

Biotecnología aplicada a la industria del Petróleo



Mgter Ing. José Antonio Gálvez

UNIVERSIDAD
NACIONAL DE CUYO

MENDOZA, ARGENTINA

BIOPROCESOS

DE INGENIERÍA

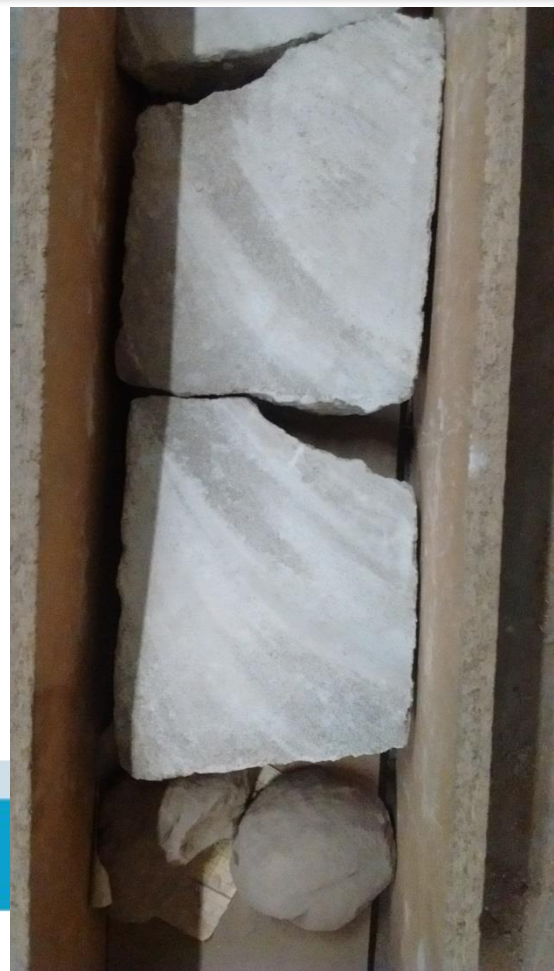
Parte B: Aplicaciones de la biotecnología al upstream

Unidad 4: Recuperación terciaria asistida por microorganismos. Bio tratamiento de agua de formación.

Unidad 5: Bio Corrosión y Bioensuciamiento. Exclusión biocompetitiva: control de SH₂



Rocas reservorio



YPF.Jj.Ca.xp-4
#4 4179,00 (a)

LCV

bioturbación M

(L)

G

G1

G/P

G/P

M

5 cm

b

B. Dol.

O. Dol.

Yeso-Anh.

0.3mm

c

Mic. Dol.

Gr. Dol.

Gr. T.

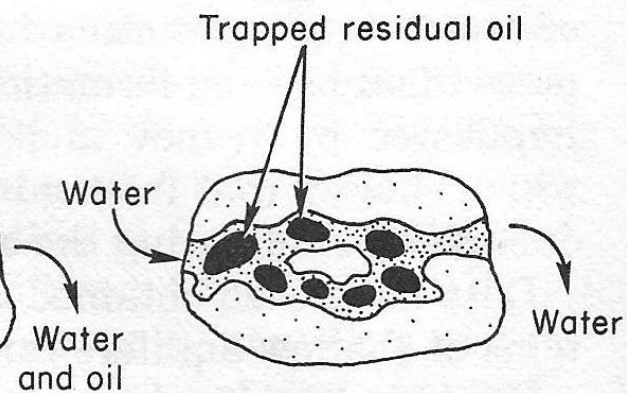
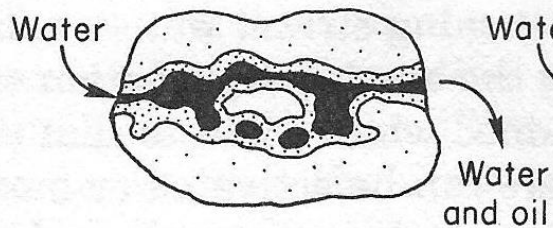
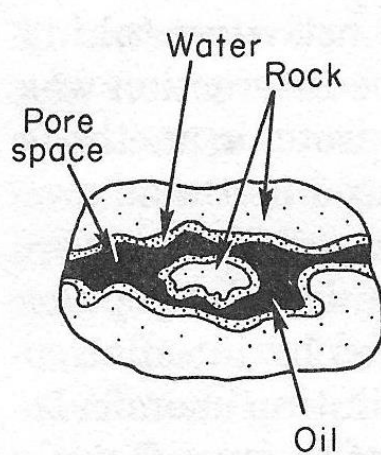
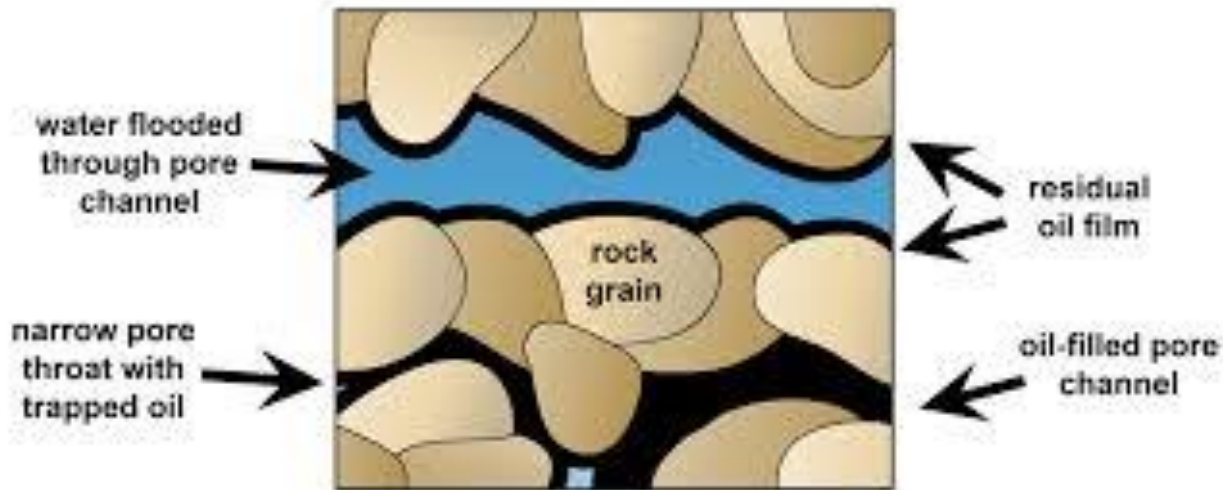
Int. Mic. Dol.

0.6mm

d

O. Dol.

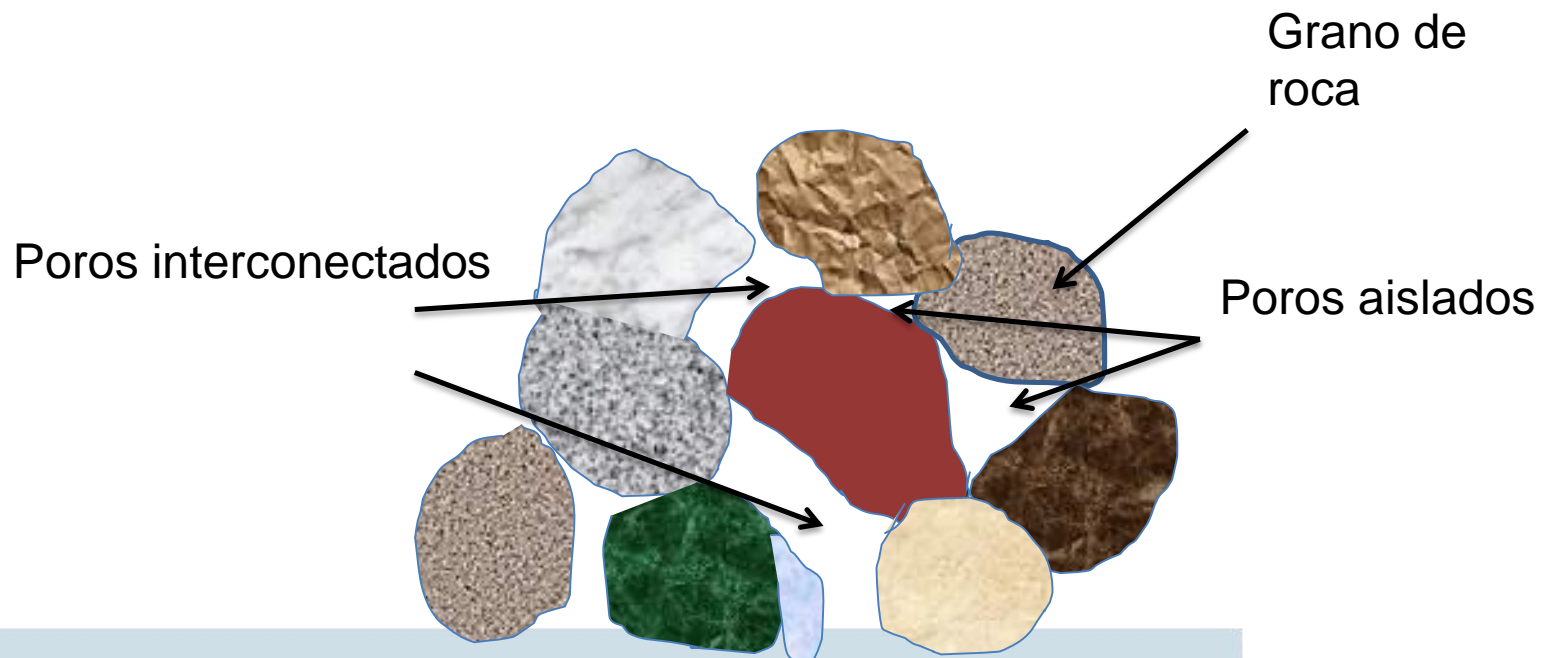
0.3mm



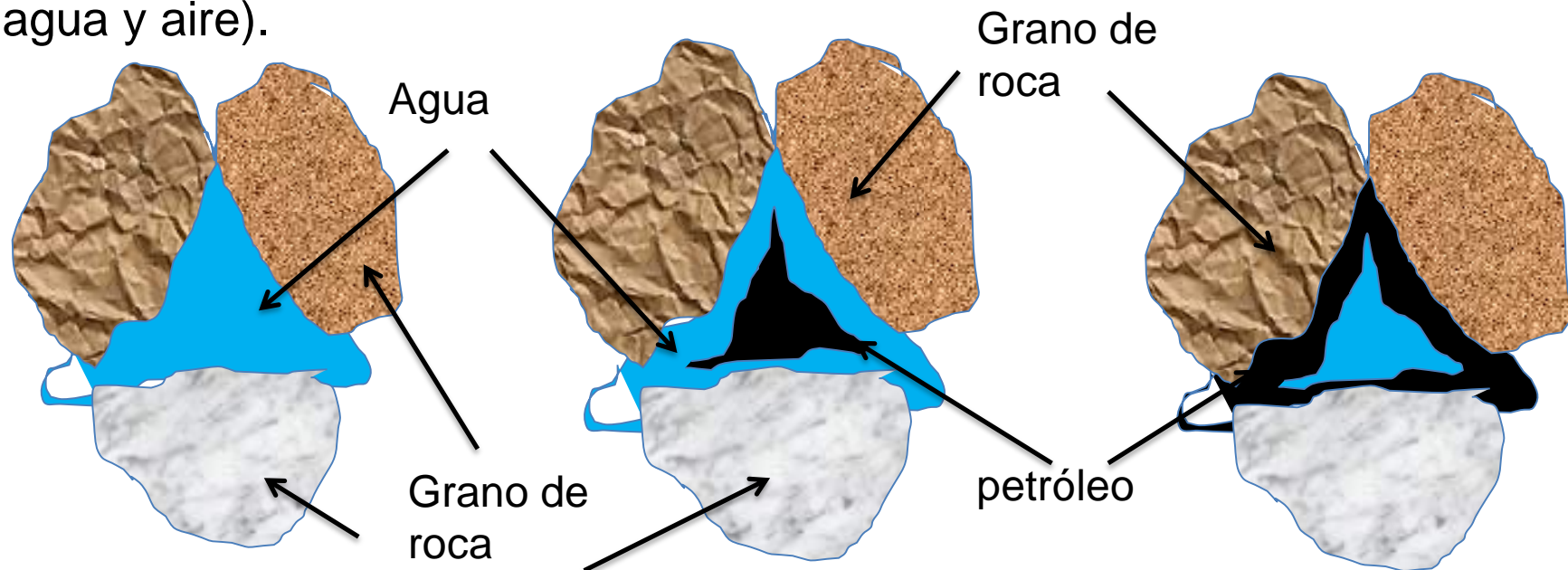
FLUJO EN MEDIOS POROSOS NATURALES

Medio poroso natural

Un medio poroso natural está compuesto por partículas sólidas de formas variables entre las que se encuentran espacios vacíos. Parte de estos están comunicados entre sí y parte aislados.



Estos espacios vacíos están ocupados por fluidos. Los fluidos pueden ser gases, líquidos o combinación de ambos. En el caso que nos interesa de la industria petrolera los fluidos son tres: gas, agua y petróleo, en el caso de la extracción de agua son uno o dos (agua o agua y aire).



Acuífero saturado

Reservorio petrolero
mojado al agua

Reservorio petrolero
mojado al petróleo

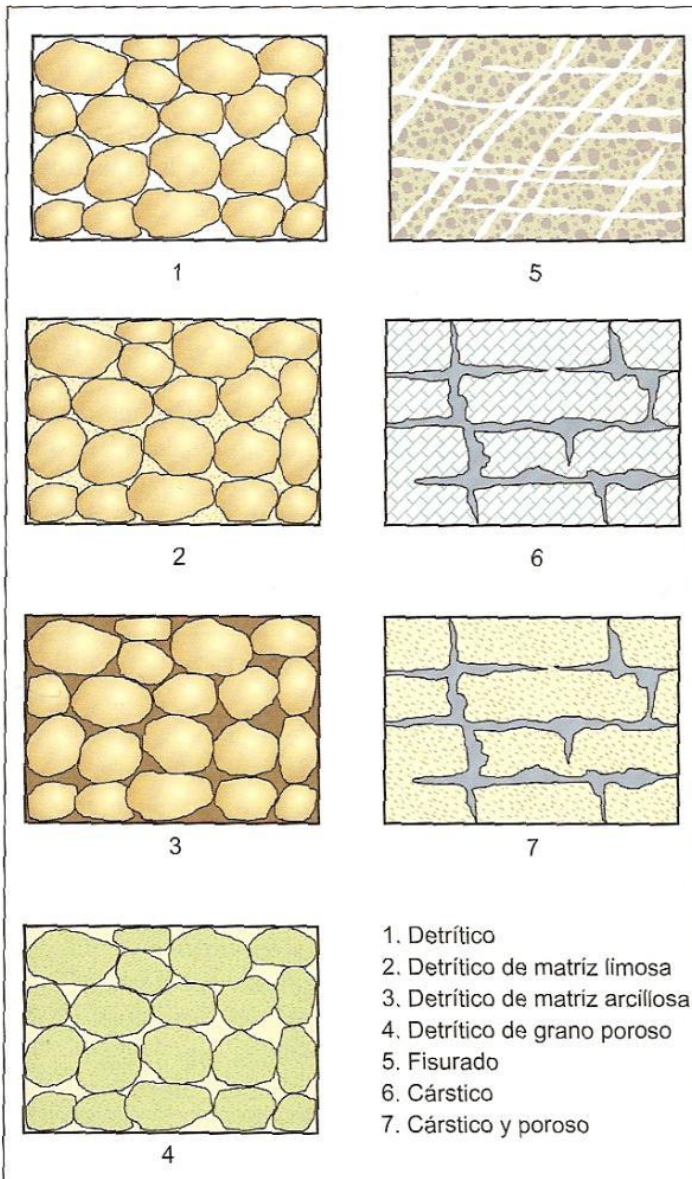
FLUJO EN MEDIOS POROSOS NATURALES

Las partículas sólidas pueden estar agrupadas simplemente o pueden estar unidas por un cemento o un proceso de sinterización, dando como resultado un material natural duro y compacto. En el primer caso hablamos de sedimentos y en el segundo caso estamos en presencia de rocas. Para nuestro caso las ecuaciones a aplicar son similares.

