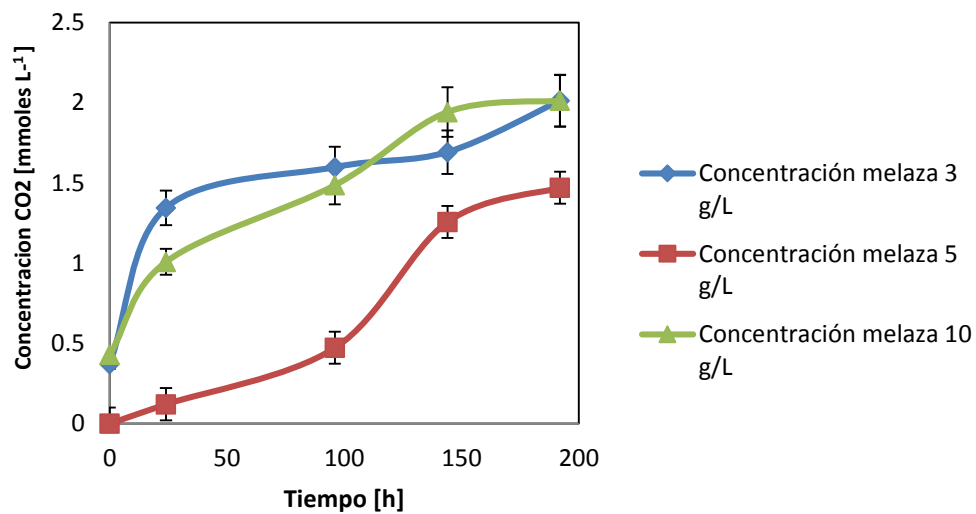


Figura 3.11 Producción de CO₂ en tratamientos con arena comercial.



El CO₂ se utiliza como medida para determinar la actividad metabólica porque es uno de los productos de la fermentación anaerobia; esta es una de las maneras de saber si los microorganismos están activos. En todos los tratamientos se registró actividad microbiana, aunque en unos fue mayor la producción de CO₂, no existe una correlación entre la cantidad de aceite recuperado y la producción de gas.

Se ha mencionado que el CO₂ producido por los microorganismos contribuye a la recuperación de aceite, porque propicia el aumento de la presión en el yacimiento y a la disminución la viscosidad causada por la solubilización del gas en el aceite; asimismo, las bacterias pueden moverse a través del yacimiento y producir CO₂ continuamente dependiendo de la disponibilidad de fuentes de carbono. Los beneficios adicionales de la producción microbiana de este gas son que no requieren mecanismos de captura, transporte, purificación, almacenamiento ni procesos inyección continua, que consumen tiempo, energía y dinero (Hernández et al., 2013).

3.2.3 Prueba de recuperación de hidrocarburo pesado en sistemas granulados con arena tipo carbonato de afloramiento.

En un experimento siguiente se midió la recuperación del crudo pesado en sistemas granulados utilizando carbonato de afloramiento. El objetivo fue comparar el efecto en la recuperación de los cuatro tipos de roca que fueron: carbonato comercial, carbonato de afloramiento, arena comercial y arena de afloramiento. Los resultados de recuperación empleando el carbonato de afloramiento se muestran en la Tabla 3.3.

Esta prueba con carbonato de afloramiento se realizó después del experimento en el que se utilizaron los otros tipos de roca, debido a que en estos experimentos la cantidad de carbonato no era suficiente.

Tabla 3.3. Recuperación de aceite de los sistemas que emplearon carbonato de afloramiento.

No. tratamiento	Variables				Recuperación de hidrocarburo (%)	Desviación estándar
	1 Granulado	2 Malla	3 Concentración de melaza (g/L)	4 Concentración de NH ₄ Cl (g/L)		
10	Carbonato afloramiento	30	3	0.25	14.5	2.65
11	Carbonato afloramiento	40	5	0.61	1.7	0.6
12	Carbonato afloramiento	50	10	3.8	0	0

Los valores de porosidad de los sistemas que utilizaron carbonato de afloramiento se presentan en la Fig.3.12.

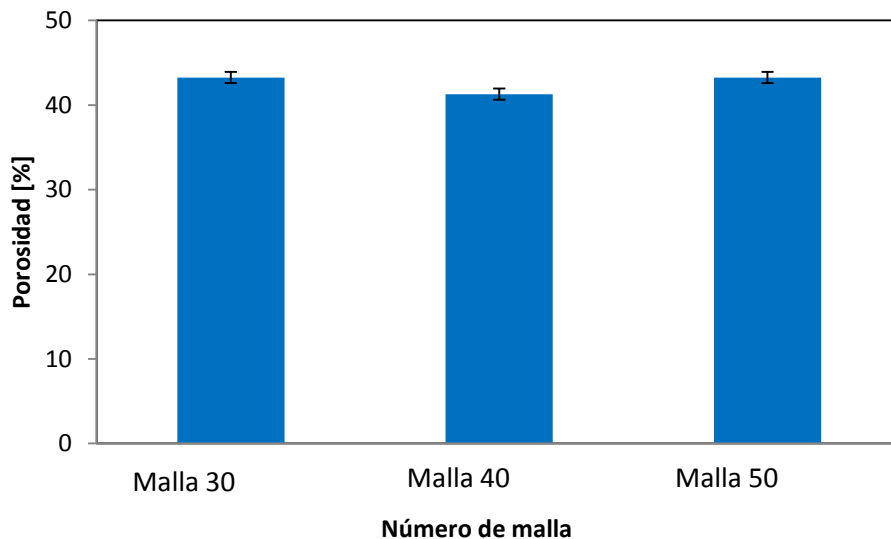


Figura 3.12. Porosidad de los sistemas con carbonato de afloramiento.

En la Tabla 3.1 se presentan los resultados para la recuperación de las rocas tipo carbonato comercial, arena comercial y arena de afloramiento, y en la Tabla 3.3 se pueden observar los resultados de la recuperación de aceite en la roca carbonato comercial. Según lo anterior, el carbonato comercial presentó un valor de recuperación del 10.2%, únicamente en el sistema de malla 40. El carbonato de afloramiento registró una recuperación de 14.5% y 1.7% en los sistemas de malla 30 y 40,



respectivamente, resultados que indican que aunque se trate de rocas sedimentarias carbonatadas, unas más que otras pueden favorecer la recuperación de aceite por acción de los microorganismos. En este caso la roca proveniente de afloramiento registró valores de recuperación mayores que la roca comercial. Se propone que estas diferencias de recuperación entre ambos carbonatos se pueden deber al contenido mineralógico, aunque los carbonatos pertenezcan a la misma categoría de roca sedimentaria, no son iguales en cuanto a su origen, tipos y proporción de minerales. También la roca carbonatada comercial pudo haber pasado por procesos químicos ya sea de limpieza o algún otro, que pudieron haber modificado el contenido de minerales. Entre los nutrientes que necesitan las bacterias se encuentran algunas sales minerales que podrían obtenerse de las rocas, pero también las bacterias son sensibles a sustancias tóxicas (Assas *et al.*, 2008) que pueden estar presentes en la roca.

Si se comparan los resultados del carbonato y de la arena, ambos de afloramiento, los valores que se obtuvieron en los sistemas con arena fueron en todos los casos mayores que los de carbonato. En este trabajo se encontró que los métodos microbianos son más efectivos para la recuperación de aceite bajo sistemas preferentemente mojables por agua como las arenas. Adicionalmente, el tipo de roca en el sistema poroso tiene una influencia importante en los procesos de MEOR. Otro factor a considerar es la composición mineralógica de la roca; las rocas de afloramiento poseen una composición mineralógica parecida a la roca del yacimiento, la cual también puede afectar la actividad microbiana. Debido a lo anterior, se destaca la necesidad de realizar estas pruebas y obtener datos, para evaluar si la roca es candidata para llevar a cabo un tratamiento de MEOR.

En cuanto al tamaño de la malla del granulado, no provoca diferencias en la porosidad de los sistemas, como se observa en la Fig. 3.12. Sin embargo; como se indica en los resultados de recuperación que existe una relación entre la cantidad de aceite obtenido y el tamaño de malla. El sistema con el grano más pequeño no presentó recuperación y el de tamaño más grande tuvo el valor de recuperación más alto de 14.5 %. Ya se ha mencionado que aunque la porosidad es independiente del



tamaño de grano para sistemas no consolidados, el tamaño de grano si afecta la permeabilidad, ya que mientras más fina sea la arena menor será la permeabilidad. En los sistemas con granos más pequeños, los poros y las gargantas de poro son más pequeños que en los sistemas con granos más grandes, haciendo el flujo de fluidos más lento (Da Silva, 2011).

En los resultados de recuperación con carbonato de afloramiento que se indican en la Tabla 3.3, el sistema con el valor mayor de recuperación fue el que contenía una concentración de 0.25 g/L de nitrógeno y de 3 g/L de carbono. Con la concentración más baja de nitrógeno se presentó mayor recuperación de aceite, aún cuando se utilizó otro tipo de roca. Esto es debido a que las altas concentraciones de este elemento disminuyen la actividad de los microorganismos, lo que refuerza lo encontrado en el experimento anterior. En cuanto a la cantidad de carbono en el medio de cultivo, fue la concentración baja la que resultó en mayores cantidades de aceite recuperado. Este factor es importante de considerar, porque no siempre un aumento en la concentración de la fuente de carbono en el medio de cultivo dará como consecuencia un incremento en la producción de metabolitos (Rashedi *et al.* 2005).

