

8º CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO EM PETRÓLEO E GÁS



TÍTULO DO TRABALHO:

OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE EXOPOLISSACARÍDEO BACTERIANO PARA A UTILIZAÇÃO NA RECUPERAÇÃO DE POÇOS MADUROS DE PETRÓLEO

AUTORES:

Sueli Carvalho dos Santos; Leila Cristiane Silva das Virgens de Souza; Paulo Fernando de Almeida; Fábio Alexandre Chinalia*.

*E-mail: chinalia@gmail.com

INSTITUIÇÃO:

Departamento de Biointeração, ICS, Universidade Federal da Bahia-UFBA Rua Miguel Calmon, s/n. Salvador-BA. CEP 40110-902.

OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE EXOPOLISSACARÍDEO BACTERIANO PARA A UTILIZAÇÃO NA RECUPERAÇÃO DE POÇOS MADUROS DE PETRÓLEO

Abstract

The aim of this research was to optimize the EPS production of *Enterobacter* sp. using glycerol and produced water from the petrol industry as main carbon source and as the base for medium preparation, respectively. EPS is commonly used for drilling and the recovery of mature wells, Xanthan gum, for instance, shows a year market turnover of US\$ 4 millions. Alternatives to xanthan are often more expensive because of the costs with media preparation and carbon sources used for sustaining the production process. This research shows that *Enterobacter* sp. is capable of growing using glycerol and the organics present in produced water. EPS production under such conditions achieved a value of 7.27 g/L, which is 1.4 folds higher than the value observed with synthetic marine medium amended with glycerol only (5.05 g/L). The produced EPS shows a pseudoplastic response with viscosity similar to xanthan in conditions tested under high salinity and temperature (1-5% and 80 °C, respectively).

Keywords: *Enterobacter* sp., Exopolysaccharide, Produced Water, Glycerol.

Introdução

O petróleo é um dos principais recursos que supre as necessidades energéticas nos diversos segmentos industriais, fomentando a economia mundial. No entanto o declínio produtivo dos poços de petróleo é uma realidade, já que somente 50% do petróleo são recuperados, ficando uma quantidade considerável de óleo retido nos poços. Prospectando o aumento produtivo na recuperação de petróleo, diversas técnicas têm sido empregadas para aumentar a produtividade dos reservatórios. Dentre essas técnicas a injeção de polímeros e surfactantes são as mais utilizadas (GUDINÃ et al., 2012; SHANSHAN et al., 2011; SEN, 2008). A recuperação melhorada de petróleo com utilização de micro-organismos MEOR, tem sido bastante utilizada na tentativa de recuperar poços considerados maduros. A bioestimulação dos micro-organismos *in situ*, a partir da injeção de nutrientes favorece produção de bioativos nos poços, e assim reduzindo a viscosidade do petróleo, a tensão interfacial entre óleo e água mobilizando o óleo até o sistema produtor (GAO e ZEKRI, 2011; ALMEIDA et al., 2004). No entanto o sucesso destas técnicas *in situ* ainda é um grande desafio, já que estas medidas estão diretamente relacionadas com o conhecimento e monitoramento das condições dos poços como: alta pressão, temperatura, salinidade e anoxia além da diversidade microbiana, que influenciam diretamente na biossíntese desses metabólitos. Por tais motivos a injeção dos biopolímeros ainda são as medidas mais adotadas na MEOR (SILVA et al., 2013; BACHMANN et al., 2014; SEN, 2008).

Os Exopolissacarídeos (EPS) microbianos são biopolímeros hidrossolúveis que podem apresentar propriedades melhoradas, se comparados a polissacarídeos derivados de plantas, algas e animais (ALVES et al., 2010). As propriedades reológicas dos EPSs favorecem aplicações nos diversos segmentos industriais. Dentre essas, a indústria petrolífera aplica o polímero nos fluidos de perfuração e recuperação de petróleo, por proporcionar viscosidade de solução aquosas em diferentes faixas de pH, salinidade e temperatura (FREITAS et al., 2011; ALVES et al., 2010; LUVIELMO e SCAMPARINI, 2009).