Este medio recibe distintos nombres en función de los fluidos y el uso que se da al mismo. En caso de encontrarse agua se denomina acuífero y se puede dividir en saturado o no saturado. En el caso de almacenar hidrocarburos (líquidos o gaseosos) se denomina reservorio.

Los reservorios pueden estar ubicados en cuencas sedimentarias, o en rocas porosas principalmente arenas, areniscas, calcitas y dolomitas con aberturas intergranulares o con espacios poroso debido a diaclasas, fracturas y disolución de rocas por soluciones.

Los acuíferos pueden estar situados en estas estructuras y además en arenas, gravas y materiales aluvionales.



Ejemplos de formaciones porosas



FLUJO EN MEDIOS POROSOS NATURALES

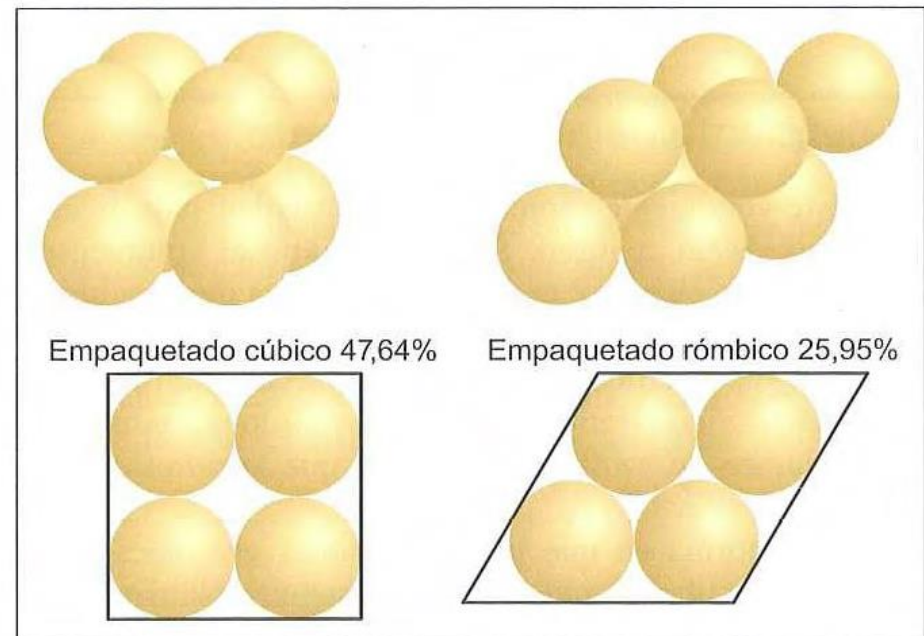
POROSIDAD: Volumen de huecos en una roca por volumen de la misma, depende de la textura del suelo, sin intervenir la forma, puede ser debida a espacios intergranulares o a grietas y fisuras.

POROSIDAD TOTAL = VOLUMEN DE POROS/VOLUMEN TOTAL

POROSIDAD EFICAZ = VOL. POROS CONECTADOS/ VOL. TOTAL

La porosidad total depende de la forma, distribución granulométrica y forma de empaquetado de los granos.

Si los granos son de distinto tamaño, los más chicos pueden ocupar los espacios entre los mas grandes.



FLUJO EN MEDIOS POROSOS NATURALES

Otras variables de interés del fluido

Viscosidad

Tensión superficial

Capilaridad

Densidad

Temperatura

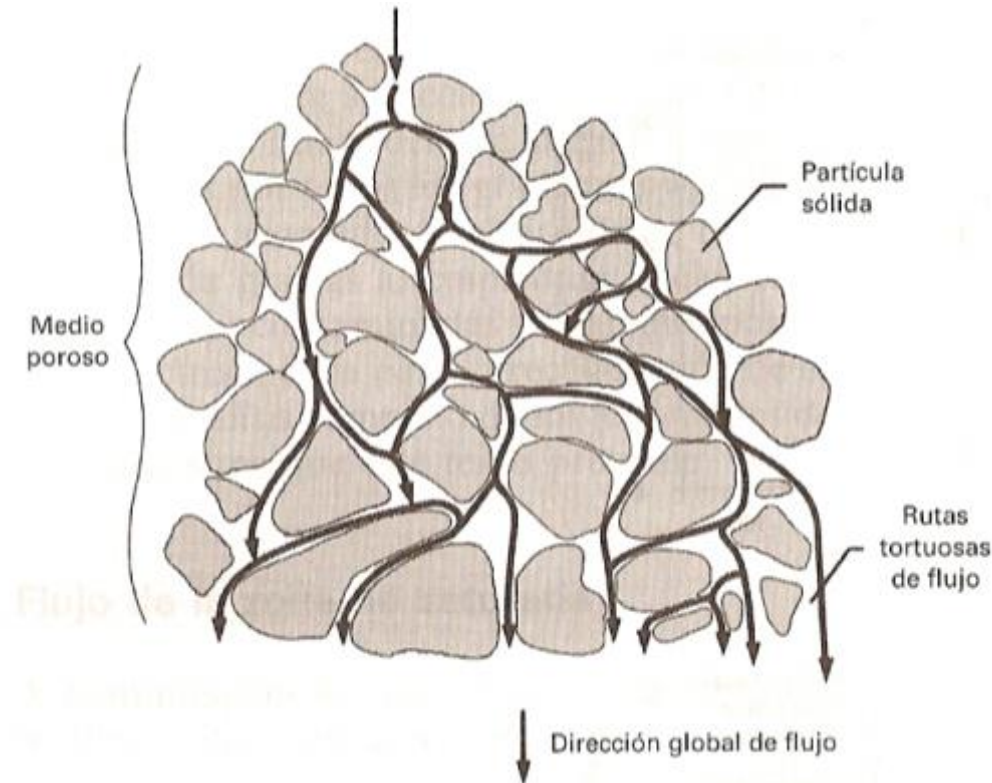
Presión

Composición



FLUJO EN MEDIOS POROSOS NATURALES

Movimiento de fluidos en un medio poroso



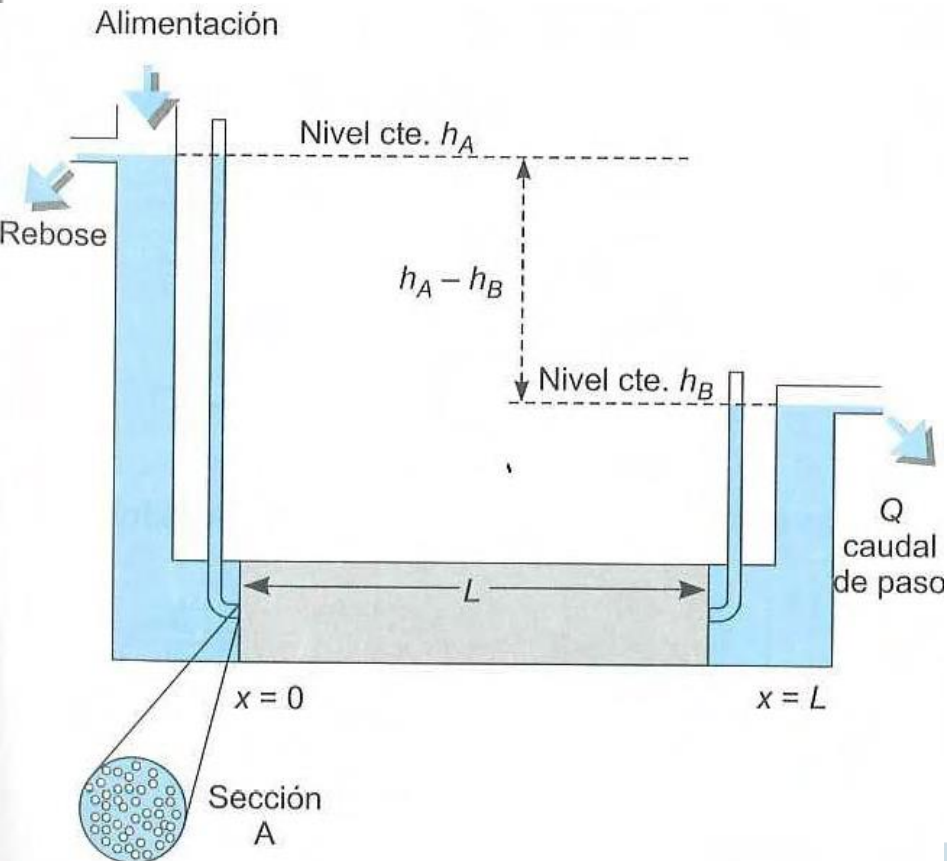
Camino tortuoso

- Expansión del fluido
- Drenaje gravitacional
- Desplazamiento de fluidos natural o artificialmente
- Expulsión capilar



Cuantificación del flujo en medios porosos: Ecuación de Darcy

Medio poroso isótropo y homogéneo



$$dp \ll \rho g A$$

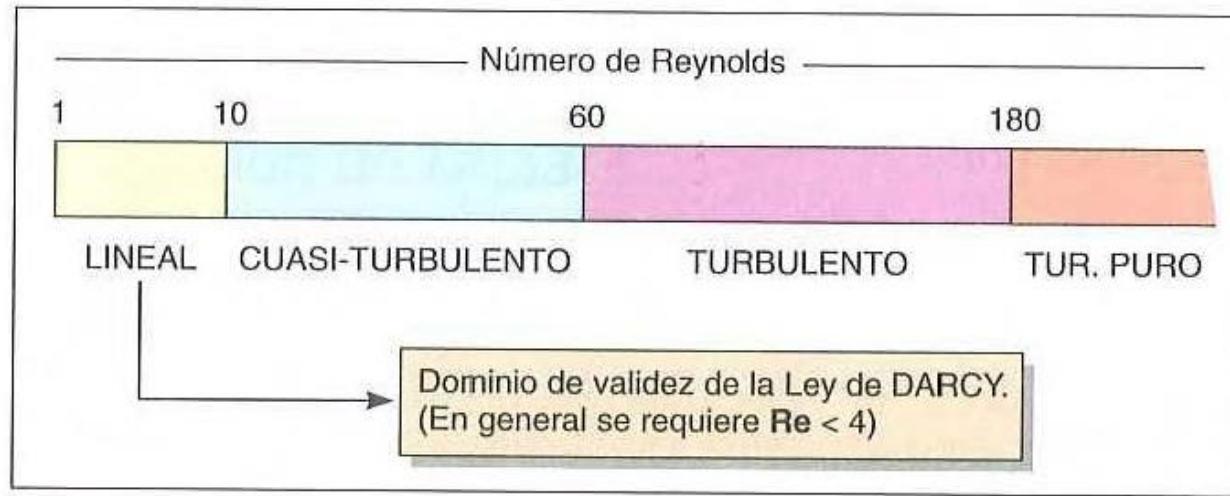
$$Q = -k * A * \frac{dh}{dx}$$

Ley experimental macroscópica válida para rocas no consolidadas, consolidadas y filtros de arena.

k = coef. permeabilidad de Darcy o conductibilidad hidráulica



Cuantificación del flujo en medios porosos: Ecuación de Darcy



$$Re = \delta v \frac{Lc}{\mu}$$

$Lc = d_{50}$ medio granular

$Lc = 2e$ en elementos fisurados siendo e el ancho medio de las fisuras

Coeficiente de permeabilidad de Darcy: características

k es un valor constante para cada roca y para cada fluido en las mismas condiciones. Es difícil de correlacionar con la porosidad

Depende de:

- **Naturaleza del medio poroso**
- **Viscosidad del fluido**
- **Densidad del fluido**
- **Tipo de fluido**
- **Temperatura (por la viscosidad)**
- **Composición química del agua**
- **Presencia de otros fluidos (gases o líquidos de distinta densidad), en este caso puede afectar también la presión**
- **Interacción del fluido con el sólido: tensión superficial, capilaridad, reacciones químicas**



Coeficiente de permeabilidad de Darcy: características

Fluidos diferentes al agua

$$k = k_0 * \frac{\gamma}{\mu} = \frac{k_0}{\nu}$$

$$Q = v * A = -\frac{k_0}{\nu} * A * \frac{dh}{dx}$$

k_0 permeabilidad intrínseca o coeficiente de permeabilidad y depende sólo del medio

Para gases

$$Q_m = -k_g * A * \frac{dh}{dx}$$

$$k_g = k * \gamma$$



ETAPAS DE LA PRODUCCION PETROLERA

RECUPERACION PRIMARIA: 5-10% HC ORIGINAL EN RESERVORIO (OOIP)

RECUPERACION SECUNDARIA: 10-40 % OOIP

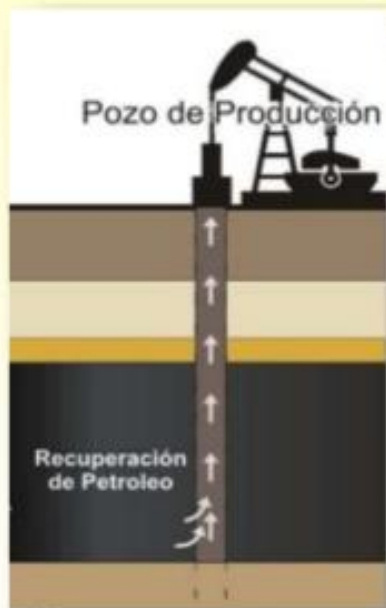
RECUPERACION MEDIA ENTRE AMBAS ETAPAS: 25 %