Con los resultados de los experimentos anteriores, se observó que la cantidad de crudo recuperado varía dependiendo de las condiciones del ensayo. Aunque los microorganismos y sus metabolitos incrementaron el aceite obtenido en la mayoría de los sistemas, hubo condiciones en las que no se presentó. Es necesario realizar pruebas para observar la interacción de estos factores (el tipo de roca, los microorganismos y el tipo de aceite), para establecer las condiciones que favorecen el crecimiento de los microorganismos y la recuperación hidrocarburo.

3.4 PRUEBAS DE RECUPERACIÓN EN COLUMNAS EMPACADAS DE ARENA

Con las condiciones que se definieron en el experimento anterior, se seleccionó el tipo de granulado (arena de afloramiento) y la concentración de los componentes del medio de cultivo: concentración de carbono (5 g/L) y concentración de nitrógeno (0.25



g/L). Con estas condiciones se llevó a cabo la experimentación de recuperación de aceite en columnas empacadas de arena impregnadas con crudo. En diversos trabajos reportados en la literatura, se han utilizado sistemas de columnas empacadas de arena para evaluar el efecto que tienen las bacterias y sus productos en la recuperación de aceite, en un medio poroso no consolidado (Harish *et al.*, 2008).

3.3.1 Caracterización del sistema poroso

La porosidad y la permeabilidad son conceptos básicos de la Ingeniería de Yacimientos, la primera es una medida de la capacidad de almacenamiento de fluidos y la segunda mide la habilidad de la roca para transportar los fluidos (Ahmed, 2001).

Con el método definido en el capítulo anterior (Sección 2.4.2 y 2.4.3), se obtuvo una porosidad de las columnas empacadas de arena de 31%. El valor de permeabilidad absoluta registrado fue de 3300 md. En experimentos que utilizaron columnas empacadas de arena para medir la recuperación de aceite vía microbiana, generalmente se reportan la porosidad y permeabilidad de los sistemas.

En la Fig. 3.13 se presentan diferentes valores de porosidad y permeabilidad de columnas empacadas reportados en la literatura; además se incluyen los resultados obtenidos en este trabajo. Se observa que se han reportado valores de porosidad de sistemas granulados no consolidados que varían entre 25% y 40%. El resultado de porosidad que se obtuvo está dentro de los intervalos reportados comúnmente. Los datos de permeabilidad varían más que los de porosidad, diferencias que pueden atribuirse a los diferentes tipos de roca usada, a la distribución del grano y al arreglo que tengan. Las columnas empacadas de arena son sistemas no consolidados, por lo que los valores de permeabilidad son mayores a los que presentan las rocas de los yacimientos. Por ejemplo, los yacimientos de Chicontepec poseen bajas porosidades y bajas permeabilidades; los rangos de porosidad se encuentran entre 5% y 15%, mientras que las permeabilidades oscilan entre 0.1 md y 10 md (Gachuz *et al.*, 2009).

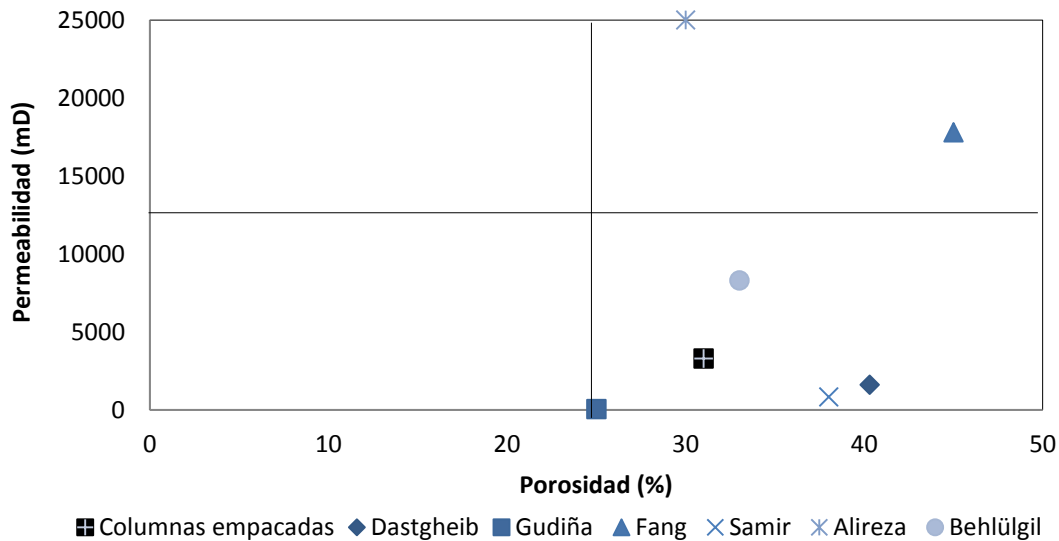


Figura 3.13 Valores de porosidad y permeabilidad reportados en la literatura.

La porosidad y permeabilidad de la roca tienen influencia en el crecimiento de los microorganismos. Cuando los espacios porosos dentro de la roca están conectados, es decir que la roca es permeable, las bacterias pueden invadir y crecer dentro de la estructura de la roca (Cockell *et al.*, 2007). Lo anterior no significa que mientras más permeable sea una roca, habrá mayor recuperación de aceite debido a la acción de los microorganismos. Byrant *et al.* (1988) comparó diferentes eficiencias de recuperación de aceite con la permeabilidad en núcleos; encontró que algunas bacterias tipo *Bacillus* pueden provocar mayores eficiencias de recuperación en núcleos con permeabilidades de hasta 130 md que en otros que presentaban el doble de esta permeabilidad. Los estudios anteriores indican que dependiendo de los microorganismos será la respuesta, encontrándose diferentes eficiencias de recuperación de aceite entre cada especie de bacteria utilizada.

3.3.2 Recuperación secundaria de crudo de densidad media

Después de realizarse la impregnación de la arena con crudo de densidad media, se llevó a cabo el proceso de recuperación secundaria.



Los datos de viscosidad y densidad a diferentes temperaturas del aceite mediano se presentan en la Tabla 3.4.

Tabla 3.4 Características del crudo mediano.

Temperatura [°C]	Viscosidad dinámica [mPa.s]	Densidad ρ [g/cm ³]
20	95	0.9082
30	60	0.9014
40	37	0.8944
50	24	0.8875
60	17	0.8804
70	12	0.8734
80	9.26	0.8663
90	7.16	0.8592
100	5.72	0.8522

Las pruebas de recuperación secundaria y mejorada se realizaron a una temperatura de 80°C, por lo que los valores de viscosidad y densidad son de 9.26 mPa.s y 0.8663 g/cm³, respectivamente. Utilizando de la Tabla 3.4 la densidad relativa del aceite a 80°C se obtiene un valor de 31.8 °API.

La inyección de agua como método de recuperación secundaria, se realizó a un flujo de 48 mL/h. En la Tabla 3.5 se presentan los resultados obtenidos de recuperación de este aceite debido a la inyección de salmuera.

Tabla 3.5 Resultados de la recuperación secundaria de aceite de densidad media.

Columna	Recuperación de aceite (%)
A	12.6
B	2.3
C	5.5
Flujo de inyección: 48 mL/h	

Cuando la energía natural del yacimiento se ha agotado, es necesario aumentarla con una fuente externa. Esto se logra generalmente con la inyección de fluidos, ya sea un gas natural o agua. Este método de inyección se denomina recuperación secundaria (Terry, 2001).

Al final de la inyección de agua, se considera que el aceite residual queda en forma de pequeños cúmulos de aceite discontinuos, atrapados en los poros de la roca del yacimiento (Shah, 1981), como se puede observar en la Fig. 3.14.

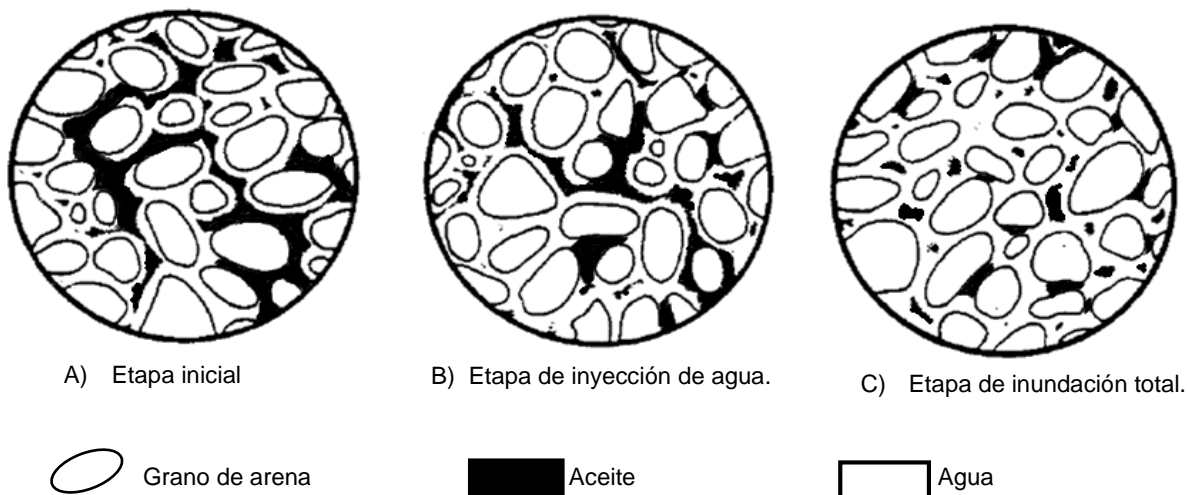


Figura 3.14. Distribución de los fluidos durante la inyección de agua en una roca mojada por agua (Craig, 1982).