A fonte de carbono no processo de produção de EPS é um dos principais fatores que oneram a síntese de biopolímeros em processos industriais. A utilização de substratos residuais como fonte alternativa de carbono, e o controle no processo de produção, são medidas adotadas que favorecem a redução de custo até o processo final de produção (ALVES et al., 2010; MESOMO, 2007; KUMAR et al., 2007). Bem como uma medida alternativa para minimizar os impactos ambientais causados por descartes desses resíduos.

O Glicerol residual resultante da produção de biodiesel tem grande potencial para a utilização na produção de biopolímeros, pois além de ter baixo valor agregado, possui quantidades significativas de energia que pode dar suporte ao crescimento microbiano e a produção de EPS (FREITAS, et al., 2011). A composição da água produzida está associada a características do reservatório como: formação geológica, vida útil do poço, tipo de hidrocarboneto produzido, profundidade e tipo de água utilizada na recuperação do petróleo. Na grande maioria os compostos encontrados na água produzida são: petróleo dissolvido, minerais das rochas de formação, compostos químicos e gases, resultantes de adição desses produtos ou respostas metabólicas microbianas como a exemplo o H_2S (AHMADUN et al., 2009). Portanto a utilização desses resíduos representa um aporte nutricional para a produção de biopolímeros, representando redução de custo e destinação alternativa de tratamento desses resíduos.

O objetivo deste estudo foi produzir biopolímeros utilizando resíduos da indústria petroquímica, para a aplicação na recuperação de petróleo de poços considerados maduros.

Metodologia

Micro-organismo

Neste trabalho foi utilizada uma cepa bacteriana (CCMICS 549) do Gênero *Enterobacter*, que foi capaz de metabolizar os resíduos água produzida e glicerol, como substrato alternativo no processo de produção de biopolímero. A CCMICS 549 pertence à coleção de culturas de Micro-organismos do ICS - CCMICS do Laboratório de Biotecnologia e Ecologia de Micro-organismos – LABEM.

Meio de Produção do EPS

Para a produção de EPS, foram utilizados dois meios de cultura: (I) Meio Mineral Marinho suplementado com glicerol, (II) Meio elaborado a partir de água produzida suplementada com alguns sais e glicerina bruta (Patente BR 10 2013 023075-8). A recuperação do biopolímero produzido foi obtido por precipitação do EPS a partir da adição de etanol (1:3, v/v).

Condições Operacionais (Otimização)

A otimização do processo de produção foi determinado a partir de planejamento experimental utilizando modelagem matemática, Metodologia de Superfície de Resposta (RSM) utilizando o software Statistic 7.0. Considerando as variáveis das condições operacionais, temperatura, pH e agitação.

Análise da viscosidade do polímero

A viscosidade aparente do EPS produzido, foi avaliada em função da taxa de cisalhamento S^{-1} utilizando reômetro digital Brookfield, modelo LVDV III+, com o *spindle* 18. As soluções utilizadas estavam na concentração de 1% (m/v) do biopolímero produzido, com concentrações de NaCl (1% -5%), nas faixas de temperatura 15°C a 80°C. As unidades de medidas foram, centipoise (cP) = m.Pa.s, para viscosidade aparente, 1/segundo (s^{-1}) para taxa de cisalhamento.

Resultados e Discussão

A produção do EPS, obtido a partir do meio de cultura Meio Mineral Marinho suplementado com glicerol (MMM_G), variou mediante as condições operacionais testadas. Em testes realizados pelo planejamento experimental do RSM, observou-se que a temperatura influencia no crescimento celular e produção de biopolímero.

Nos testes preliminares ao RSM não houve crescimento bacteriano com temperaturas superiores a 45°C. Nos pontos da matriz experimental que o pH e agitação foram constantes, e apenas a temperatura mudou (26°C e 43°C), a produção de EPS variou significativamente com produções de 3,40 g.L⁻¹ e 2,62 g.L⁻¹ respectivamente. Estes dados corroboram com os obtidos por Torres et al., (2012), que teve as temperaturas influenciando na produção de polímeros e no crescimento celular e reduzindo a produção de polímero de 7,00 para 1,12 g.L⁻¹. As melhores produções ocorreram no ponto central da matriz experimental no qual a temperatura fica a 35°C com produção de 4,88 g.L⁻¹.