NECESIDAD DE RECUPERACION TERCIARIA Y CUATERNARIA



Métodos de recuperación

Recuperación primaria



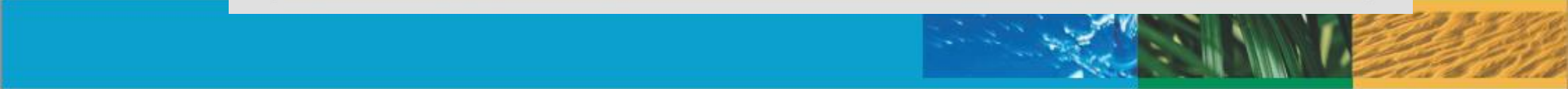
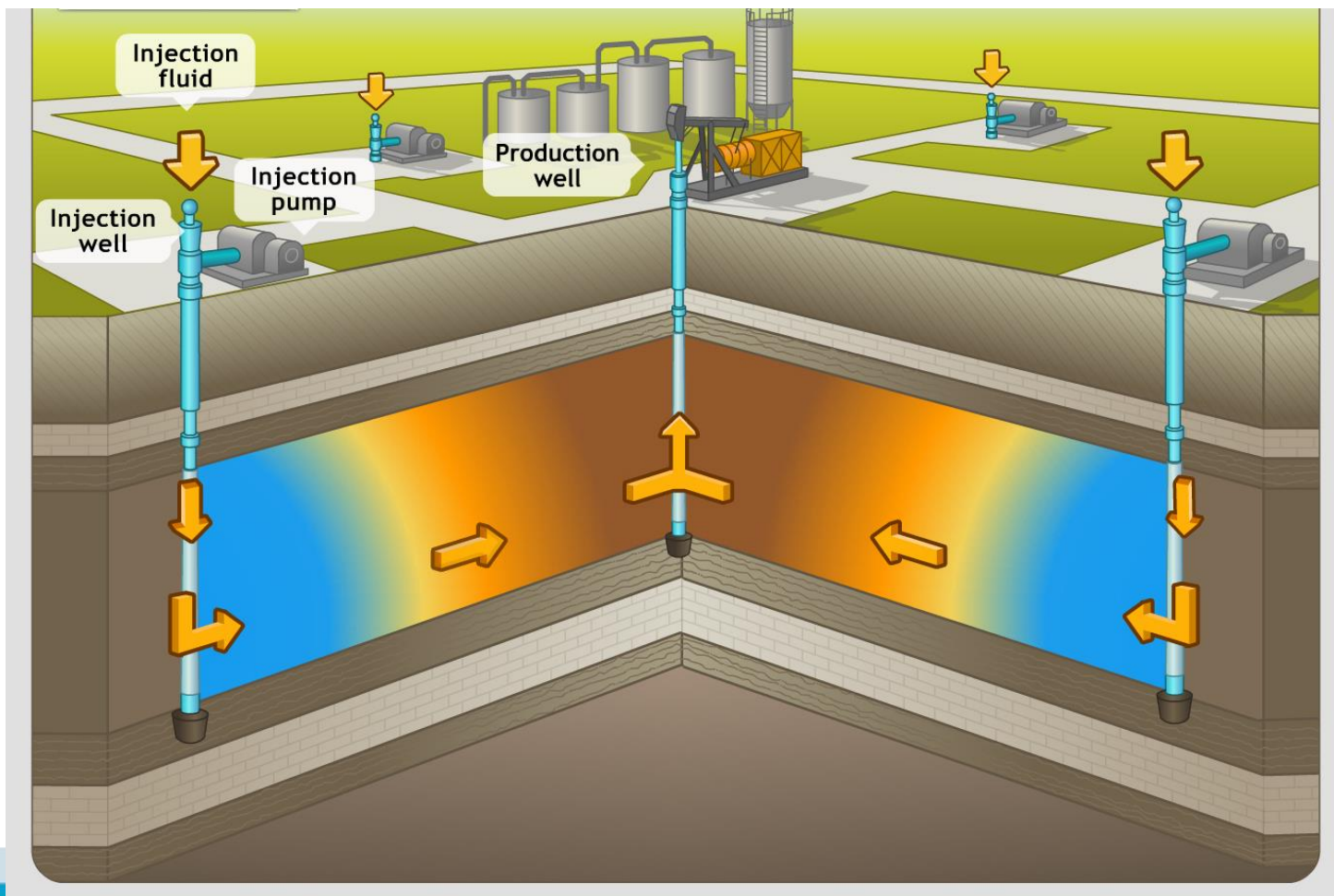
El petróleo se drena naturalmente debido al efecto del gradiente de presión.

Recuperación secundaria



Inyección de gas para aumentar la presión en el yacimiento y/o agua para desplazar el petróleo.

Inyección de agua



Leyenda

**Yacimiento en
recuperación
secundaria**

Escibe una descripción



Google Earth

Image © 2013 DigitalGlobe



400 m

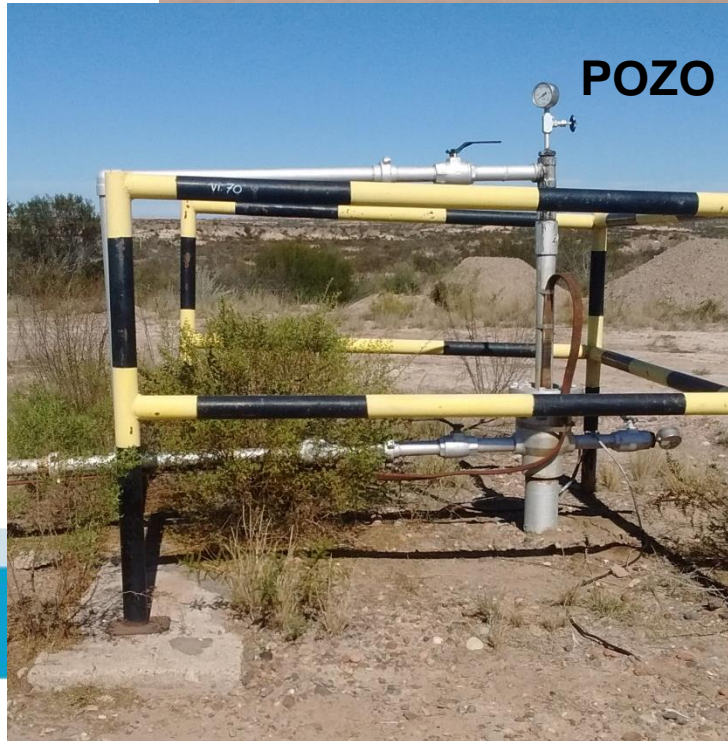




BOMBA ELECTROSUMERGIBLE



AyB, BOMBA DE DESPLAZAMIENTO POSITIVO



POZO INYECTOR

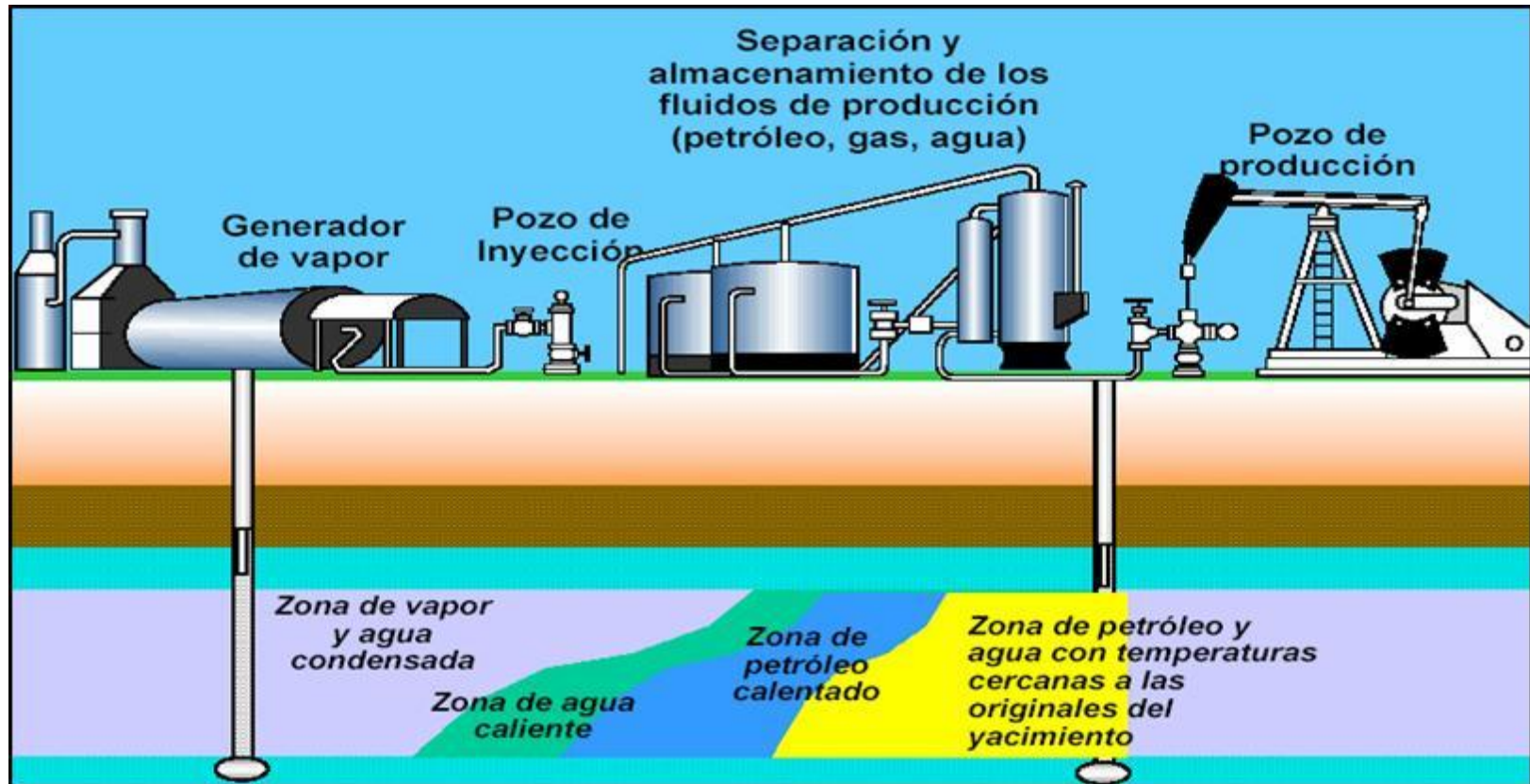


Inyección de Surfactante/Polímero

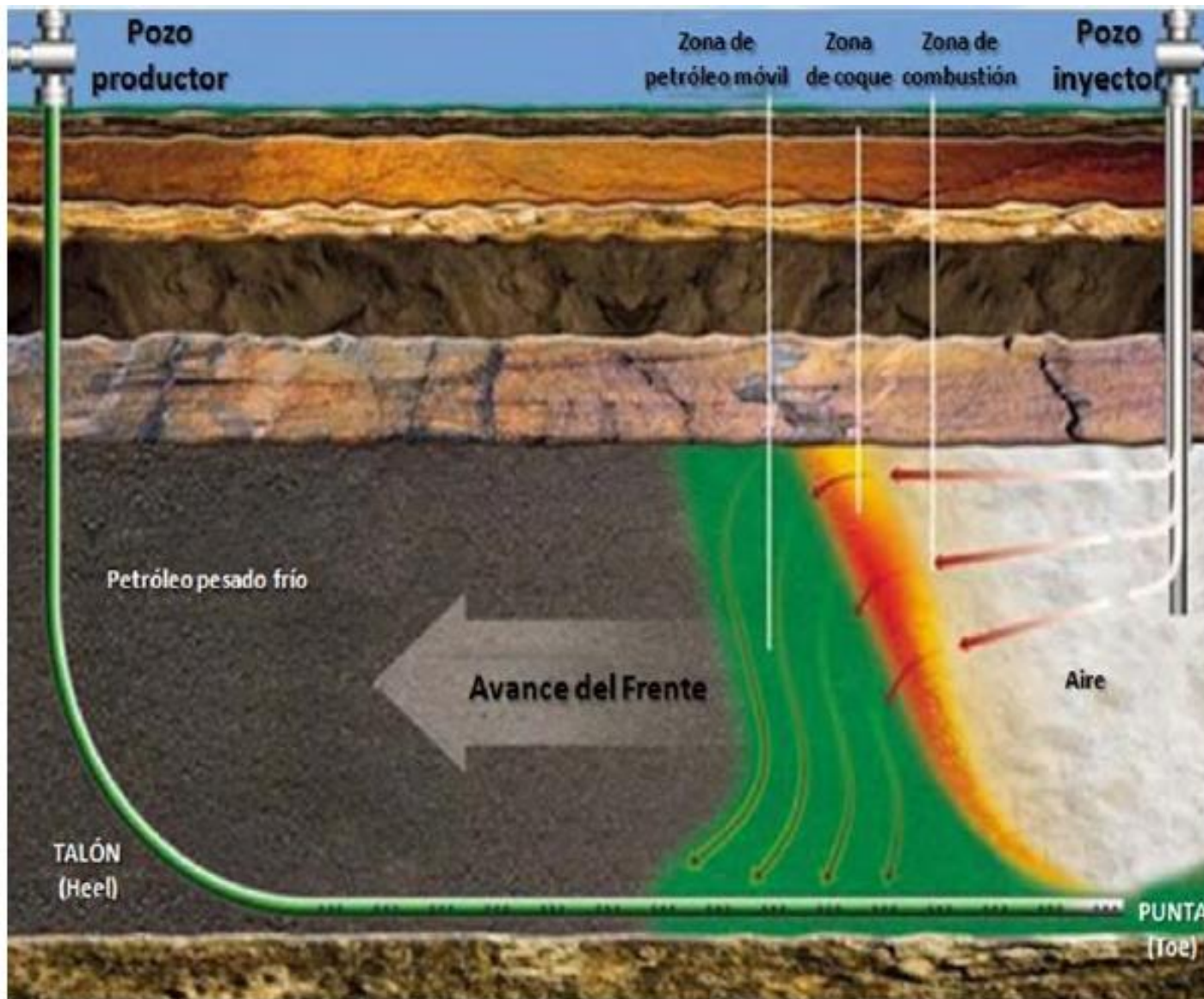
(desplazamiento por tensión interfacial ultrabaja)