El aceite que queda atrapado en la roca del yacimiento se debe a la competencia entre dos fuerzas; las fuerzas viscosas que movilizan el aceite y las fuerzas capilares que lo atrapan. La eficiencia de desplazamiento de aceite de un proceso de recuperación se determina por la relación de estas dos fuerzas. Las fuerzas capilares surgen de la tensión interfacial entre las fases de aceite y agua, que resisten las fuerzas viscosas aplicadas externamente y provocan que el agua inyectada no movilice el aceite residual. Estas fuerzas provocan que grandes cantidades de petróleo se queden después de las inyecciones de agua (Harish *et al.*, 2008).

En las columnas saturadas de aceite, el valor máximo obtenido de recuperación por la inyección de agua, fue de 12.6% con respecto a la cantidad de aceite original. Aunque el experimento se realizó en un medio poroso no consolidado, también actúan las fuerzas viscosas y capilares, impidiendo que haya mayor cantidad de crudo recuperado. Los porcentajes de recuperación de aceite que se obtuvieron en las tres columnas son bajos comparados con los obtenidos en otros experimentos en columnas empacadas de arena, como en el reportado por Gudiña *et al.* (2012), quienes realizaron la recuperación de un aceite de 25°API, obteniendo porcentajes de recuperación en promedio de 36% debido a la inyección de agua. Esta diferencia de recuperación entre los porcentajes reportados en la literatura y el registrado en este trabajo, puede deberse a que el aceite se impregnó de tal manera, que la fuerza que imprimía el flujo de inyección de salmuera no era suficiente para desplazar el aceite a través de la columna.

Normalmente el incremento en el factor de recuperación durante la explotación secundaria debido a la inyección de agua, es del orden del 6 al 20%. Esta cifra puede ser mayor si el campo presenta características muy favorables desde el punto de vista de su geología, de la relación de movilidad entre el aceite y el agua y de la mojabilidad. Algunas de estas características favorables son las permeabilidades altas, mayores de 300 md, la producción de aceite ligero con densidad en grados API superiores de 25°, porosidades entre el 6 y el 15% para areniscas y de 3 a 10% para carbonatos, entre otras (Comisión Nacional de Hidrocarburos, 2010). Después de la explotación



primaria y secundaria de un yacimiento, todavía existen posibilidades de aumentar su recuperación final, mediante los métodos de recuperación mejorada, como los térmicos, químicos o microbiológicos como MEOR (Romero, 2012).

3.3.3 Recuperación con microorganismos de crudo de densidad media

Después de la inyección de salmuera se realizó la inyección de microorganismos; los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 3.6. El porcentaje de recuperación final debido al método microbiano se obtuvo con respecto al aceite residual obtenido en recuperación secundaria.

Tabla 3.6 Resultados de recuperación mejorada con crudo de densidad media.

Columna	Recuperación Adicional [%]
A	37.6
B	29.6
C	21.2
Flujo de inyección: 60 mL/h	

Se observa en los resultados de las Tablas 3.5 y 3.6 que durante la recuperación mejorada se incrementó la cantidad de aceite obtenido en la columna control. Por razones operativas y para que todas las columnas tuvieran el mismo flujo, se decidió aumentar el flujo de inyección de 48 mL/h a 60 mL/h en las tres columnas. Aunque el incremento del flujo de inyección aumentó la recuperación de aceite, continuaron siendo mayores las cantidades obtenidas de crudo en las columnas que contenían microorganismos.

Como se muestra en las Tablas 3.5 y 3.6, durante la recuperación secundaria con inyecciones de salmuera, se recuperó de un 2.3% hasta un 12.6% del crudo impregnado, dejando en promedio un 93% del aceite en las columnas. Cuando los



microorganismos y sus nutrientes se introdujeron en las columnas, se recuperó hasta un 37% adicional de hidrocarburo. En la columna de control, que se incubó a las mismas condiciones pero sin microorganismos, la cantidad de aceite recuperado fue de alrededor de 21%, por lo que el crudo restante que se obtuvo por la acción de los microorganismos fue de entre 8% y 16%. Hitzman et al. (2003) reportaron bajo condiciones anaeróbicas una recuperación de aceite por acción de microorganismos de hasta 14%, sin embargo su temperatura de incubación fue de 50°C. La temperatura de incubación es uno de los factores que se han estudiado a nivel laboratorio, la cual afecta los procesos de recuperación de aceite llevados a cabo con microorganismos. Hay un incremento en el factor de recuperación cuando la temperatura de incubación de las bacterias se incrementa a valores mayores de los 70°C (Samir *et al.* 2010); este aumento de la recuperación de aceite a altas temperaturas se relaciona con el efecto que tiene la temperatura en la viscosidad del aceite. La reducción de la viscosidad debido a la temperatura incrementa la movilidad del aceite, aumentando así la recuperación por desplazamiento.

En la Fig. 3.15 se presenta el porcentaje de aceite recuperado acumulado de las inyecciones con salmuera y con microorganismos. Durante la recuperación secundaria en la columna de tratamiento y en la columna control, se observa que no hay una diferencia en la cantidad de aceite recuperado. Durante la etapa de recuperación mejorada, se aprecia que la curva de tratamiento presenta un aumento desde el tercer volumen poroso, y comienza a disminuir la cantidad de aceite recuperado debido a la acción de los microorganismos después del séptimo volumen. La recuperación final total en las columnas de tratamiento fue de 41% y en la columna control de 26.7%.

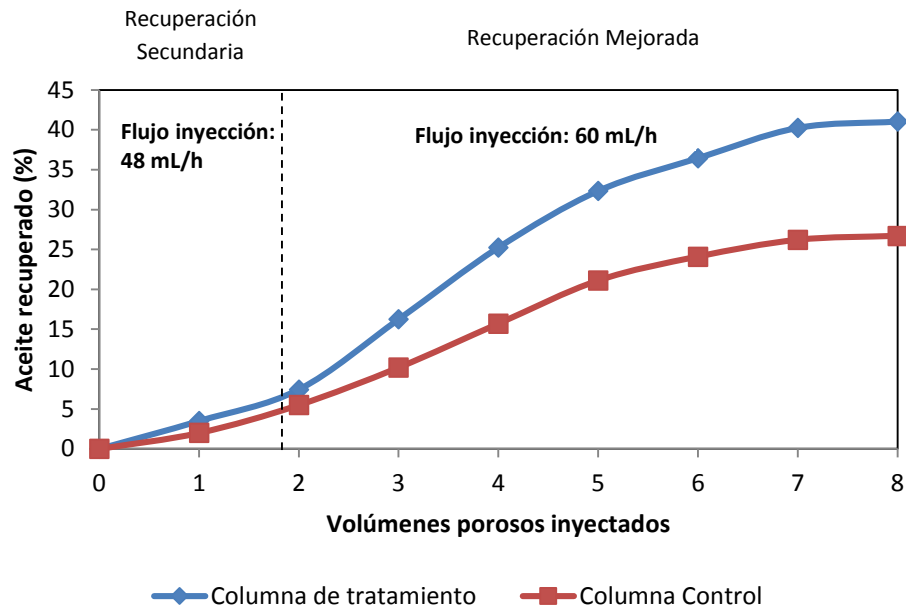


Figura 3.15. Porcentaje de recuperación de aceite de densidad media con respecto a los volúmenes porosos inyectados.

En la Fig. 3.16 se puede observar la diferencia del aceite recuperado entre las columnas con microorganismos y la columna de control, después de la primera inyección de MEOR.



Figura 3.16. Recuperación de aceite de densidad media después de la primera inyección de microorganismos. Los frascos A y B corresponden a las columnas que contenían bacterias y el frasco C a la columna control.

Al finalizar la prueba de recuperación de aceite de densidad media con microorganismos, la arena se extrajo de las columnas y se observó una diferencia de coloración entre las que utilizaron bacterias (Ver Fig. 3.17 parte A) y la columna control (Ver Fig. 3.17 parte B), se puede apreciar una coloración más oscura en la arena de la columna control, cambio que puede atribuirse a la saturación de aceite residual.

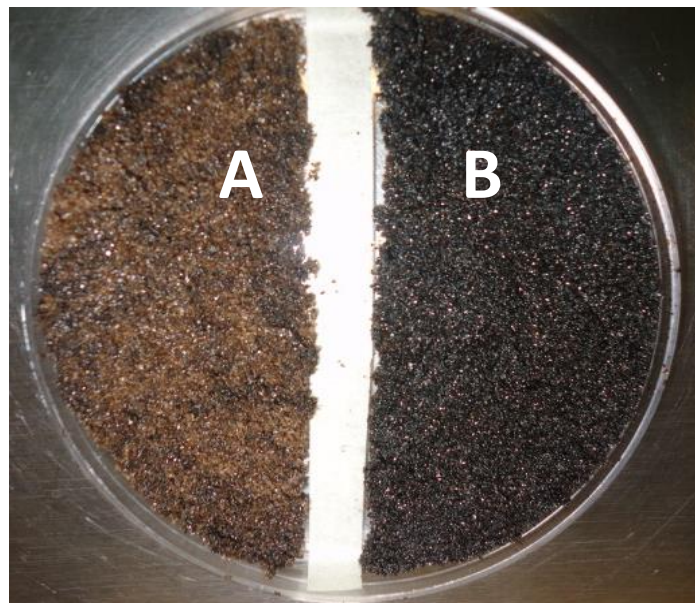


Figura 3.17. Diferencia de coloración entre la arena de la columna control y la que contenía microorganismos. (A) Arena de una de las columnas que contenía microorganismos. (B) Arena de la columna control.