A significância estatística para a superfície de resposta foi calculada através da análise de variância ANOVA, modelo polinomial quadrático. A análise de variância mostrou que a significância entre as variáveis o valor de p. foi menor $p < 0,05$, indicando que o modelo adequa-se aos rendimentos sob as variáveis analisadas. O coeficiente de determinação 0,90009 significando que há concordância entre os valores experimentais com o previsto pelo modelo polinomial.

Ao validar as variáveis otimizadas pelo RSM, a partir de cinética de produção com *Enterobacter* sp. em meio MMM_G, foi possível obter 5,054 g.L⁻¹ em 66 horas de produção de EPS. Figura 01.

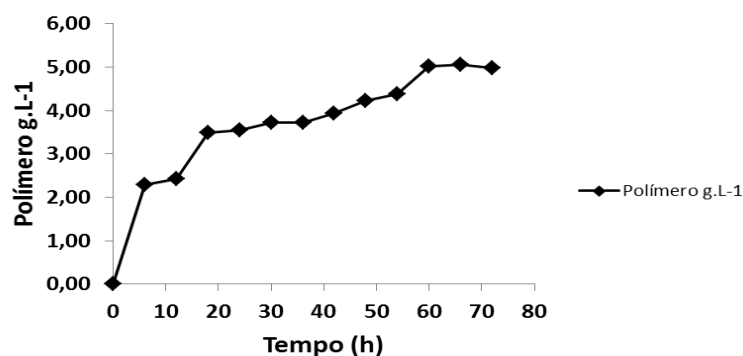


Figura 01 – Gráfico de cinética de produção de EPS em condições otimizadas.

A propriedade reológica do EPS foi avaliada através da viscosidade aparente. No fluido com concentração de 1% do polímero em diferentes temperaturas, a viscosidade não apresentou

mudanças significativas entre temperatura de 25°C a 60°C com viscosidade em média 135,8 cP, no entanto na temperatura de 80°C a viscosidade ficou em 110 cP. (Figura02). Alguns fatores podem influenciar na propriedade dos fluidos poliméricos. Fatores como a temperatura, pH e concentrações de sais influenciam na viscosidade de alguns polímeros hidrossolúveis. Eletrólitos e temperaturas podem influenciar na viscosidade aparente de polímeros reduzindo a sua elasticidade (WEVER et al., 2011; DIAZ et al., 2004).

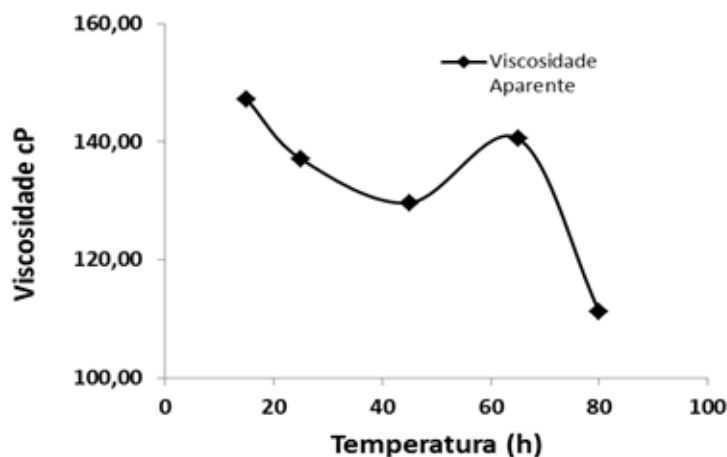


Figura 02- Viscosidade aparente da solução aquosa com 1% de EPS sintetizado por *Enterobacter* sp. em diferentes temperaturas.

Ao analisar a viscosidade em função da taxa de cisalhamento S^{-1} , em condições de salinidade com concentrações de 1% a 5% NaCl, verificou que o EPS apresentou um decréscimo da viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento. Este comportamento caracteriza-se como comportamento pseudoplástico (Figura 03). Padilha (2003) descreve que comportamento pseudoplástico é comum em exopolissacarídeo microbiano. De acordo com Borges et al., (2009), os polímeros que tem maior aplicação na indústria petrolífera são os que apresentam boa viscosidade em baixa concentração, possui pseudoplastisidade e mantem estabilidade em altas salinidades e temperaturas. A goma xantana é o polímero mais utilizado na recuperação de petróleo por possuir essas propriedades reológicas, além de ser atóxico.