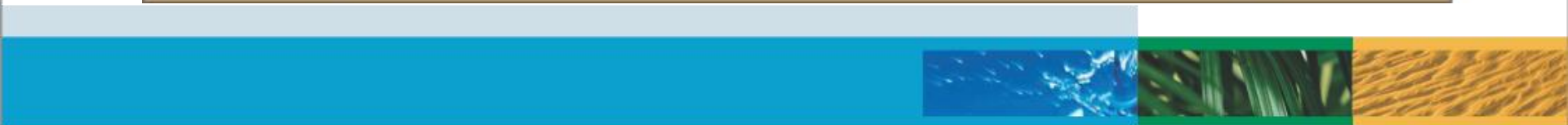
Inyección de vapor



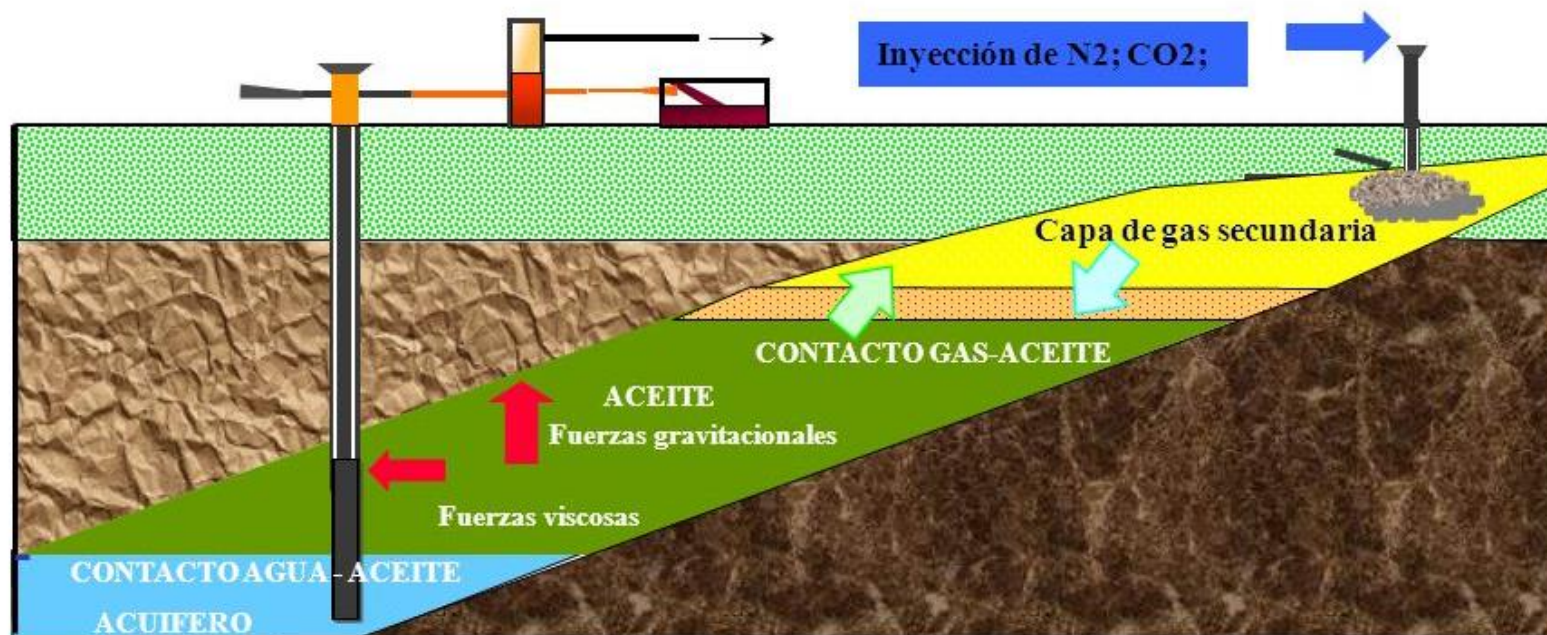
Combustión in situ



Inyección de CO₂ (gas miscible)



Inyección de gases no miscibles



RECUPERACIÓN TERCIARIA ASISTIDA POR MICROORGANISMOS O ENZIMAS (MEOR, GEMEOR Y EEOR)

Es el uso de microorganismos o sus productos metabólicos para estimular la recuperación de petróleo en un reservorio.

MEOR: Los microorganismos actúan in situ modificando la permeabilidad de la roca, produciendo ácidos, surfactantes, gases, actúan sobre el petróleo alterando levemente su composición química o bien modificando sus propiedades fisicoquímicas (viscosidad, tensión superficial, mojabilidad)

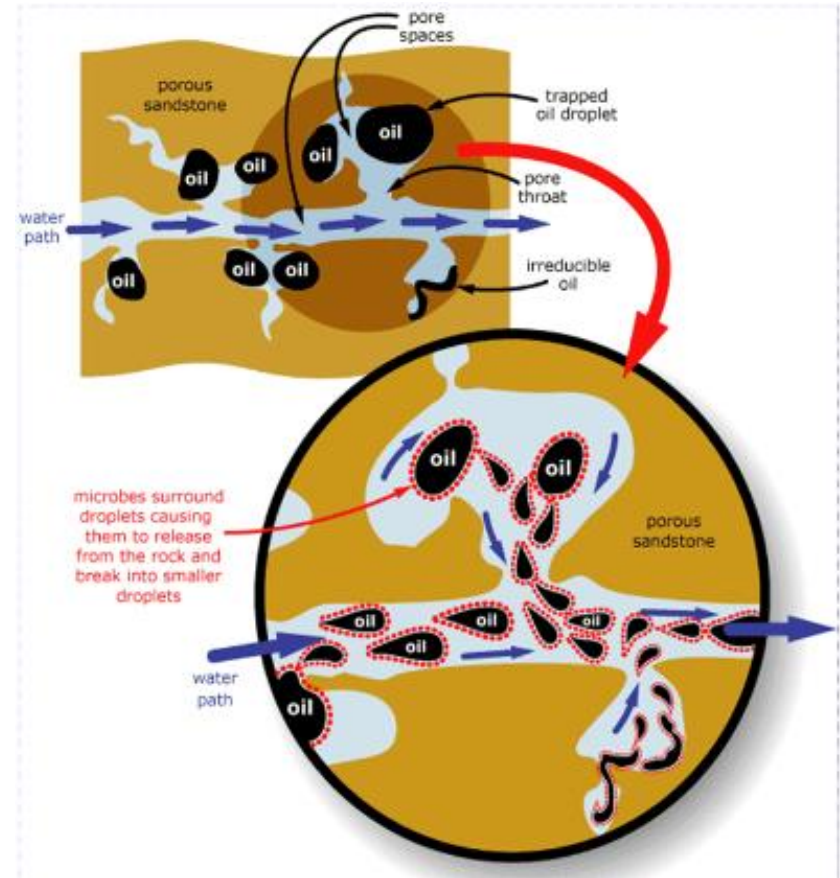
Los productos metabólicos pueden ser xantanos, surfactantes y alcoholes que se inyectan al reservorio. Esta técnica a veces se denomina ex situ

GEMEOR: se refiere al uso de microorganismos modificados por ingeniería genética

EEOR: se refiere al uso de enzimas

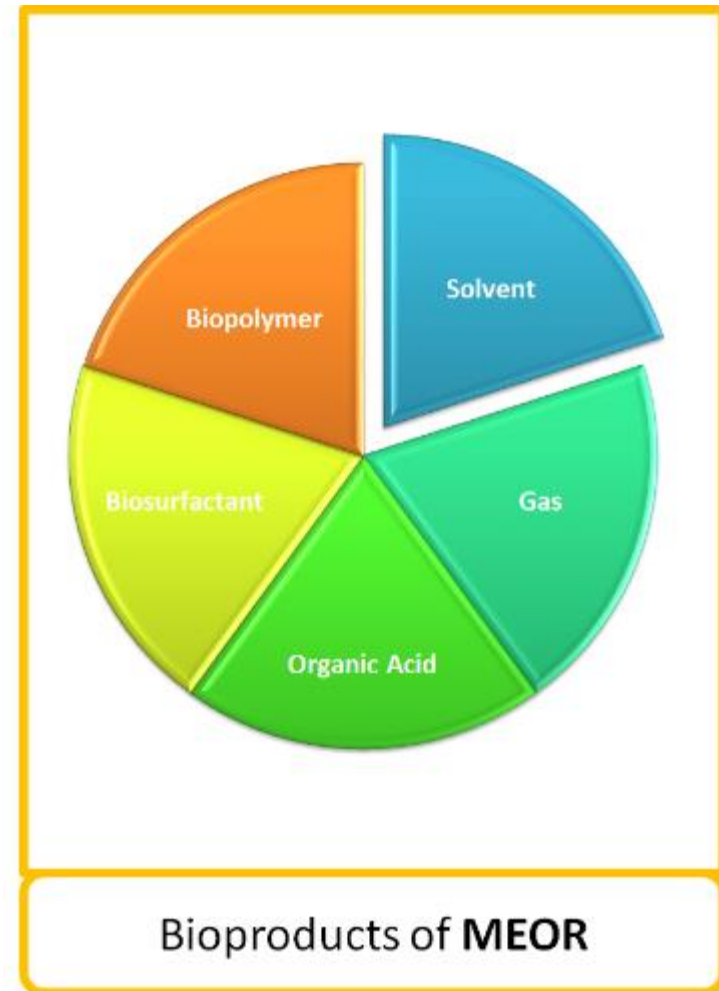


Los principales grupos bacterianos hallados en reservorios petroleros son microorganismos anaerobios (microorganismos que crecen en ausencia de aire). Algunos microorganismos aerobios (microorganismos que crecen en presencia de aire) producen cantidades relativamente grandes de polisacáridos y surfactantes que son útiles en los procesos MEOR (Microbial Enhanced Oil Recovery). En contraste, algunas bacterias anaerobias producen cantidades relativamente grandes de solventes tales como acetona, butanol y otros alcoholes, como también ácidos orgánicos, entre ellos acético, láctico, butírico y grandes cantidades de anhídrido carbónico, metano y nitrógeno gaseoso, dependiendo de la disponibilidad de aceptores de electrones.



RECUPERACION TERCIARIA ASISTIDA POR MICROORGANISMOS

La producción de solventes durante el crecimiento de los microorganismos anaerobios reduce las fuerzas de tensión interfacial. La producción de ácidos orgánicos favorece la disolución de carbonatos de las rocas fuente, aumentando la permeabilidad. La solubilización de los gases producidos por los microorganismos resulta en la precipitación de asfaltenos, dejando al crudo con características fluidas más deseables. A su vez, diminutas burbujas de gases fuerzan al petróleo a través de los espacios capilares.



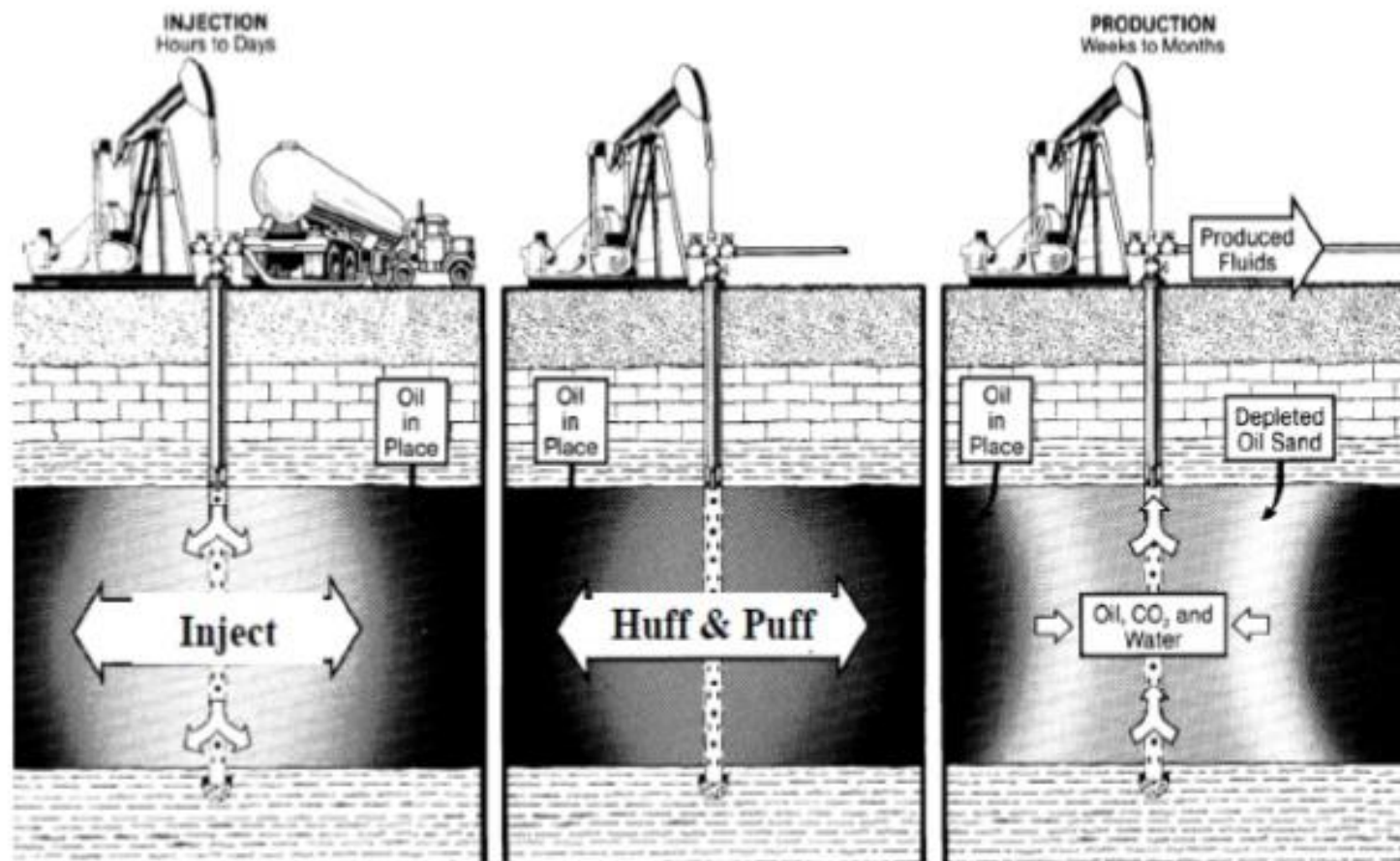
La diversidad de microorganismos estudiados en procesos MEOR es muy grande así como también las combinaciones de los mismos. Entre los mas mencionados podemos citar *Pseudomonas* sp., *Pseudomona* pútida (relacionada con la degradación de compuestos anulares), *Pseudomona* aeruginosa (productora de tensioactivos muy efectivos), *Enterobacter* aerógenos (producción de gases, especialmente anhídrido carbónico), *Clostridium* sp.