3.3.4 Recuperación secundaria de crudo pesado

Primero se realizó la recuperación secundaria de crudo pesado mediante la inyección de salmuera en las columnas. En la Tabla 3.7 se presentan los resultados obtenidos de recuperación de crudo pesado debido a la inyección de salmuera.



Tabla 3.7 Resultados de la recuperación secundaria de crudo pesado.

Columna	Recuperación de aceite [%]
A	9.44
B	8.9
C	10
Flujo de inyección: 48 mL/h	

La recuperación de aceite por inyección de agua fue en promedio de 9.4% con respecto a la saturación de aceite original. Bryant et al (1988) realizaron las pruebas de recuperación secundaria utilizando aceites con densidades relativas entre 14° y 17°API, registrando una recuperación de hasta 25%. Aunque la recuperación obtenida en las columnas fue más baja comparada con las de la literatura, se debe tomar en consideración que la viscosidad del aceite pesado es mucho mayor, aún cuando la temperatura de incubación es alta.

3.3.5 Recuperación con microorganismos de crudo pesado

Después de la inyección de agua se realizó la inyección de microorganismos; los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 3.8. El porcentaje de recuperación final debido al proceso microbiano, se obtuvo con respecto al aceite residual obtenido en la recuperación secundaria.

Tabla 3.8 Resultados de la recuperación mejorada de un crudo pesado.

Sistema	Recuperación de aceite [%]
A	15.6
B	25.1
C	10.4
Flujo de inyección: 60 mL/h	

Para poder comparar, se determinó que este segundo experimento se realizara a las mismas condiciones del primero; es decir: 48 ml/h en recuperación secundaria y 60 ml/h en mejorada.

En la columna de control se registró una recuperación del 10.4%, por lo que la recuperación de aceite debido a la inyección de microorganismos se encuentra entre 5% y 15%; estos resultados son cercanos a los porcentajes de recuperación registrados en la literatura. En columnas empacadas, Samir *et al* (2010) reporta una recuperación del 20% después de la inyección de salmuera, utilizando bacterias anaerobias y un aceite de 20°API. En otro trabajo se obtuvieron porcentajes de recuperación entre 7% y 30% de aceites que variaban entre los 24° y 17° API (Bryant *et al*, 1988). En estos experimentos se debe considerar que las diferencias que existen, además del tipo de aceite, también influyen las diferentes condiciones de incubación, el tipo de bacterias y los nutrientes utilizados (Long-Kuan *et al.*, 1984).

En la gráfica de la Fig. 3.17 las diferencias entre las curvas que representan la recuperación en columnas con microorganismos y la columna de control se aprecian durante el método de recuperación mejorada. Esta diferencia es menor que la que se registró en un crudo de densidad media. La recuperación acumulada total en las columnas de tratamiento fue del 29.5%, mientras que en la columna control esta recuperación fue del 19.3%.

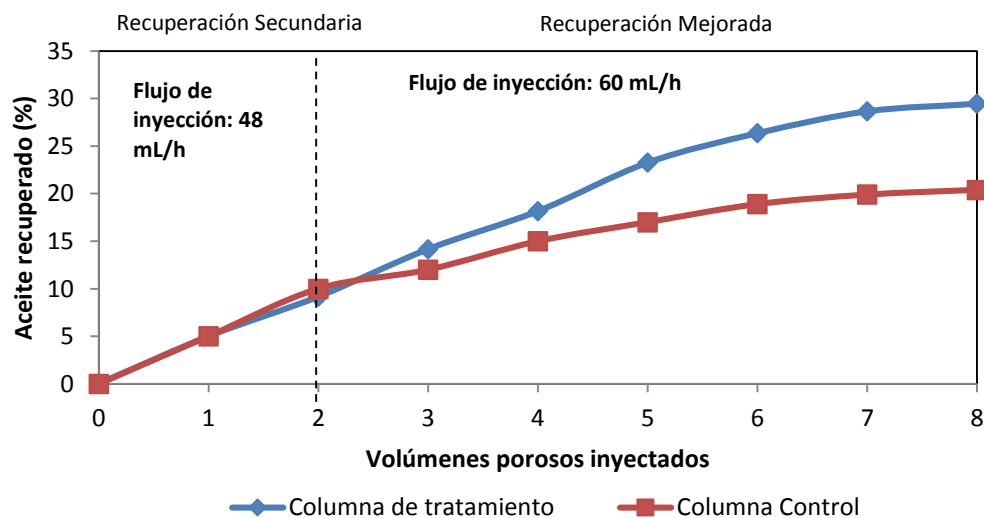


Figura 3.17. Porcentaje de recuperación de aceite pesado con respecto a los volúmenes porosos inyectados.

En la Fig. 3.18 se observa la diferencia en la recuperación de aceite pesado en los frascos que pertenecían a la columna B que contenía microorganismos, y a la columna control C sin inocular.

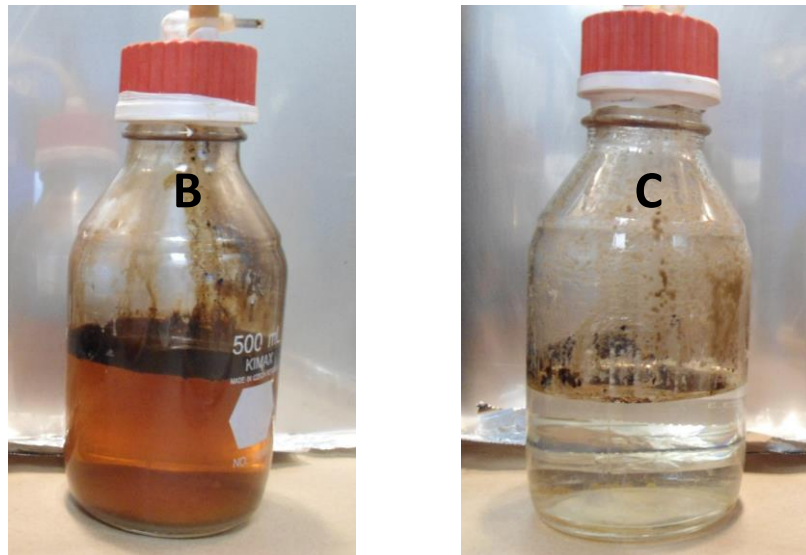


Figura 3.18. Aceite pesado recuperado después de la segunda inyección de microorganismos. (B) Aceite obtenido de la columna B que contenía microorganismos. (C) Aceite obtenido de la columna de control.

Se han realizado experimentos para determinar el efecto que tienen los microorganismos y sus productos en la recuperación de aceite utilizando aceites ligeros y de densidad media; sin embargo, pocos trabajos se han realizado utilizando aceites pesados comparados con los que existen con crudos más livianos. En los trabajos efectuados por Gudiña et al. (2012) en columnas de arena utilizando un aceite pesado, el porcentaje de recuperación obtenido debido a la acción de los microorganismos es de 10%, sin embargo la temperatura de incubación fue de 40°C. Los resultados obtenidos en el trabajo de Samir et al. (2010) quien utilizó microorganismos anaerobios termófilos y un aceite pesado de 20°API, muestran un aumento en la recuperación de hidrocarburo del 20%. Señala además un efecto de



la temperatura (70° C) en la reducción de la viscosidad del aceite, que mejora la movilidad del crudo e incrementa la cantidad de aceite recuperado por desplazamiento.

En todas las pruebas de recuperación secundaria y mejorada de los dos tipos de crudo, existió variación en la cantidad de aceite recuperado entre las columnas réplicas. La arena en la columna, aunque se realizó un proceso de mallado con el objetivo de tener cierta uniformidad, varía en su estructura y zonas de permeabilidad; es decir, ninguna tiene el mismo patrón, efecto que se refleja en la cantidad de aceite obtenido.

Se recomienda analizar más a detalle en qué momento debería comenzar la recuperación mejorada, si antes de que el hidrocarburo deje de fluir en las etapas de recuperación primaria y secundaria, o aprovechar la energía que aún se tiene en el sistema para obtener más crudo.

En este trabajo la comparación de eficiencias de la recuperación empleando diferentes aceites y tipos de rocas, indica que un proceso de MEOR puede ser efectivo para aceites de densidad media así como para aceites pesados.

3.3.6 Mecanismos que incrementan la recuperación de aceite de densidad media y pesado utilizando microorganismos.

En la literatura se proponen una serie de posibles mecanismos por los cuales las bacterias o sus productos pueden movilizar el aceite residual atrapado en las rocas. Una mejor comprensión de los mecanismos principales que aumentan la recuperación de petróleo es útil para el diseño óptimo de procedimientos operacionales de MEOR. El aumento en la recuperación de aceite observado en columnas debido a la inyección de microorganismos puede deberse a varios factores. En otro trabajo se demostró la capacidad de este cultivo anaerobio de bacterias para producir biosurfactantes, que redujeron la tensión superficial y que contribuyeron a reducir la tensión interfacial agua-aceite (Castorena *et al.* 2012). Además, se reportó que este cultivo puede



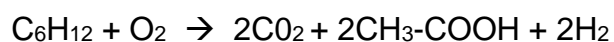
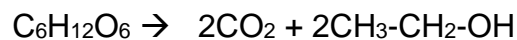
degradar las fracciones pesadas del aceite, reduciendo así su viscosidad y es capaz de producir solventes como etanol, ácidos y gases, que pueden contribuir a mejorar la movilización del hidrocarburo en la columna de arena. Por otra parte, existen factores adicionales que pueden contribuir al aumento de la recuperación de petróleo, como el incremento de la presión en el sistema debido a la producción de gases. A diferencia del trabajo anterior (Castorena *et al.*, 2012) en que únicamente se utilizó un solo tipo de granulado y de aceite, en este trabajo se evaluaron diferentes tipos de roca, de malla y dos tipos de crudo, por lo que se buscaba establecer un intervalo de aplicación mayor, obteniendo un panorama de las combinaciones posibles en las que fuera podría utilizarse MEOR como método de recuperación mejorada.