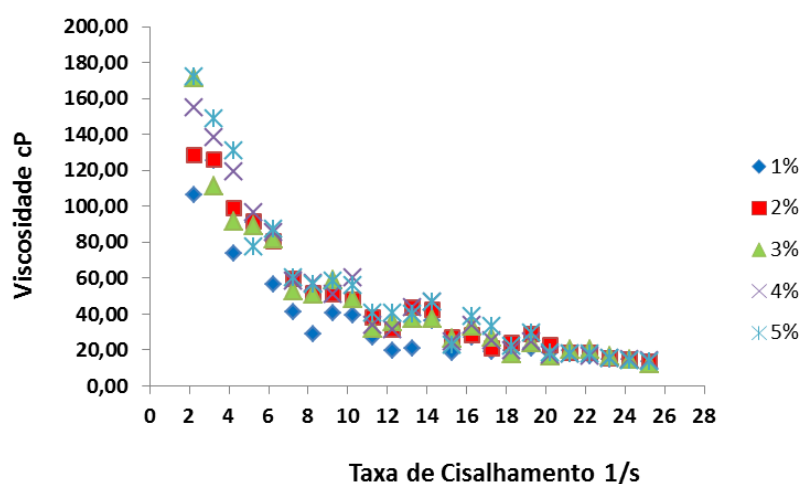


Figura 03 - Viscosidade da solução aquosa com 1% de EPS sintetizado por *Enterobacter* sp., com diferentes concentrações de NaCl.

Ao avaliar a condição da *Enterobacter* sp. em metabolizar resíduos como água produzida e glicerol, os resultados evidenciaram que a cepa além de sintetizar EPS, em meio de produção tendo como base água produzida da indústria do petróleo suplementada com glicerina bruta(GB), resultou em produção superior quando comparado com Meio Salino Mineral suplementado com glicerol após otimização, com produção máxima de 7,27 g/L⁻¹ e 5,054g/L⁻¹ respectivamente. Tabela 01.

Tabela 01 – Produção de EPS utilizando resíduos da indústria do petróleo.

Meio de Produção	Cepa	Produção (g.L ⁻¹)	Desvio Padrão
Meio Salino Mineral com glicerol	<i>Enterobacter</i> sp.	5,054	0,03
Meio a base de água produzida com (GB)	<i>Enterobacter</i> sp.	7,27	0,15

Conclusões

A bactéria *Enterobacter* sp. foi capaz de sintetizar um EPS, a partir de resíduos como glicerol, glicerina bruta, água produzida da indústria do petróleo. O EPS produzido apresentou comportamento reológico pseudoplástico, quando testado em diferentes salinidades. Portanto, apresentando propriedades promissoras para a aplicação em fluido de recuperação de petróleo.

Agradecimentos

Agradeço a Agência Nacional de Petróleo e ao Programa de Recursos Humanos em Tecnologias Avançadas para Recuperação de Petróleo e Gás em Campos Maduros (PRH-49) pela concessão da bolsa. Ao programa de Pós-Graduação RENORBIO-UFBA, e ao Laboratório de Biotecnologia e Ecologia de Micro-organismos – LABEM, e o projeto CNPq 402822/2013-7, que fornece toda a infraestrutura para realização desse estudo.

Referências Bibliográficas

- AHMADUN, F. R.; PENDASHTEH, A.; ABDULLAN, L. C.; BIAK, D. R. A.; MADAENI, S. S.; ABIDIN, Z. Z. **Review of technologies for oil and gas produced water treatment.** Journal of Hazardous Materials. V. 170. P. 530-55. 2009.
- ALMEIDA, P.F.; MOREIRA, R.S.; ALMEIDA, R.C.C.; GUIMARÃES, A.K.; CARVALHO, A.S.; QUINTELLA, C.; ESPERIDIÃ, M.C.A; TAFT. C.A. **Selection and application of microorganisms to improve oil recovery.** Eng. Life Sci. V, 04. N.4. 2004.
- ALVES, D. A; FREITAS, F; TORRES, C. A. V.; CRUZ, M.; MARQUES, R.; GRANDFILS, C.; GONCALVES, M. P.; OLIVEIRA, R.; REIS, M. A.M. **Rheological and morphological characterization of the culture broth during exopolysaccharide production by *Enterobacter* sp.** Carbohydrate Polymers. V. 81. P. 758-764. 2010.