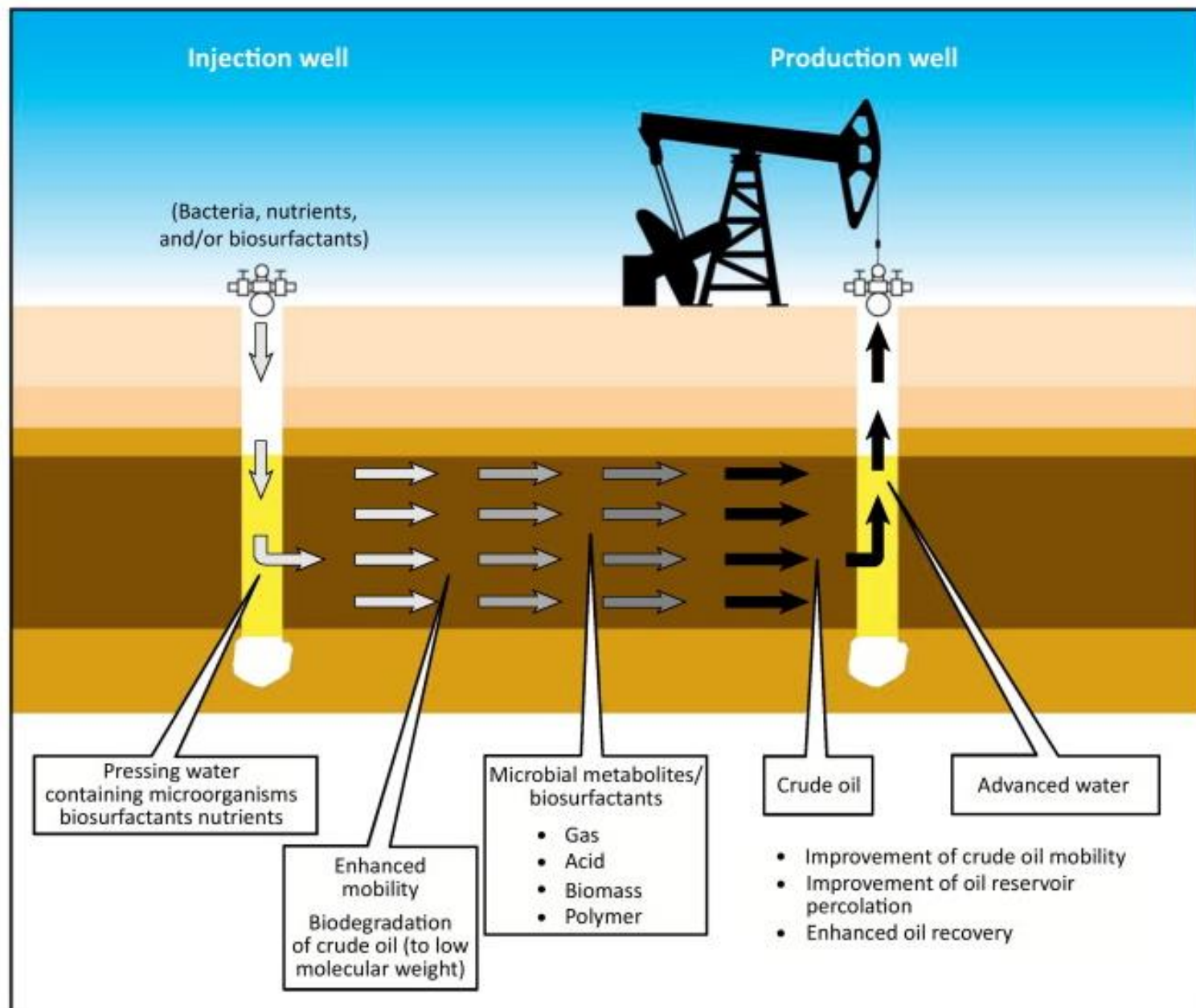
En recuperación de petróleo asistida por microbios el componente abiótico (nutrientes) del producto que se inyecta es de fundamental importancia, independientemente de la masa microbiana incorporada. Está además demostrado que en la mayor parte de los casos, existe una abundante población microbiana autóctona en el reservorio que convenientemente estimulada puede ejercer efectos combinados que favorecen la producción. Los nutrientes necesarios para inducir actividad microbiana son básicamente sales que aporten Nitrógeno, Fósforo y oligoelementos, y fuentes de vitaminas y factores de crecimiento. El aporte controlado de estas sustancias, correctamente seleccionados y en muy bajas concentraciones contribuye al desarrollo de poblaciones útiles en recuperación de petróleo. Una dosis excesiva de nutrientes puede producir efectos adversos.

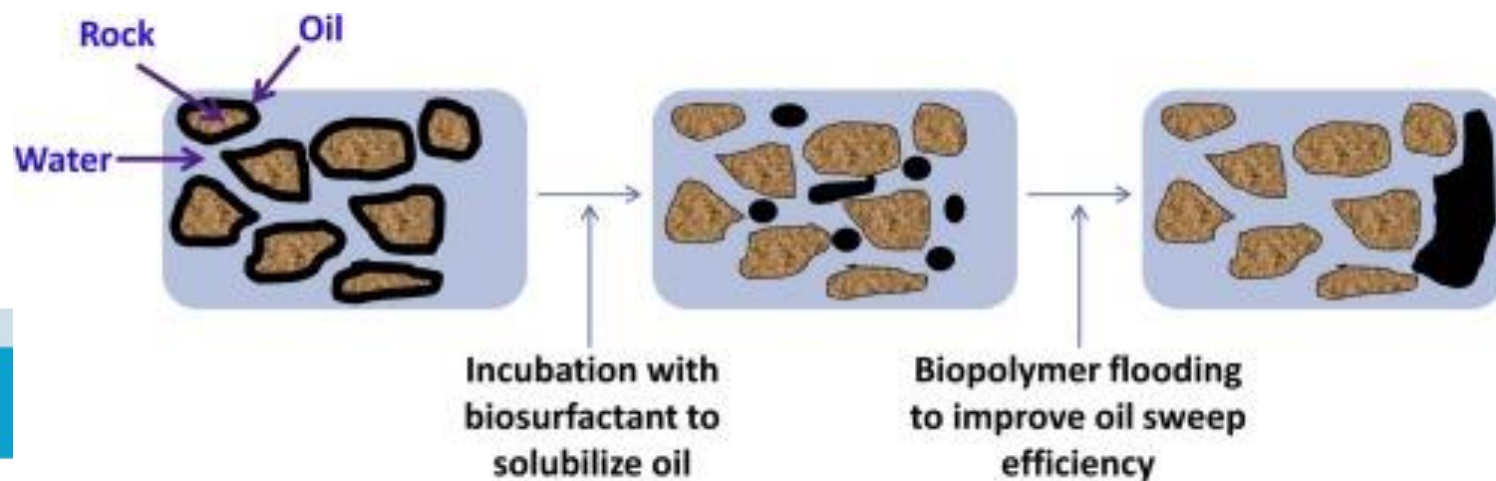
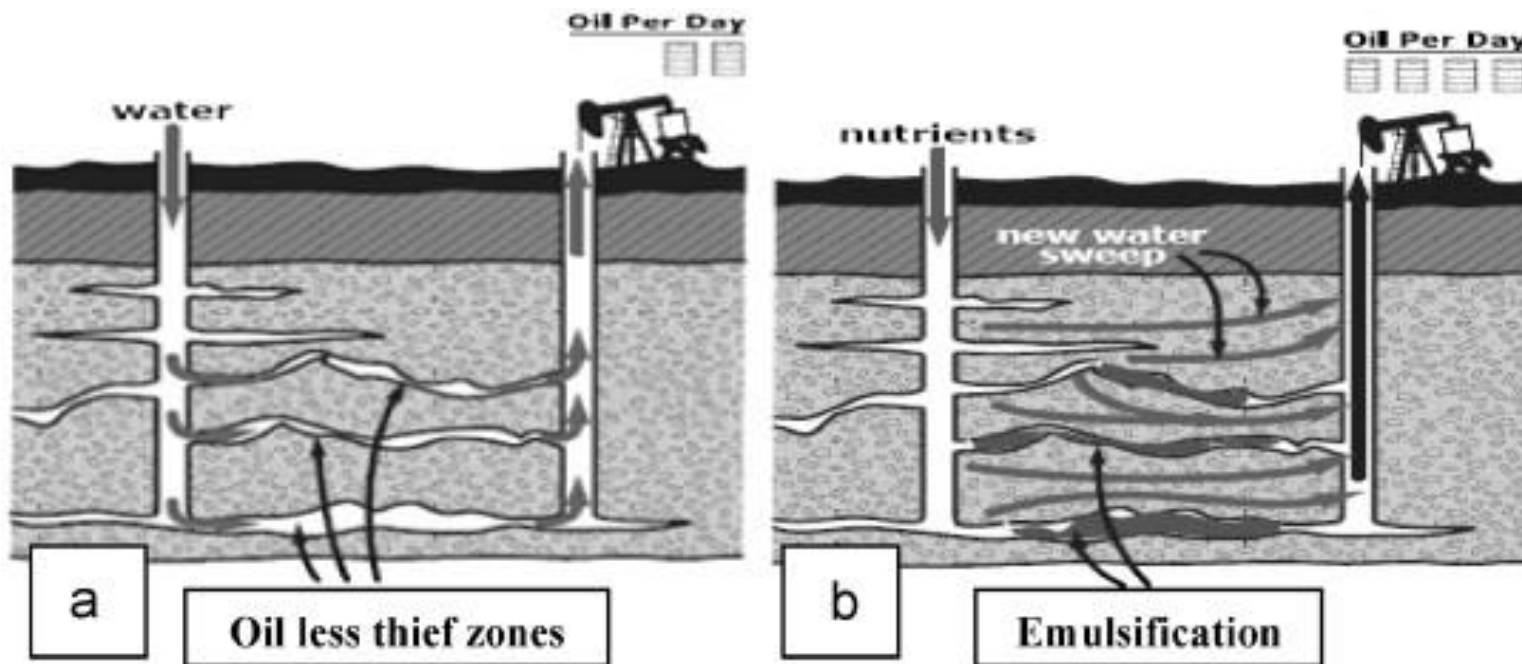


Huff and Puff Injection Process

Pre-flush, Injection, Post flush, Shut-In, Production







Estrategias

Tratamiento in situ

Inyección de microorganismos

Estimulación de microorganismos

Tratamiento ex situ

Inyección de biopolímeros

Inyección de xantanos

Inyección de ácidos, alcoholes, surfactantes

Precaución: los estudios en laboratorio pueden no ser extrapolables al campo



Países en donde se aplica esta técnica o se aplicó con resultados positivos:

Estados Unidos

Rusia

China

Checoslovaquia

Polonia

Rumania

Australia

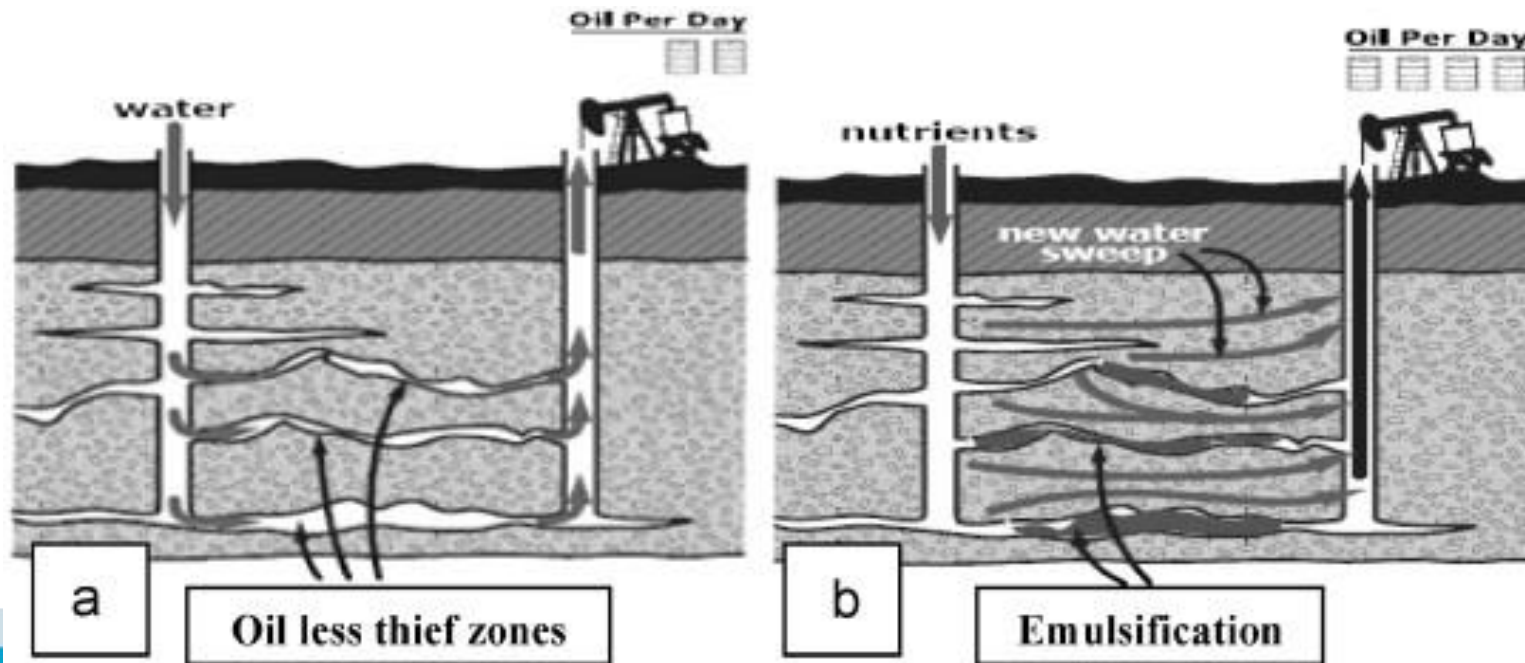
Argentina

Países bajos

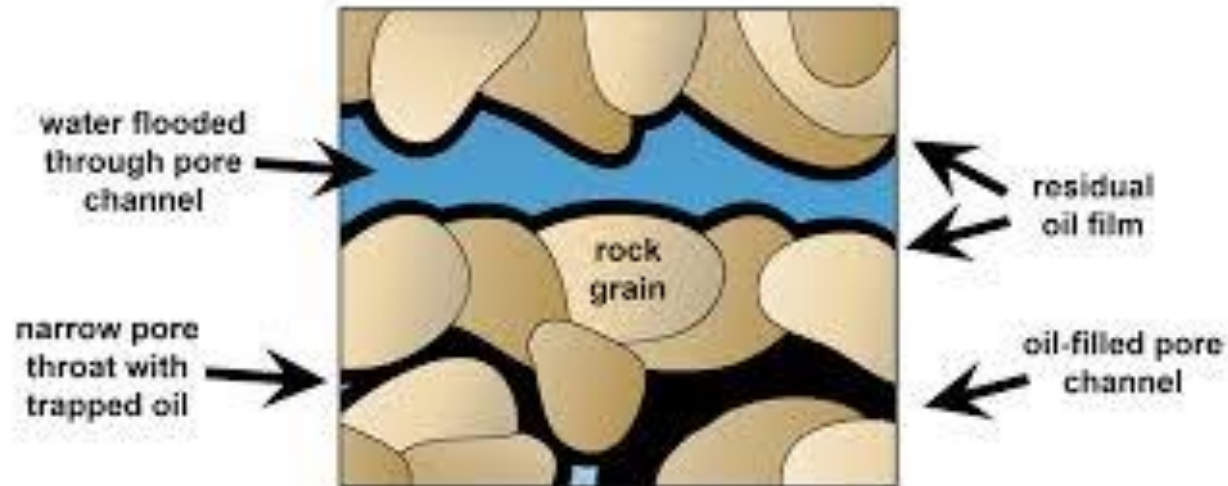


Taponamiento selectivo con biomasa: En campo funciona para reservorios con una permeabilidad de mas de 100 mD, usan mezclas de jarabe de maíz y fosfato de amonio