A continuación se analiza la producción de gases, como uno de los mecanismos detectados que incrementaron la recuperación de aceite de densidad media y pesado en las columnas de arena.

Producción de gases

Las bacterias pueden producir gases como CO₂, N₂, CH₄, H₂, que cuando se producen in-situ pueden contribuir a la repesurización de un yacimiento; también se disuelven en el crudo y reducen su viscosidad, mejorando de esta manera el desplazamiento del aceite, especialmente en yacimientos maduros (Bryant, 1987). La producción de gases es uno de los mecanismos propuestos que provoca el incremento de la recuperación de aceite (Sharma *et al.*, 1993).

El CO₂ proviene de la fermentación de la glucosa que está presente en la melaza. La reacción (simplificada) del proceso por el cual la glucosa se transforma en CO₂, se presenta a continuación (Madigan, 2003):



Se sabe que los gases se producen principalmente por la fermentación de la fuente de carbono; es este el caso la melaza, aunque se ha reportado que el crudo también puede utilizarse por las bacterias como fuente de carbono (Han et al., 2001).

El comportamiento de la presión durante las pruebas de recuperación mejorada se presenta en la Fig. 3.19. y Fig. 3.20. En las figuras siguientes se observa que el aumento de la presión es creciente hasta estabilizarse; en ambas pruebas, con hidrocarburo mediano y pesado, las presiones se elevaron, lo cual indica que el microorganismo estaba activo; este comportamiento fue similar durante la primera y la segunda inyección de MEOR.

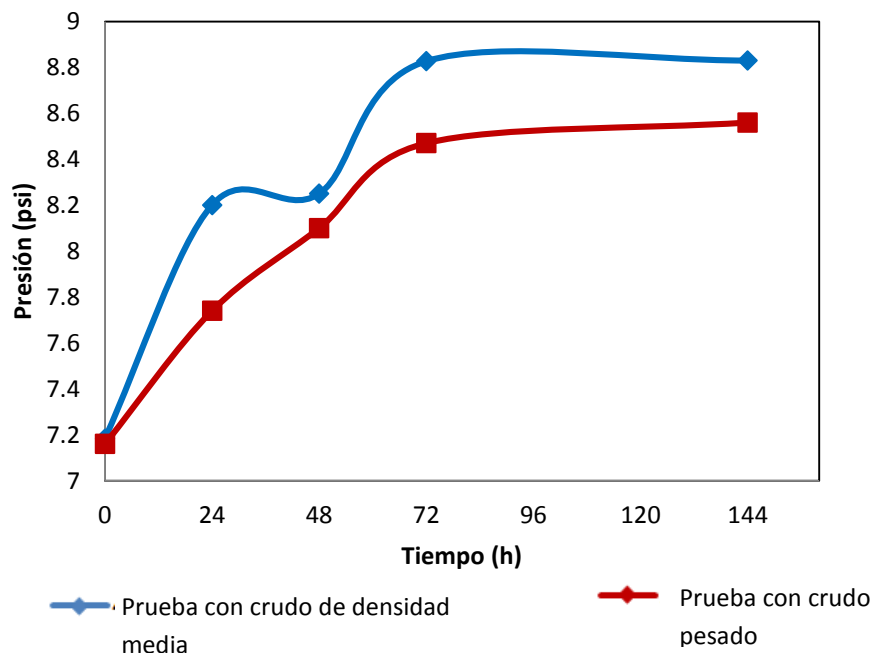


Figura 3.19 Comportamiento de la presión durante la primera inyección de microorganismos.

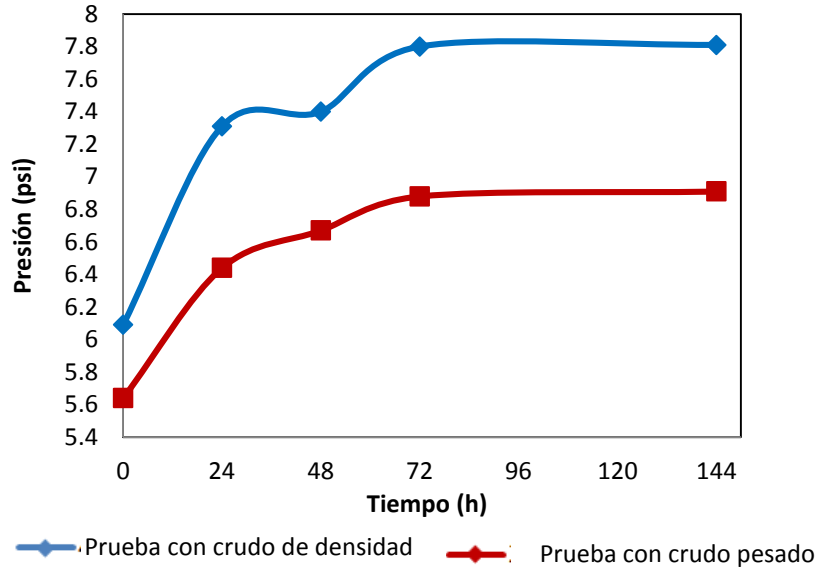


Figura 3.20 Comportamiento de la presión durante la segunda inyección de microorganismos.

En las pruebas realizadas anteriormente en este trabajo, se demostró la capacidad del cultivo de microorganismos anaerobios de producir gases, principalmente CO_2 . Durante los experimentos llevados a cabo en columnas empacadas, se midió la presión del sistema, al estar selladas las columnas; un incremento en la presión significa mayor presencia de gases. En otros trabajos también se ha reportado el incremento de la presión debido a la producción de gases (producto de la respiración de los microorganismos), el cual es un indicador del crecimiento de los microorganismos en columnas empacadas (McInerney *et al*, 2001).



CONCLUSIONES

El grupo de microorganismos evaluados y sus metabolitos, pueden incrementar la recuperación de aceite de densidad media y de aceite pesado en sistemas no consolidados.

Se evidenció mediante la prueba de la gota y la medición de la tensión superficial, que el cultivo de microorganismos anaerobio termófilo produce biosurfactantes capaces de reducir la tensión superficial.

Se encontró que el cultivo de microorganismos produce metabolitos útiles para la recuperación de aceite, como los gases, principalmente CO₂.

Dentro de las variables estudiadas que fueron: tipo de roca, tamaño del grano, concentración de carbono y de nitrógeno, las variables que más influencia tuvieron en la recuperación de aceite fueron la concentración de carbono y el tipo de roca. En estos sistemas, la combinación de variables que presentó la recuperación mayor de aceite pesado en tubos de ensaye, correspondió al granulado tipo arenisca de afloramiento de malla 40, con la concentración de carbono de 5 g/L y de nitrógeno de 0.25 g/L.

La concentración de la fuente de carbono, resultó ser el factor que más influyó en la recuperación de aceite pesado en sistemas no consolidados. El tipo de roca fue el segundo factor que más efecto tuvo en la recuperación de crudo. En estos sistemas se determinó que la recuperación en sistemas preferentemente mojados por agua fue mayor.

En columnas empacadas de arena, se obtuvo un valor promedio de recuperación de aceite de densidad media por inyección de agua de 6.8% con respecto a la cantidad de aceite original. Asimismo, se registró un valor promedio de 12.4% de recuperación



de aceite de densidad media, con respecto al aceite remanente por acción de los microorganismos.

En columnas empacadas de arena, se obtuvo un valor promedio de 9.4% de recuperación de aceite pesado por inyección de agua. Se presentó un valor promedio de recuperación de aceite pesado de 9.9% adicional con respecto a la recuperación secundaria causado por el efecto microbiano.

La comparación de eficiencias de la recuperación indica que MEOR puede ser efectiva para aceites de densidad media así como para aceites pesados de hasta 11°API.

Las pruebas en columnas empacadas de arena ayudan a realizar una evaluación preliminar a escala de laboratorio del proceso de recuperación de aceite, debido a la acción de los microorganismos; permiten observar la interacción de tres componentes importantes en el proceso de recuperación de aceite vía microbiana, que son los microorganismos, la roca y el aceite.



RECOMENDACIONES

Resulta significativo realizar pruebas adicionales para identificar otros metabolitos producidos por los microorganismos y que pueden influir en la recuperación de aceite, como son los ácidos y solventes.

Se sugiere realizar experimentos en sistemas consolidados a condiciones de presión de yacimiento, ya que éste trabajo se realizó a presión atmosférica.

Es conveniente determinar el flujo de inyección óptimo en columnas empacadas de arena, que permita maximizar la cantidad de aceite recuperado a causa de la acción de los metabolitos.

Se recomienda llevar a cabo la caracterización del crudo antes y después de las pruebas, para determinar si existen cambios físicos o químicos durante el proceso de recuperación debido a la actividad de los microorganismos.

Es conveniente realizar las pruebas con roca del yacimiento, para poder determinar su efecto en el crecimiento de los microorganismos y en la recuperación de aceite.



GLOSARIO

Biopelícula: Organizaciones microbianas compuestas por microorganismos que se adhieren a las superficies gracias a la secreción de un exopolímero.

Consortio microbiano: Conjunto de microorganismos que tienen una relación funcional común.