BACHMANN, R. T.; JOHNSON, A. C.; EDYVEAN, R. G. J. **Biotechnology in the petroleum industry: An overview**. International Biodeterioration & Biodegradation. V. 86. P. 225-237. 2014.

BORGES, C. D.; VENDRUSCULO, C. T.; MARTINS, A. L.; LOMBA, R. F. T. **Comportamento reológico de xantana produzida por *Xanthomonas arboricola* pv *pruni* para aplicação em fluido de perfuração de poços de petróleo**. Polímeros: Ciência e Tecnologia, v. 19. nº 2. p. 160-165. 2009.

DIAZ, P. S.; VENDRUSCOLO, C. T.; VENDRUSCOLO, J. L. S. **Reologia de Xantana: uma Revisão sobre a Influência de Eletrólitos na Viscosidade de Soluções Aquosas de Gomas Xantana**. Ciências Exatas e Tecnológicas, Londrina, v. 25, n. 1, p. 15-28, 2004.

FREITAS, F. ALVES, V. D.; REIS, M. A. M. **Advances in bacterial exopolysaccharides: from production to biotechnological applications**. Trends in Biotechnology. V. 29. P. 388–398. 2011

GAO, C. H.; ZEKRI, A. **Applications of microbial-enhanced oil recovery technology in the past decade**. Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects. v. 33, p. 972-989, 2011.

GUDINÃ, E. J.; PEREIRA, J. F. B.; RODRIGUES, L. R. **Isolation and study of microorganisms from oil samples for application in Microbial Enhanced Oil Recovery**. International Biodeterioration & Biodegradation. v. 68. P. 56-64. 2012.

KUMAR, A.S; MODY, K; JHA, B. **Bacterial exopolysaccharides—a perception**. Journal of Basic Microbiology, v.47, p. 103–117. 2007.

LUVIELMO, M. M.; SCAMPARINI, A.R. P. **Xanthan gum: Production, recovery, properties and application**. Estudos tecnológicos- Vol, 5 nº 1: 50-67, 2009.

MESOMO, M. C. **Produção de goma xantana e biorreator utilizando meio a base de soro de queijo**. Dissertação de Mestrado. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Campus de Erechim. 2007.

SHANSHAN, S.; ZHONGZHI, Z.; YIJING, L.; WEIZHANG, Z.; MENG, X.; WENJING, Y.; LI, Y.; PENGCHENG, F. **Exopolysaccharide production by genetically engineered *Enterobacter cloacae* strain for microbial enhanced oil recovery**. Bioresource Technology. v.102, p. 6153 – 6158, 2011.

SEN, R. **Biotechnology in petroleum recovery: The microbial EOR**. Progress in Energy and Combustion Science . v.34, p. 714–724. 2008.

SILVA, T.R.; VERDE, L.C.L.; SANTOS NETO, E.V.S.; OLIVEIRA, V.M. **Diversity analyses of microbial communities in petroleum samples from Brazilian oil fields**. International Biodeterioration & Biodegradation. v.81, p. 57-70, 2013.

TORRES, C.A.V.; ANTUNES, S.; RICARDO, A.R.; GRANDFILD, C.; ALVES, F.F.; REIS, M.A.M. **Study of the interactive effect of temperature and pH on exopolysaccharide production by *Enterobacter* A47 using multivariate statistical analysis**. Bioresource Technology. v.119, p.148–156, 2012.

WEVER, D.; PICCHIONE, F.; BROEKHUIS, A.A. **Polymers for enhanced oil recovery: A paradigm for structure–property relationship in aqueous solution**. Progress in Polymer Science. v. 36, p. 1558–1628, 2011.