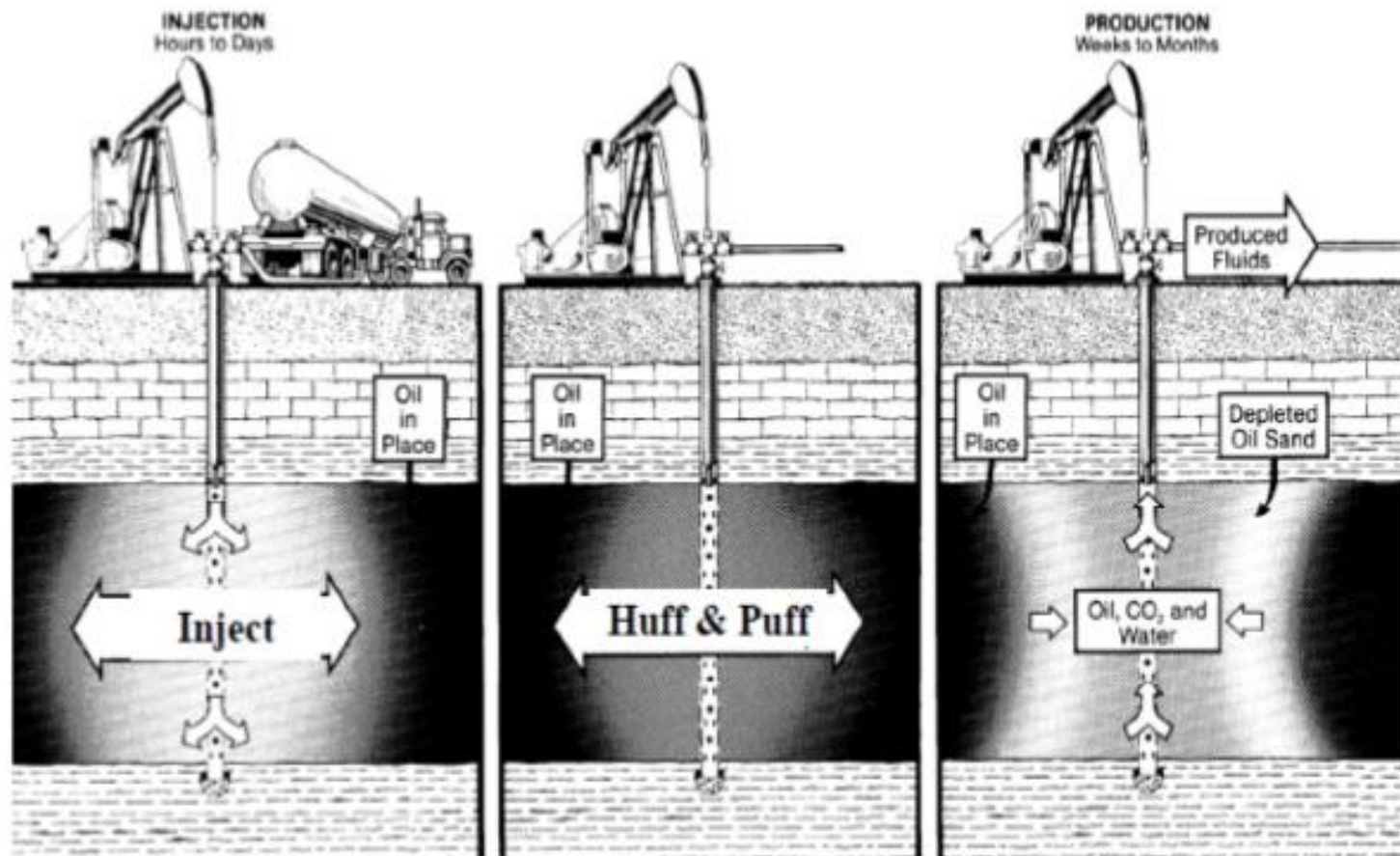
Taponamiento selectivo con biopolímeros: xantanos que modifican la viscosidad del agua, también se puede modificar la permeabilidad de la roca por disolución de carbonatos



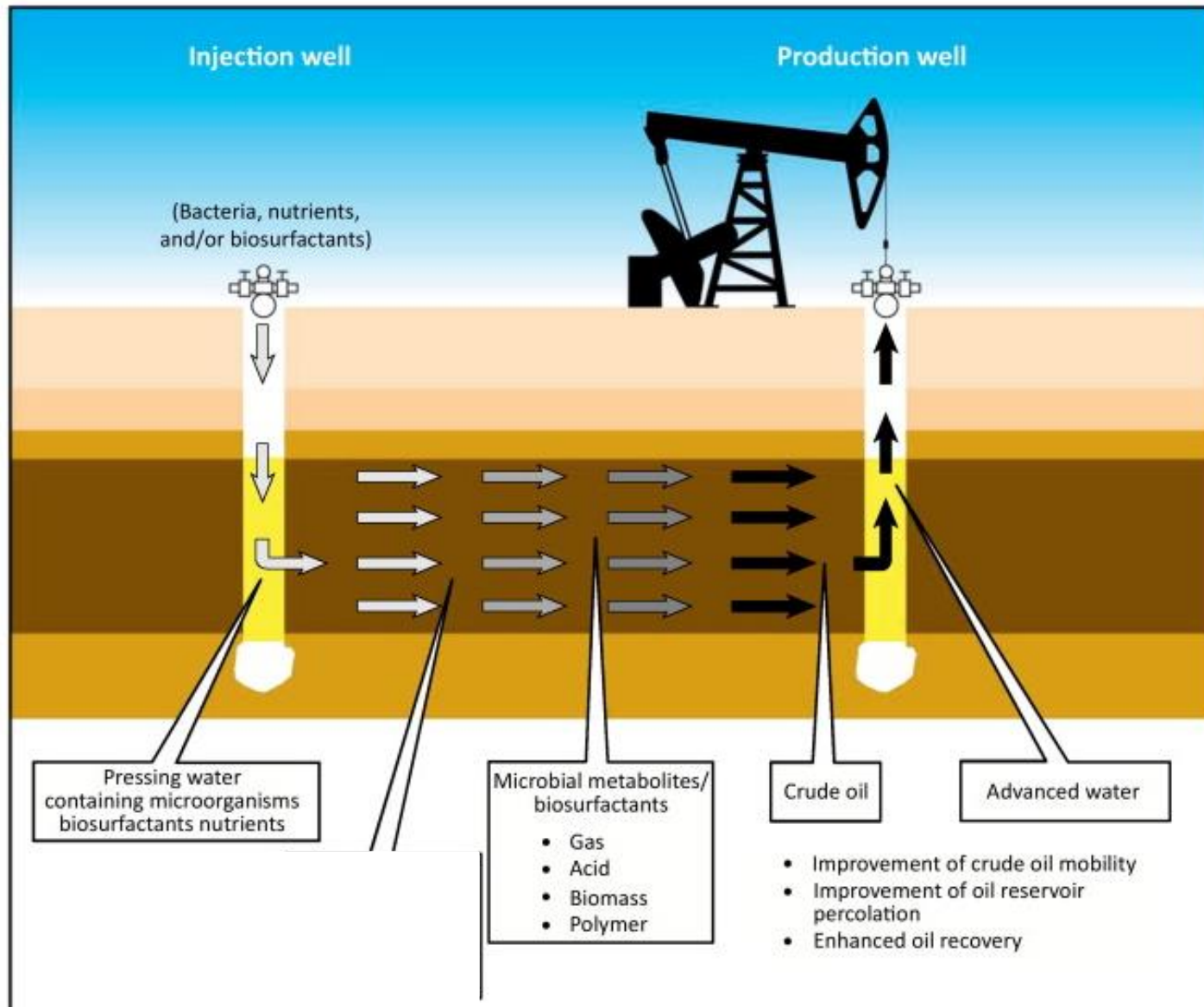
Modificación de la mojabilidad: se modifican las propiedades fisicoquímicas de la interfase agua petróleo o petróleo roca



Degradación parcial y limpieza de depósitos de parafinas



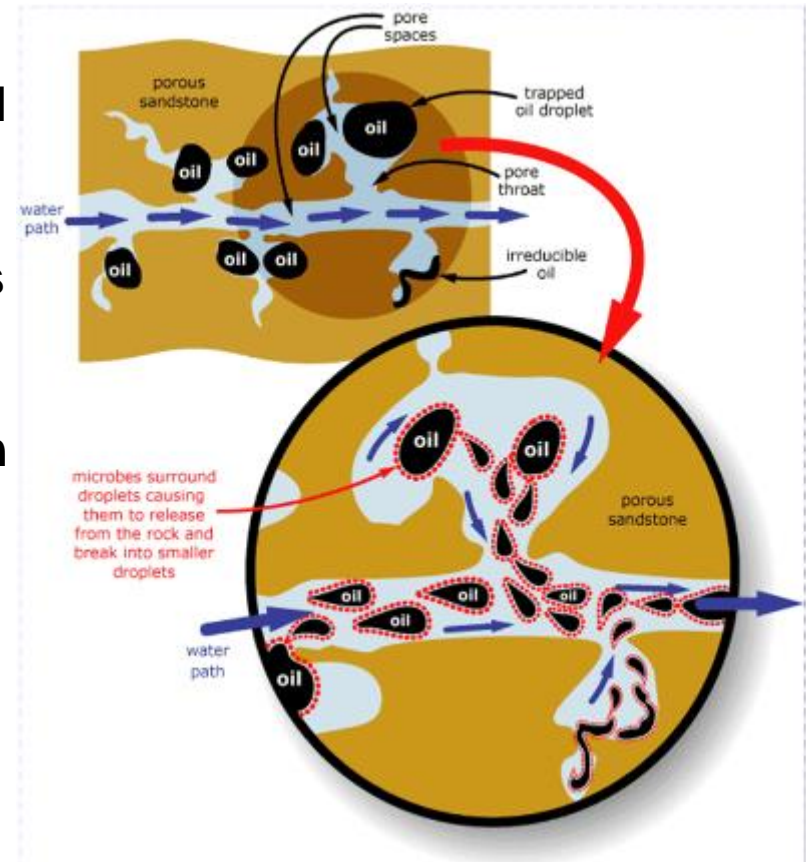
Acción de ácidos orgánicos, solventes o gases



Alteración de la tensión superficial: biosurfactantes

Rhamnolipidos: es una modificación del polisacárido rhamnosa, producen una actividad antimicrobiana eliminando microorganismos competitivos, además de actuar como detergentes

Lipopeptidos; surfactina, baja la tensión superficial del agua a un 40 %.



GEMEOR : fase de estudio en laboratorio para producir microorganismos que puedan ser resistentes a las condiciones de reservorio y al mismo tiempo producir las sustancias útiles al proceso

EEOR: se usan productos comerciales que producen desbloques de zonas con parafinas y en algunos casos se inyectan con el agua de barrido. También producen alteraciones de la mojabilidad del reservorio. Como desventaja son sensibles a la salinidad y a las temperaturas. Aún están en fase de desarrollo.



EXCLUSIÓN BIOCMPETITIVA

Un problema frecuente en reservorios petroleros es la presencia de ácido sulfhídrico en gas y sulfuros en agua de producción. Éstos originan serios problemas a la industria petrolera debido a su toxicidad, olor desagradable, formación de sulfuros insolubles, disminución de la calidad del gas producido, aumento en los costos del procesamiento del crudo y corrosión de equipamientos y cañerías. El inicio de la corrosión es influenciada por microorganismos productores de enzimas hidrogenasas que remueven hidrógeno catiónico desde el acero o metal. Frecuentemente esto ocurre en el fondo de un biofilm donde prevalecen condiciones anaeróbicas provocando la precipitación de iones metálicos, incluyéndolos en la solución.

El origen del ácido sulfhídrico en reservorios puede deberse a una reducción térmica o a una reducción biológica del anión sulfato. La reducción térmica de sulfato se produce en cuencas donde existe evaporación cerrada, con alto contenido en materiales reductores y altas temperaturas.



El proceso biológico es comúnmente asociado con proyectos en los cuales grandes volúmenes de agua rica en sulfatos son inyectados en recuperación secundaria. El proceso es consecuencia de la presencia de bacterias sulfato reductoras (SRB) que reducen el sulfato del agua de inyección a sulfhídrico.

Estos organismos son indígenas, anaerobios estrictos y se acumulan formando un biofilm sobre poros de tamaño medio. Las SRB utilizan ácidos orgánicos de cadenas cortas como el formato, acetato, propionato como fuente principal de carbono. Estos ácidos resultan de la oxidación aeróbica incompleta del petróleo.

La remoción del sulfhídrico involucra generalmente la inyección de químicos y biocidas. Algunos de los problemas con el uso de estos químicos es la falta de selectividad, estabilidad y compatibilidad que presentan. Sumado a esto, muchos de los químicos son caros, tóxicos y de manejo peligroso. Un método alternativo en la remoción de ácido sulfhídrico en reservorios es a través de la manipulación de las bacterias indígenas.

Se ha demostrado que bacterias indígenas de un reservorio en un ambiente cargado de sulfuro pueden ser manipuladas mediante el cambio del aceptor final de electrones dominante, nitrato por sulfato. En presencia de nitrato, las bacterias denitrificantes (DNB) oxidan el sulfuro presente y compiten con las SRB por el común donador de electrones, por ejemplo ácidos orgánicos.

La técnica se basa en la habilidad de bacterias indígenas para reducir y eliminar ácido sulfhídrico en reservorios. El tratamiento consiste en proveer pequeñas cantidades de nutrientes esenciales para estimular el crecimiento de bacterias denitrificantes, quienes utilizan ácidos grasos volátiles como fuente de carbono presentes en la mayoría de los reservorios.

Las bacterias denitrificantes (DNB) en el reservorio compiten por los ácidos volátiles grasos también requeridos por las bacterias sulfatorreductoras. Una selectiva manipulación de la ecología del reservorio es la base del desarrollo de la tecnología denominada Exclusión Biocompetitiva.

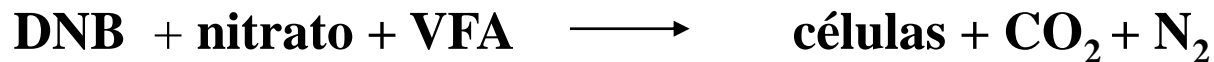
La aparición de H_2S en reservorios se asocia a proyectos en los cuales grandes volúmenes de agua rica en sulfatos son inyectados en recuperación secundaria. El sulfato estimula a las bacterias indígenas sulfato reductoras (SRB).



Los ácidos grasos volátiles (VFA) como acético, butírico, fórmico, láctico y propiónico son generalmente metabolizados por sulfatoreductoras como las *Desulfovibrio desulfuricans*, generando H₂S como producto



De manera similar la introducción de sales de nitrato como nutrientes estimula a las bacterias denitrificantes. Se ha observado que la presencia de nitrato en agua que contenía VFA estimularon el crecimiento de denitrificantes como *Thiobacillus denitrificans*⁵.



Estos consorcios de microorganismos indígenas anaeróbicos en los que se incluyen heterótrofos denitrificantes, especies como *Thiobacillus*, rápidamente responden a la introducción de un aceptor de electrones como el nitrato, *mucho más activo que el sulfato*.

La adición al reservorio de nutrientes inorgánicos que incluyen nitrato remueve el sulfuro presente y previenen la formación del mismo⁵.

Relación entre energías libres

$\Delta G_1^\circ = - 57,51 \text{ kJ / reacción}$ (Sulfato como aceptor de electrones.)