Flora microbiana: Conjunto de microorganismos cuyas propiedades morfológicas, fisiológicas y genéticas les permiten colonizar y multiplicarse en las condiciones presentes en determinados sitios.

Hipertermófilo: Característica de un organismo cuya temperatura de crecimiento está por encima de los 90°C.

Inóculo: Microorganismo(s) que se transfiere(n) a un ser vivo o a un medio de cultivo a través de la inoculación.

Medio de cultivo: Material alimenticio en el que crecen los microorganismos.

Sobrenadante: Parte superior clara de cualquier mezcla después de ser centrifugada.

Termófilo: Característica de un organismo cuya temperatura de crecimiento está por encima de los 40°C.

Termoestabilidad: Que no se altera con facilidad por la acción de la temperatura.



REFERENCIAS

1. Abd Karim, M.G., Salim, M.A.H., Zain, Z.M., et al. 2001. Microbial Enhanced Oil Recovery (MEOR) Technology in Bokir Field, Sarawak. Artículo SPE 72125, presentado en SPE Asia Pacific Improved Oil Recovery Conference, Kuala Lumpur, Malasia, octubre 6-9. <http://dx.doi.org/10.2118/72125-MS>.
2. Abtahi, N., Roostaazad, R. y Ghadiri, F. 2003. Biosurfactant Production in MEOR for Improvement of Iran's Oil Reservoir's Production Experimental Approach. Artículo SPE 84907, presentado en SPE International Improved Oil Recovery Conference in Asia Pacific, Kuala Lumpur, Malasia, octubre 20-21. <http://dx.doi.org/10.2118/84907-MS>.
3. Ahmed, T.H. 2001. *Reservoir Engineering Handbook*, second edition. Houston, Texas: Gulf Professional Publishing.
4. Al-Garni, M.T. y Al-Anazi, B.D. 2008. Investigation of Wettability Effects on Capillary Pressure, and Irreducible Saturation for Saudi Crude Oils, Using Rock Centrifuge. *Oil and Gas Business* 2: 1-17. http://www.ogbus.ru/eng/authors/Al-Garni/Al-Garni_1.pdf (descargado 11 de mayo de 2012).
5. Al-Mjeni, R., Arora, S., Cherukupalli, P., et al. 2011. ¿Llegó el Momento para la Tecnología EOR? *Oilfield Review* **22** 4: 16-35. http://www.slb.com/~media/Files/resources/oilfield_review/spanish10/win10/02_llego.pdf (descargado 09 de abril de 2013).
6. Al-Sulaimani, H., Joshi, S., Al-Wahaibi, Y., et al. 2011. Microbial Biotechnology for Enhancing Oil Recovery: Current Developments and Future Prospects. *Invited Review Biotechnol. Bioinf. Bioeng.* **1**(2):147-158. <http://www.bioscipub.com/journals/bbb/pdf/147-158.pdf> (descargado 23 de junio de 2013).
7. Alvarado, V. y Manrique, E. 2010. Enhanced Oil Recovery: An Update Review. *Energies* **3** (9): 1529-1575. <http://dx.doi.org/10.3390/en3091529>.



8. Aparicio Brito, J. del V. (2011). Evaluación del Proyecto de Recuperación Secundaria por Inyección de Gas en la Arena N1 Yacimiento YS-303 del Campo Oveja, Distrito San Tomé. Tesis de Licenciatura. Universidad de Oriente, Escuela de Ingeniería y Ciencias Aplicadas, departamento del Petróleo, Puerto de la Cruz, Venezuela. <http://ri.biblioteca.udo.edu.ve/handle/123456789/2566>.
9. Armstrong, R.T. y Wildenschild, D. 2011. Decoupling the Mechanisms of Microbial Enhanced Oil Recovery. Artículo SPE 146714, presentado en SPE Annual Technical Conference and Exhibition, Denver, Colorado, EUA, octubre 30-noviembre 2. <http://dx.doi.org/10.2118/146714-MS>.
10. Armstrong, R.T. y Wildenschild, D. 2012. Investigating the Pore-Scale Mechanisms of Microbial Enhanced Oil Recovery. *J. Pet. Sci. Eng.* **94-95**: 155–163. <http://dx.doi.org/10.1016/j.petrol.2012.06.031>.
11. Bao, M., Kong, X., Jiang, G., et al. 2009. Laboratory Study on Activating Indigenous Microorganisms to Enhance Oil Recovery in Shengli Oilfield. *J. Pet. Sci. Eng.* **66** (1-2): 42–46. <http://dx.doi.org/10.1016/j.petrol.2009.01.001>.
12. Bodour, A.A. y Miller–Maier, R. (1998). Application of a Modified Dropcollapse Technique for Surfactant Quantitation and Screening of Biosurfactant–Producing Microorganisms. *J. Microbiol. Methods* **32** (3): 273-280. [http://dx.doi.org/10.1016/S0167-7012\(98\)00031-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0167-7012(98)00031-1).
13. BP. 2013. BP Statistical Review of World Energy June 2013. http://www.bp.com/content/dam/bp/pdf/statistical-review/statistical_review_of_world_energy_2013.pdf (descargado 02 de agosto de 2013).
14. Brown, L. 2010. Microbial Enhanced Oil Recovery (MEOR). *Curr. Opin. Microbiol.* **13** (3):16–320. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2010.01.011>.
15. Bryant, R.S. 1987. Potential Uses of Microorganisms in Petroleum Recovery Technology. *Proc. Okla. Acad. Sci.* **67**: 97-104. http://digital.library.okstate.edu/oas/oas_pdf/v67/p97_104.pdf (descargado 04 de noviembre de 2012).



16. Bryant, R.S. y Douglas, J. 1988. Evaluation of Microbial Systems in Porous Media for EOR. *SPE Res Eng* **3** (2): 489-495. <http://dx.doi.org/10.2118/16284-PA>.
17. Bryant, S.L. y Lockhart, T.P. 2000. Reservoir Engineering Analysis of Microbial Enhanced Oil Recovery. Artículo SPE 63229, presentado en SPE Annual Technical Conference and Exhibition, Dallas, Texas, EUA, octubre 1-4. <http://dx.doi.org/10.2118/63229-MS>.
18. Castorena-Cortés, G., Roldán-Carrillo, T., Reyes-Ávila, J., et al. 2012. Coreflood Assay Using Extremophile Microorganisms for Recovery of Heavy Oil in Mexican Oil Fields. *J. Biosci. Bioeng.* **114** (4): 440-445. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiosc.2012.05.011>.
19. Castorena-Cortés, G., Zapata-Peñasco, I., Roldán-Carrillo, T., et al. 2012. Evaluation of Indigenous Anaerobic Microorganisms from Mexican Carbonate Reservoirs with Potential MEOR Application. *J. Petrol. Sci. Eng.* **81**: 86-93. <http://dx.doi.org/10.1016/j.petrol.2011.12.010>.
20. Clark, J.B., Munnecke, D.M. y Jenneman, G.E. 1981. In Situ Microbial Enhancement of Oil Production. *Dev. Ind. Microbiol.* **22**: 695–701.
21. Cockell, C.S. y Osinski, G.R. 2007. Impact-Induced Impoverishment and Transformation of a Sandstone Habitat for Lithophytic Microorganisms. *Meteorit. Planet. Sci.* **42** (11): 1985-1993. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1945-5100.2007.tb00555.x>.
22. Comisión Nacional de Hidrocarburos. 2010. Factores de Recuperación de Aceite y Gas en México, Documento Técnico (DT-1), 4 de junio. <http://www.cnh.gob.mx/docs/DOCUMENTOTECNICO1FINAL.pdf> (descargado 05 de febrero de 2013).
23. Craig, F.F. Jr. 1982. *Aspectos de Ingeniería de la Inyección de Agua*. New York: SPE.
24. Cruz Hernández, J., Islas Juárez, R., Márquez Ramírez, E., et al. 2005. Influencia del Agua de Inyección Durante un Proceso de Recuperación Secundaria en Yacimientos Areno-Arcillosos. Cuarto E-Exitep 2005, Veracruz, Ver., México, febrero 20-23.



- <http://www.cedip.edu.mx/graficacion/petroleros/Administraci%C3%B3n%20de%20Pemex%20Exploracion/Yacimientos/20%20INFLUENCIA%20DEL%20AGUA%20DE%20INYECCION%20DURANTE.pdf> (descargado 07 de junio de 2013).
25. Cruz Restrepo, E., Restrepo Correa, J. y Medina Varela, P.D. 2008. Comparación de las Metodologías Clásica y Taguchi del Diseño Experimental en un Ingenio Azucarero del Valle del Cauca. *Tecnura* **12** (23): 46-59. <http://tecnura.udistrital.edu.co/ojs/index.php/revista/search/authors/view?firstName=Eduardo&middleName=Arturo&lastName=Cruz%20Restrepo&affiliation=Universidad%20Tecnol%C3%B3gica%20de%20Pereira.&country=CO>.
26. Da Silva, M. 2011. Análisis de las Relaciones Porosidad y Permeabilidad en Sedimentos no Consolidados. Tesis de Licenciatura, Universidad Simón Bolívar, Decanato de Estudios Profesionales, Coordinación de Geofísica, Sartenejas, Miranda, Venezuela. <http://www.gc.usb.ve/geocoordweb/tesis/Pre/Melia%20Da%20Silva.pdf> (descargado 07 de febrero de 2013).
27. Dehghan-Noudeh, G., Hasan Moshafi, M., Behravan, E., et al. 2009. Screening Three Strains of Pseudomonas Aeruginosa: Prediction of Biosurfactant-Producer Strain. *American J. Appl. Sci.* **6** (8): 1453-1457.
28. Drelich, J., Fang, Ch. y White, C. 2002. Measurement of Interfacial Tension in Fluid-Fluid Systems. En *Encyclopedia of Surface and Colloid Science*, ed. A.T. Hubbard, Vol. 3, 3152-3166. New York: M. Dekker. <http://www.iqm.unicamp.br/~wloh/cursos/extensao/m2.pdf> (descargado 27 de mayo de 2013).
29. The Economist Intelligence Unit Limited. 2012. Independence Day: A Special Report on North America's Oil and Gas Boom. London: The Economist.
30. Escobar Macualo, F. 2010. Fundamentos de Ingeniería de Yacimientos. Neiva, Huila, Colombia: Editorial Universidad Surcolombiana <ftp://ftp.itb.ac.id/pub/download/ebooks/petroleum.engineering/escobar,%20f%20-%20ingenieria%20de%20yacimientos.pdf> (descargado 14 de noviembre de 2012).



31. Gachuz-Muro, H. 2009. Analogous Reservoirs to Chicontepec, Alternatives of Exploitation for this Mexican Oil Field. Artículo SPE 120265, presentado en EUROPEC/EAGE Conference and Exhibition, Amsterdam, Holanda, junio 8-11. <http://dx.doi.org/10.2118/120265-MS>.
32. Gil Valdivia, G. 2008. La Crisis del Petróleo en México: El Sector Energético Nacional y la Visión de Largo Plazo del Desarrollo del País. En *La Crisis del Petróleo en México: Foro Consultivo Científico y Tecnológico*, G. Gil Valdivia y S. Chacón Domínguez, coords., 31-46. México, D.F.: Foro Consultivo Científico y Tecnológico, A.C. http://www.foroconsultivo.org.mx/libros_editados/petroleo.pdf (descargado 15 de julio de 2013).
33. Glover, P.W.J. y Walker, E. 2009. Grain-Size to Effective Pore-Size Transformation Derived from Electrokinetic Theory. *Geophysics* **74** (1): E17–E29. <http://dx.doi.org/10.1190/1.3033217>.
34. Green, D.W. y Willhite, G.P. 1998. *Enhanced Oil Recovery*, Vol. 6. Richardson, Texas: Textbook Series, SPE.
35. Gudiña, E.J., Rodrigues, L.R., Teixeira, J.A., et al. 2012. Biosurfactant Producing Microorganisms and its Application to Enhance Oil Recovery at Lab Scale. Artículo SPE 154598, presentado en SPE EOR Conference at Oil and Gas West Asia, Muscat, Oman, abril 16-18. <http://dx.doi.org/10.2118/154598-MS>.
36. Gudiña, E.J., Rodrigues, L.R., Teixeira, J.A., et al. 2012. Microbial Enhanced Oil Recovery by Bacillus Subtilis Strains under Simulated Reservoir Conditions. Artículo SPE 161458, presentado en Abu Dhabi International Petroleum Conference and Exhibition, Abu Dhabi, EAU, noviembre 11-14. <http://dx.doi.org/10.2118/161458-MS>.
37. Hernández-Gama, R., Muñoz-Colunga, A., Hernández Mendoza, E., et al. 2013. Identification of Carbon Dioxide Producing Microorganisms Originating from Mexican Oil Wells with Potential Application in Oil Recovery. *Journal of Petroleum Science Research* **2** (1): 1-13. www.jpsr.org/Download.aspx?ID=5727 (descargado 08 de junio de 2013).



38. Hitzman, D.O., Stepp, A.K., Dennis, D.M., et al. 2003. Innovative MIOR Process Utilizing Indigenous Reservoir Constituents. Final Technical Report. U.S. Department of Energy, National Petroleum Technology Office, Tulsa, Oklahoma. <http://www.netl.doe.gov/technologies/oil-gas/publications/EP/15214FinalRpt.pdf> (descargado 03 de mayo de 2013).
39. Ivanova, I., Dumitru, M., Voiculescu, A., et al. 2008. Microbial Isolates with High Potential for Crude Oil Bioremediation. Proc. International Scientific Conference “Challenge for Bulgarian Science and Europe Space Research”, junio 5-6, Stara Zagora, Bulgaria. http://www.sustz.com/Proceeding08/Papers/BIOLOGY/Ivanova_Iliana.pdf (descargado 18 de junio de 2013).
40. Jack, T.R. 1991. Microbial Enhancement of Oil Recovery. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2**: 444-449.
41. Jang, L.-K., Sharma, M.M. y Yen, T.F. 1984. The Transport of Bacteria in Porous Media and its Significance in Microbial Enhanced Oil Recovery. Artículo SPE 12770, presentado en SPE California Regional Meeting, Long Beach, California, EUA, abril 11-13. <http://dx.doi.org/10.2118/12770-MS>.
42. Jimoh, I. 2012. Microbial Enhanced Oil Recovery. PhD thesis. Aalborg University, Faculty of Engineering and Science, Esbjerg, Dinamarca (agosto 2012).
43. Khire, J.M. y Khan, M.I. 1994. Microbially Enhanced Oil Recovery (MEOR). Part 1: Importance and Mechanism of MEOR. *Enzyme Microb. Technol.* **16** (2): 170–172. [http://dx.doi.org/10.1016/0141-0229\(94\)90081-7](http://dx.doi.org/10.1016/0141-0229(94)90081-7).
44. Kleinitz, W. y Littman, W. 1993. Reservoir Engineering Review of an Microbial Enhanced Oil Recovery Process in a North German Petroleum Reservoir. 7th European IOR Symposium, Moscú, Rusia. <http://www.cre-geo.de/Literatur/Microbial%20EOR%20Review%20N%20Germ.PDF> (descargado 17 de mayo de 2013).
45. Kowalewski, E., Rueslåtten, I., Steen, K.H., et al. 2006. Microbial Improved Oil Recovery—Bacterial Induced Wettability and Interfacial Tension Effects on Oil Production. *J. Pet. Sci. Eng.* **52** (1-4): 275–286. <http://dx.doi.org/10.1016/j.petrol.2006.03.011>.



46. Lazar, I., Petrisor, I.G. y Yen, T.F. 2007. Microbial Enhanced Oil Recovery (MEOR). *Petroleum Science and Technology* **25** (11): 1353–1366. <http://dx.doi.org/10.1080/10916460701287714>.
47. Lee, H.O., Bae, J.H., Hejl, K., et al. 1998. Laboratory Design and Field Implementation of Microbial Profile Modification Process. Artículo SPE 49074, presentado en SPE Annual Technical Conference and Exhibition, New Orleans, Louisiana, septiembre 27-30. <http://dx.doi.org/10.2118/49074-MS>.
48. Legens, C., Palermo, T., Toulhoat, H., et al. 1998. Carbonate Rock Wettability Changes Induced by Organic Compound Adsorption. *J. Pet. Sci. Eng.* **20** (3-4): 277–282. [http://dx.doi.org/10.1016/S0920-4105\(98\)00031-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0920-4105(98)00031-X).
49. Madigan, M.T., Martinko, J.M. y Parker, J. 2004. *Brock Biología de los Microorganismos*, décima edición. Madrid: Pearson Educación.
50. Mahdy, H.M., Fareid, M.A. y Hamdan, M.N. 2012. Production of Biosurfactant from Certain Candida Strains Under Special Conditions. *Researcher* **4** (7): 39-55. http://www.sciencepub.net/researcher/research0407/06_10179research0407_39_55.pdf (descargado 04 de junio de 2013).
51. Maure, M.A., Dietrich, F.L., Diaz, V., et al. 1999. Microbial Enhanced Oil Recovery Pilot Test in Piedras Coloradas Field, Argentina. Artículo SPE 53715, presentado en Latin American and Caribbean Petroleum Engineering Conference, Caracas, Venezuela, abril 21-23. <http://dx.doi.org/10.2118/53715-MS>.
52. McInerney, M.J., Duncan, K.E, Youssef, N., et al. 2005. Development of Microorganisms with Improved Transport and Biosurfactant Activity for Enhanced Oil Recovery. Final Report. DE-FC-02NT15321 R 02. Department of Botany and Microbiology and Department of Petroleum Engineering, University of Oklahoma, Norman, Oklahoma (agosto 15). http://www.netl.doe.gov/KMD/cds/disk44/I-Microbial/NT15321_Final.pdf (descargado 26 de junio de 2013).
53. McInerney, M.J., Mouttaki, H., Folmsbee, M., et al. 2001. Development of More Effective Biosurfactants for Enhanced Oil Recovery. Semi-Annual Report. DE-AC26-98BC15113, Department of Botany and Microbiology, University of Oklahoma, Norman, Oklahoma (abril 30).



http://www.netl.doe.gov/KMD/cds/disk44/I-Microbial/BC15113_3.pdf
(descargado 15 de noviembre de 2012).