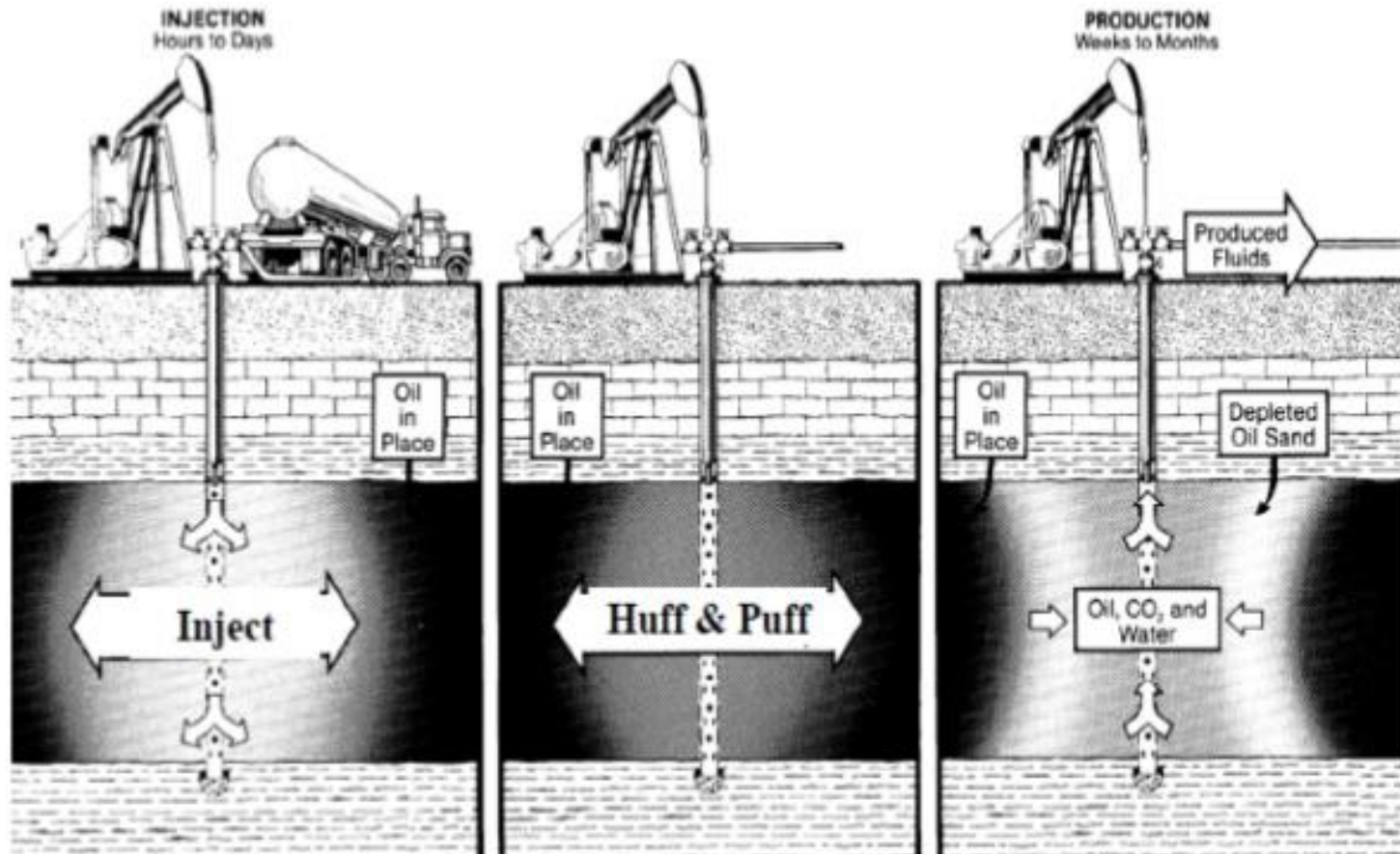
$\Delta G_2^\circ = - 946,24 \text{ kJ / reacción}$ (Nitrato como aceptor de electrones.)

$$- 946,24 / - 57,51 = 16,45$$

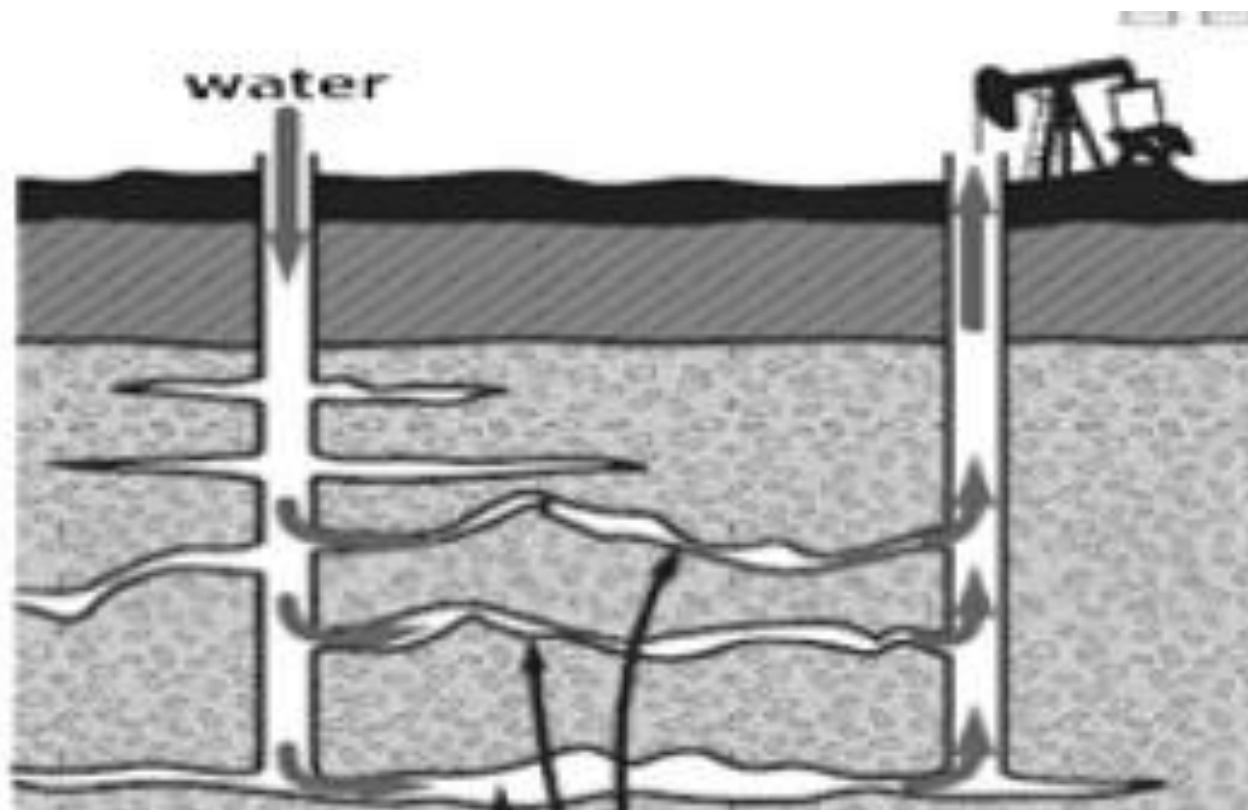
Puede observarse que la reacción que involucra al nitrato como aceptor de electrones es 16,45 veces más espontánea que la reacción del sulfato como aceptor de electrones. Esto explica la mayor actividad del nitrato y la factibilidad de producir una rotación en la población del reservorio.

Metodología de implementación

En pozos aislados, en recuperación o en producción off shore



En campos con recuperación secundaria, utilizando la combinación pozo inyector- productor



Metodología

- 1- Determinación de la variables de interés
- 2- Formulación de los aditivos
- 3- Línea base y punto inicial del ensayo
- 4- Inyección de aditivos
- 5- Pozo detenido para permitir la acción biológica o espera del tiempo de residencia necesario en la configuración inyector – productor
- 6- Puesta en marcha del pozo o verificar el tiempo de residencia (por ejemplo con un trazador)
- 7- Seguimiento de variables
- 8- De ser necesario se repiten las acciones desde punto 4 a punto 7



Biodesulfurización de petróleo

Introducción

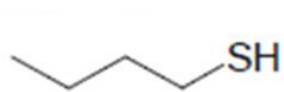
El Azufre es el tercer compuesto más abundante en el petróleo después del Carbono y el Hidrógeno

Los compuestos de azufre pueden ser orgánicos e inorgánicos

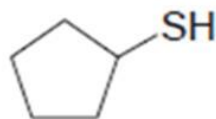
El contenido de azufre del petróleo varía entre 0,05 % y 5 % con extremos del orden del 13 %. Los crudos que tienen menos del 0,5 % se llaman dulces y los de más de 0,5 % agrios.



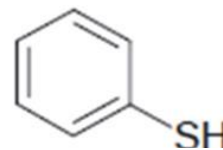
Mercaptanos



Alquílicos

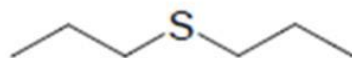


Cíclicos

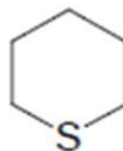


Aromáticos

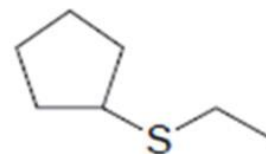
Sulfuros



Dialquílicos

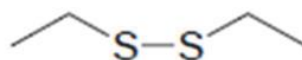


Cíclicos

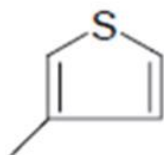


Alquilcicloalquílicos

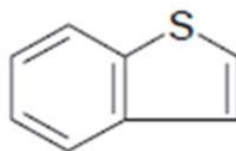
Disulfuros



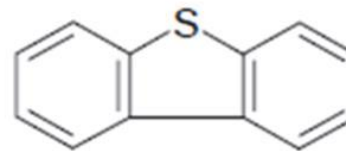
Tiofenos



Alquílicos



Benzo



Dibenzo

Compuestos Orgánicos del azufre presentes en el petróleo



Efectos de los compuestos de azufre presentes en los combustibles refinados

Salud humana: efecto sobre los pulmones

Material particulado PM 2.5 y compuestos de azufre y nitrógeno

Instalaciones industriales: corrosión

Ambiente

Lluvia ácida

Contaminación de aguas

Efectos atmosféricos: calentamiento global

El azufre reacciona o se retiene en el metal de los catalizadores de los vehículos aumentando las emisiones de NO_x , CO, hidrocarburos

Económicos

Derivados de los problemas de salud

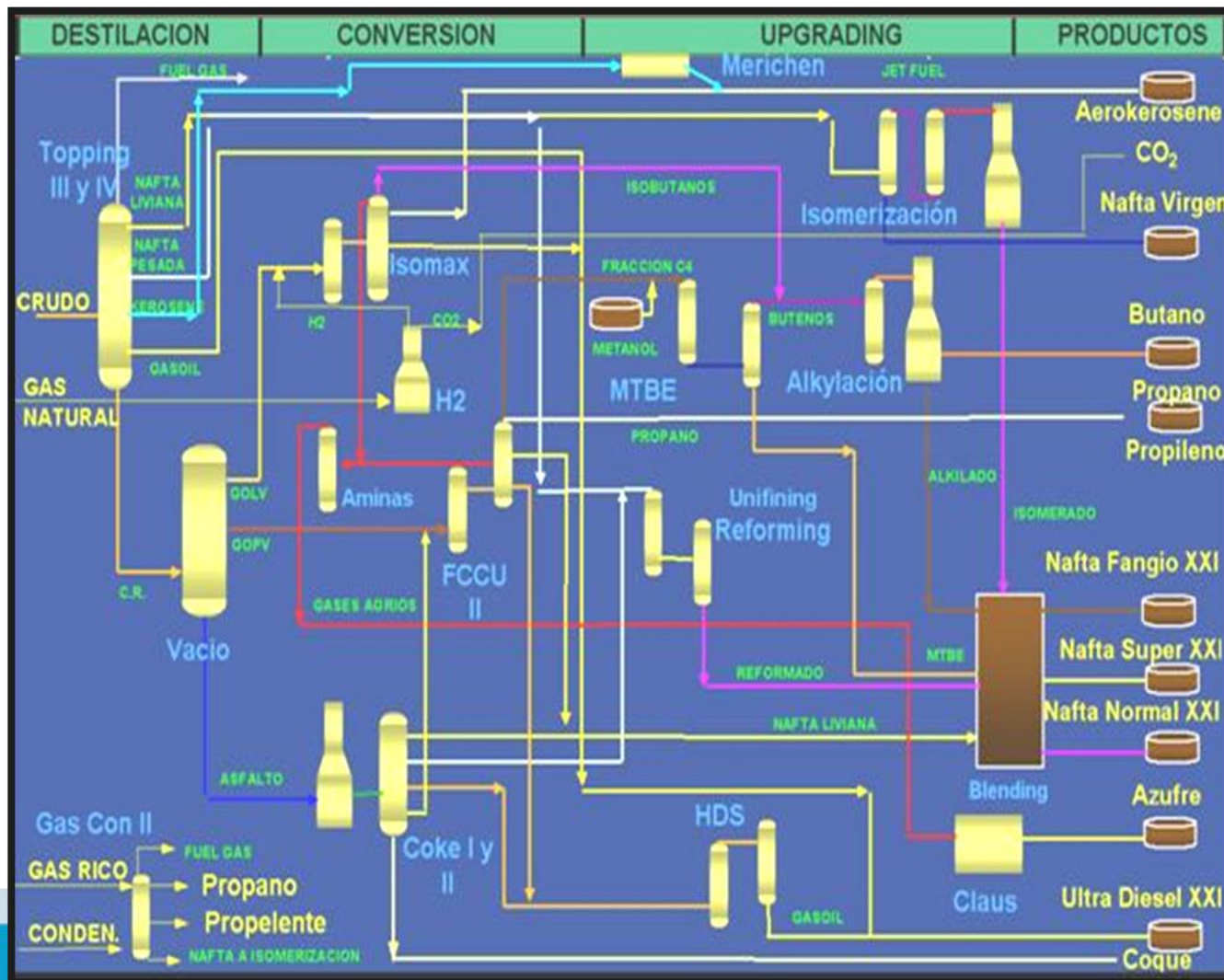
Derivados de los problemas ambientales por ejemplo la lluvia ácida