54. Morrow, N.R. 1990. Wettability and its Effect on Oil Recovery. *J. Pet Tech* **42** (12): 1476-1484. SPE-21621-PA. <http://dx.doi.org/10.2118/21621-PA>.
55. Nagase, K., Zhang, S.T., Asami, H., et al. 2002. A Successful Field Test of Microbial EOR Process in Fuyu Oilfield, China. Artículo SPE 75238, presentado en SPE/DOE Improved Oil Recovery Symposium, Tulsa, Oklahoma, abril 13-17. <http://dx.doi.org/10.2118/75238-MS>.
56. Nazina, T., Griror'yan, A., Feng, Q., et al. 2007. Microbiological and Production Characteristics of the High-Temperature Kongdian Petroleum Reservoir Revealed During Field Trial of Biotechnology for the Enhancement of Oil Recovery. *Microbiology* **76** (3): 297-309. <http://dx.doi.org/10.1134/S002626170703006X>.
57. Norges Teknisk-Naturvitenskapelige Universitet. 2010. Comparative Study of Different EOR Methods. TGP4852: Experts in Team Norne Village. Department of Petroleum Engineering, Norwegian University of Science and Technology, Trondheim, Norway. <http://www.ipt.ntnu.no/~norne/wiki/lib/exe/fetch.php?media=english:nw10:tr6.pdf> (descargado 13 de abril de 2013).
58. Organization of the Petroleum Exporting Countries. 2011. World Oil Outlook OPEC 2011. Vienna, Austria: OPEC Secretariat. http://www.opec.org/opec_web/static_files_project/media/downloads/publications/WOO_2011.pdf (descargado 15 de julio de 2013).
59. Portwood, J.T. 1995. A Commercial Microbial Enhanced Oil Recovery Technology: Evaluation of 322 Projects. Artículo SPE 29518, presentado en SPE Production Operations Symposium, Oklahoma City, Oklahoma, EUA, abril 2-4. <http://dx.doi.org/10.2118/29518-MS>.
60. Ramírez, J. 2008. Pruebas de trazadores en la recuperación de hidrocarburos. Trabajo de ingreso a la Academia de Ingeniería.
61. Rashedi, H., Mazaheri Assadi, M., Bonakdarpour, B., et al. 2005. Environmental Importance of Rhamnolipid Production from Molasses as a Carbon Source. *Int.*



- J. Environ. Sci. Tech.* **2** (1): 59-62. <http://www.bioline.org.br/request?st05008> (descargado 09 de mayo de 2013).
62. Rashedi, H., Yazdian, F. y Naghizadeh, S. 2012. Microbial Enhanced Oil Recovery. En *Introduction to Enhanced Oil Recovery (EOR) Processes and Bioremediation of Oil-Contaminated Sites*, ed. L. Romero-Zerón, Cap. 4, 71-87. Rijeka, Croacia: INTECH. <http://www.intechopen.com/books/introduction-to-enhanced-oil-recovery-eor-processes-and-bioremediation-of-oil-contaminated-sites/microbial-enhanced-oil-recovery> (descargado 27 de abril de 2013).
63. Ríos Manriquez, N. 2008. Aislamiento de Cepas Anaerobias Termófilas Productoras de Celulasas y Hemcelulasas, Provenientes de La Región Altiplánica de Bolivia, Implicadas en la Producción de Etanol Mediante Técnicas de Cultivo y Asilamiento Tradicionales y no Tradicionales. Tesis de Licenciatura, Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, La Paz, Bolivia.
64. Romero-Zerón, L. 2012. Advances in Enhanced Oil Recovery Processes. Introduction to Enhanced Oil Recovery. En *Introduction to Enhanced Oil Recovery (EOR) Processes and Bioremediation of Oil-Contaminated Sites*, ed. L. Romero-Zerón, Cap. 1, 3-44. Rijeka, Croacia: INTECH. <http://www.intechopen.com/books/introduction-to-enhanced-oil-recovery-eor-processes-and-bioremediation-of-oil-contaminated-sites/advances-in-enhanced-oil-recovery> (descargado 17 de junio de 2013).
65. Saharan, B.S., Sahu, R.K. y Sharma, D. 2012. A Review on Biosurfactants: Fermentation, Current Developments and Perspectives. *Genet. Eng. Biotechnol. J.* 2011 (29): 1-14. http://astonjournals.com/manuscripts/Vol2011/GEBJ-29_Vol2011.pdf (descargado 06 de febrero de 2013).
66. Secretaría de Energía. 2012. Estrategia Nacional de Energía 2013-2027. http://www.sener.gob.mx/res/PE_y_DT/pub/2013/ENE_2013-2027.pdf (descargado 17 de julio de 2013).
67. Secretaría de Energía. 2012. Prospectiva del Petróleo Crudo 2012-2026. México, D.F.: SENER, Dir. Gral. de Planeación e Información Energética. http://www.sener.gob.mx/res/PE_y_DT/pub/2012/PPCI_2012_2026.pdf (descargado 06 de julio de 2013).



68. Sen, R. 2008. Biotechnology in Petroleum Recovery: The Microbial EOR. *Prog. Energ. Combust. Sci.* **34** (6): 714– 724. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pecs.2008.05.001>
69. Sharma, M. y Georgiu, G. 1993. Microbial Enhanced Oil Recovery Research. Final Report, Annex V. DOE/BC/14445-12. U.S. Department of Energy, Assistant Secretary for Fossil Energy, Washington, DC. <http://www.osti.gov/scitech/servlets/purl/10176017>.
70. Sheldon, R. y Tarta, R. 2008. México: El Gigante Cambia de Rumbo. Un Reporte Especial de Oil and Gas Investor y Global Business Reports. <http://www.gbreports.com/admin/reports/OGI-mexico-spanish.pdf> (descargado 14 de julio de 2013).
71. Shepherd, R. 1989. Correlations of Permeability and Grain Sizes. *Groundwater* **27** (5):633-638. <http://info.ngwa.org/gwol/pdf/892549680.PDF> (descargado 07 de junio de 2013).
72. Sidsel, S.M. 2010. Microbial Enhanced Oil Recovery: Advanced Reservoir Simulation. PhD. thesis, Technical University of Denmark, Department of Chemical and Biochemical Engineering, Kongens Lyngby, Dinamarca. http://orbit.dtu.dk/fedora/objects/orbit:85758/datastreams/file_5455607/content (descargado 04 de mayo de 2013).
73. Soudmand-asli, A., Shariatpanahi, F.S., Emadi, S.H., et al. 2010. Underground Biobarrier Formation for Preventing Contamination Migration. Artículo SPE 136089, presentado en Middle East Health, Safety, Security, and Environment Conference and Exhibition, Manama, Bahrain, octubre 4-6. <http://dx.doi.org/10.2118/136089-MS>.
74. Strappa, L.A., De Lucia, J.P., Maure, M.A., et al. 2004. A Novel and Successful MEOR Pilot Project in a Strong Water-Drive Reservoir Vizcacheras Field, Argentina. Artículo SPE 89456, presentado en SPE/DOE Symposium on Improved Oil Recovery, Tulsa, Oklahoma, EUA, abril 17-21. <http://dx.doi.org/10.2118/89456-MS>.



75. Terry, R. 2001. Enhanced Oil Recovery. En *Encyclopedia of Physical Science and Technology*, third edition, ed. R.A. Meyers, Vol. 18, 503-518. San Diego, California: Academic Press.
76. Tunio, S.Q., Tunio, A.H., Ghirano, N.A., et al. 2011. Comparison of Different Enhanced Oil Recovery Techniques for Better Oil Productivity. *International Journal of Applied Science and Technology* **1** (5): 143-153. http://www.ijastnet.com/journals/Vol_1_No_5_September_2011/18.pdf (descargado 02 de mayo de 2013).
77. Walter, V., Syldatk, C. y Hausmann, R. 2010. Screening Concepts for the Isolation of Biosurfactant Producing Microorganisms. En *Biosurfactants*, ed. R. Sen, Cap. 1, 1-13. New York: Springer Science+Business Media, LLC. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6189/> (descargado 11 de febrero de 2013).
78. Wolicka, D. y Borkowski, A. 2012. Microorganisms and Crude Oil. En *Introduction to Enhanced Oil Recovery (EOR) Processes and Bioremediation of Oil-Contaminated Sites*, ed. L. Romero-Zerón, Cap. 5, 113-142. Rijeka, Croacia: INTECH. <http://www.intechopen.com/books/introduction-to-enhanced-oil-recovery-eor-processes-and-bioremediation-of-oil-contaminated-sites/microorganisms-and-crude-oil> (descargado 16 de marzo de 2013).
79. Xu, W. 2005. Experimental Investigation of Dynamic Interfacial Interactions at Reservoir Conditions. MS thesis, Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College, The Craft and Hawkins Department of Petroleum Engineering. http://etd.lsu.edu/docs/available/etd-04112005-141253/unrestricted/Xu_thesis.pdf (descargado 06 de junio de 2013).
80. Yakimov, M.M., Timmis, K.N., Wray, V., et al. 1995. Characterization of a New Lipopeptide Surfactant Produced by Thermotolerant and Halotolerant Subsurface *Bacillus Licheniformis* BAS5. *Appl. Environ. Microbiol.* **61** (5): 1706–1713. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC167432/pdf/611706.pdf> (descargado 15 de febrero de 2013).
81. Youssef, N., Elshahed, M.S. y McInerney, M.J. 2009. Microbial Processes in Oil Fields: Culprits, Problems, and Opportunities. En *Advances in Applied Microbiology*, Vol. 66, eds. A.I. Laskin, S. Sariaslani, y G.M. Gadd, (Eds.), Cap. 6, 141-251. Burlington: Academic Press, pp. 141–251.



<http://microbiology.okstate.edu/faculty/mostafa/publications/PetMicrorev.pdf>
(descargado 20 de octubre de 2012).

82. Zekri, A.Y., Ghannam, M.T. y Almehaideb, R.A. 2003. Carbonate Rocks Wettability Changes Induced by Microbial Solution. Artículo SPE 80527, presentado en SPE Asia Pacific Oil and Gas Conference and Exhibition, Jakarta, Indonesia, septiembre 9-11. <http://dx.doi.org/10.2118/80527-MS>.



"Por mi raza hablará el espíritu"