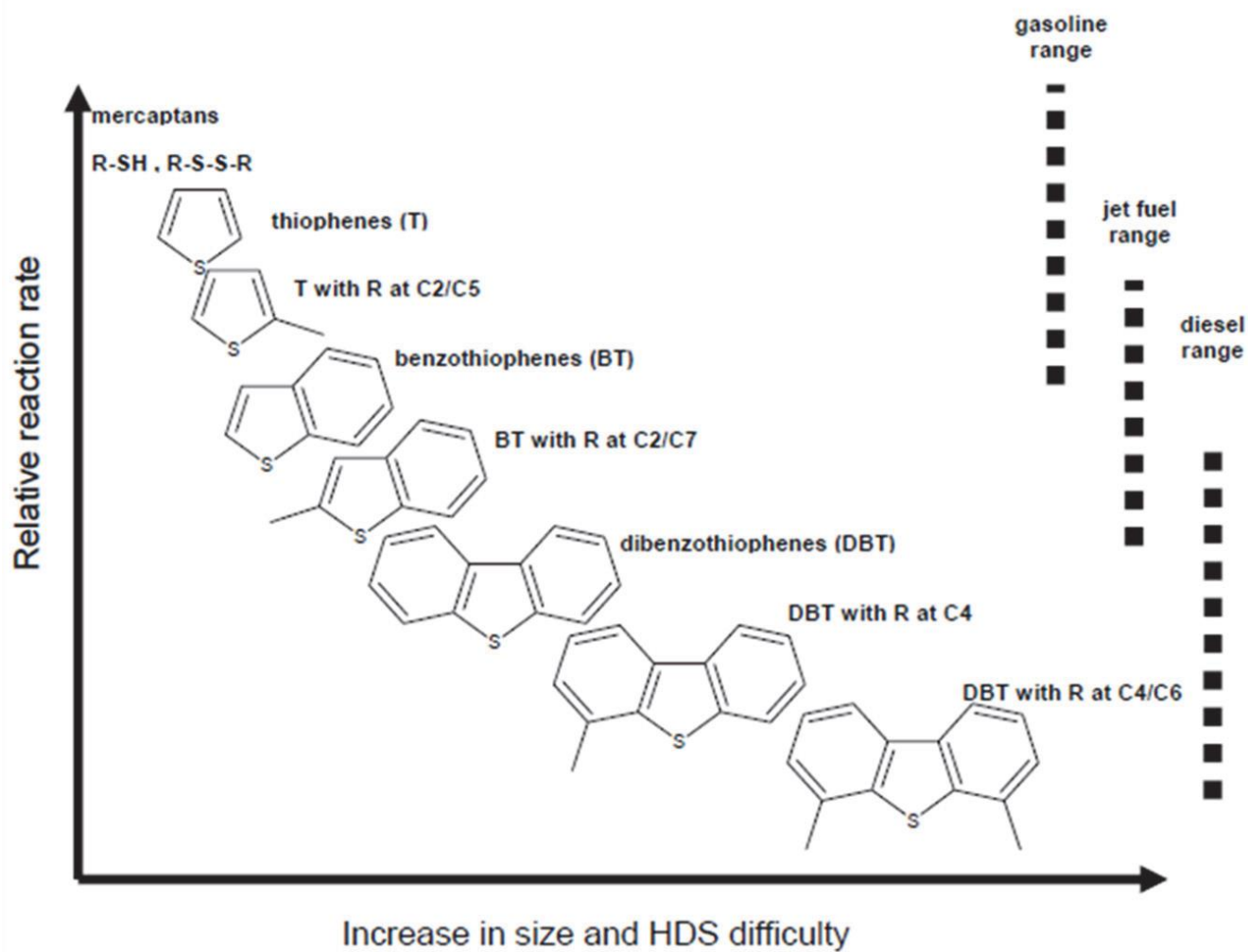
Derivados de la corrosión de las instalaciones

[S] = 10 a 15 ppm



Esquema refinación





Tecnologías utilizadas para desulfurizar

Hidrodesulfurización (HDS)

Usa un catalizador químico

$\text{CoMo/Al}_2\text{O}_3$ o $\text{NiMo/Al}_2\text{O}_3$

Presiones entre 150 y 3000 psi (10 y 200 atm),
y temperaturas entre 290 y 455 °C

Este proceso da como resultado H_2S que antes se quemaba y ahora se transforma en S elemental mediante proceso Claus



Desulfurización Oxidativa (ODS)

Oxida los compuestos de azufre a Sulfóxidos y Sulfonas

Agrega uno o dos átomos de oxígeno al azufre sin modificar la estructura del enlace C-S, transformándolos en compuestos polares que se extraen selectivamente por solventes o adsorción sobre sólidos.

Puede usar H_2O_2 , O_2 o peróxidos orgánicos

Opera a baja presión y temperatura ($50\text{ }^\circ\text{C}$). Puede incorporar un catalizador



Procesos de adsorción

Adsorción reactiva

Usa agentes reactivos en el adsorbente que actúan sobre los compuestos de azufre

Son procesos patentados, utilizan la combinación de adsorción sobre un sólido y hidrosulfurización a baja presión de hidrógeno y altas temperaturas. Actúa sobre los compuestos heterocíclicos de azufre.

Usa compuestos de Ni y ZnO

Adsorción física

Usa un adsorbente que retiene la molécula completa, luego se debe tratar para regenerar el adsorbente



Biodesulfurización

Es el uso de microorganismos o enzimas para producir la descomposición de los compuestos organosulfurados.

Puede hacerse en forma aeróbica o anaeróbica

En algunos casos se descompone parte del hidrocarburo

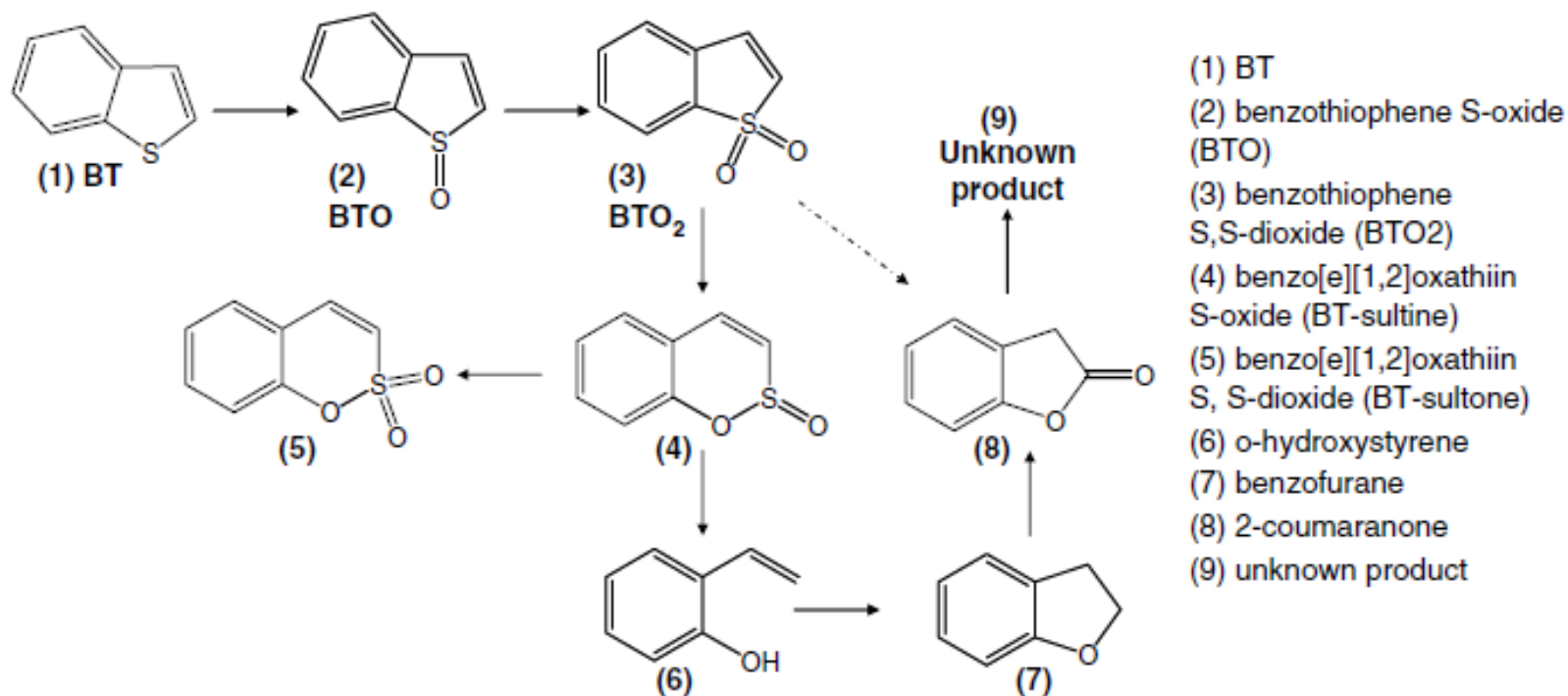
Requiere el uso de cepas o consorcios microbianos interactivos que actúen específicamente sobre el enlace S-C

El mecanismo de bioreacción es complejo

El producto es un compuesto orgánico y sulfato

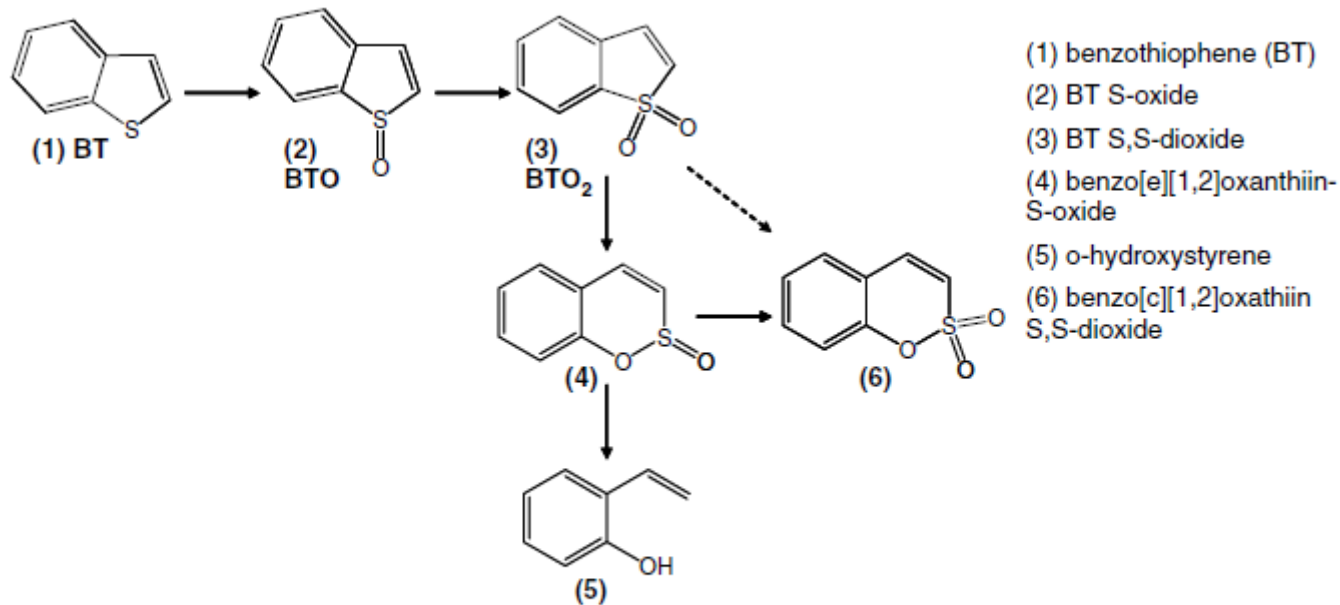


Mecanismos biodesulfurización bacteriana



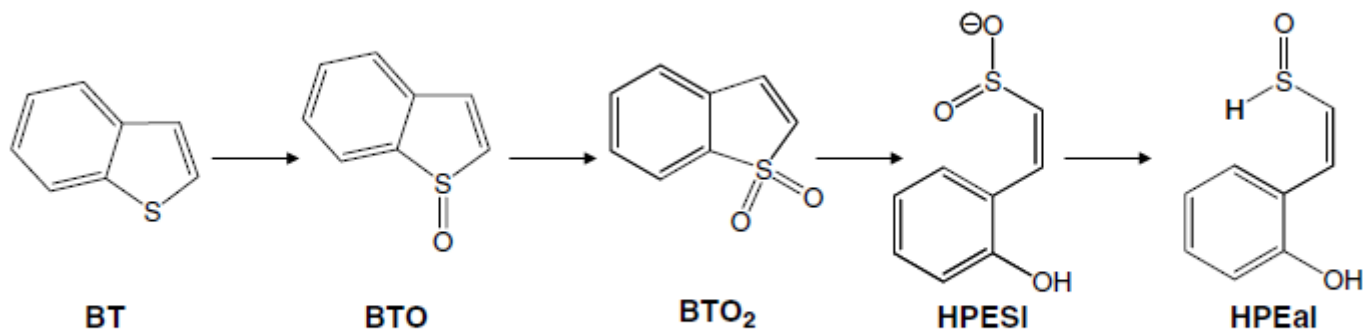
Vía metabólica de desulfurización de Benzo Tiofeno de *G. rubropertinctus* y formación de cumarona





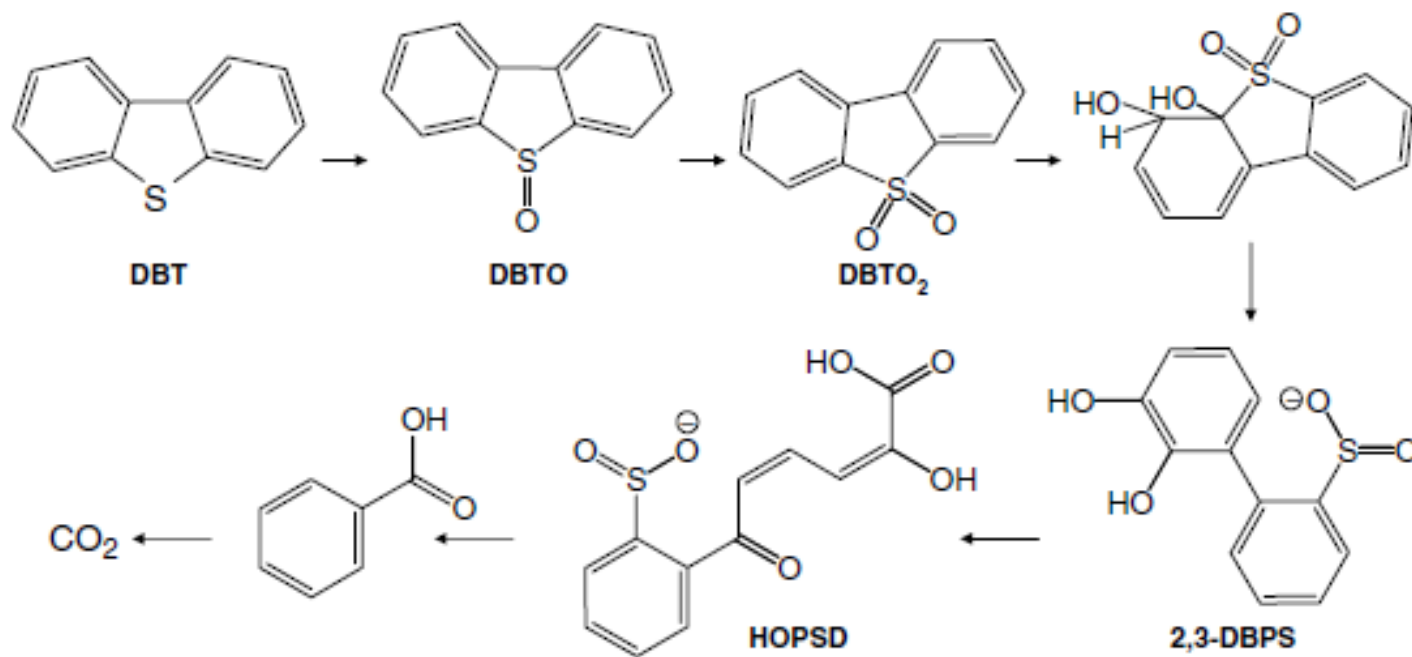
Vía metabólica propuesta para la desulfurización de Benzotiofeno por *Paenibacillus* sp





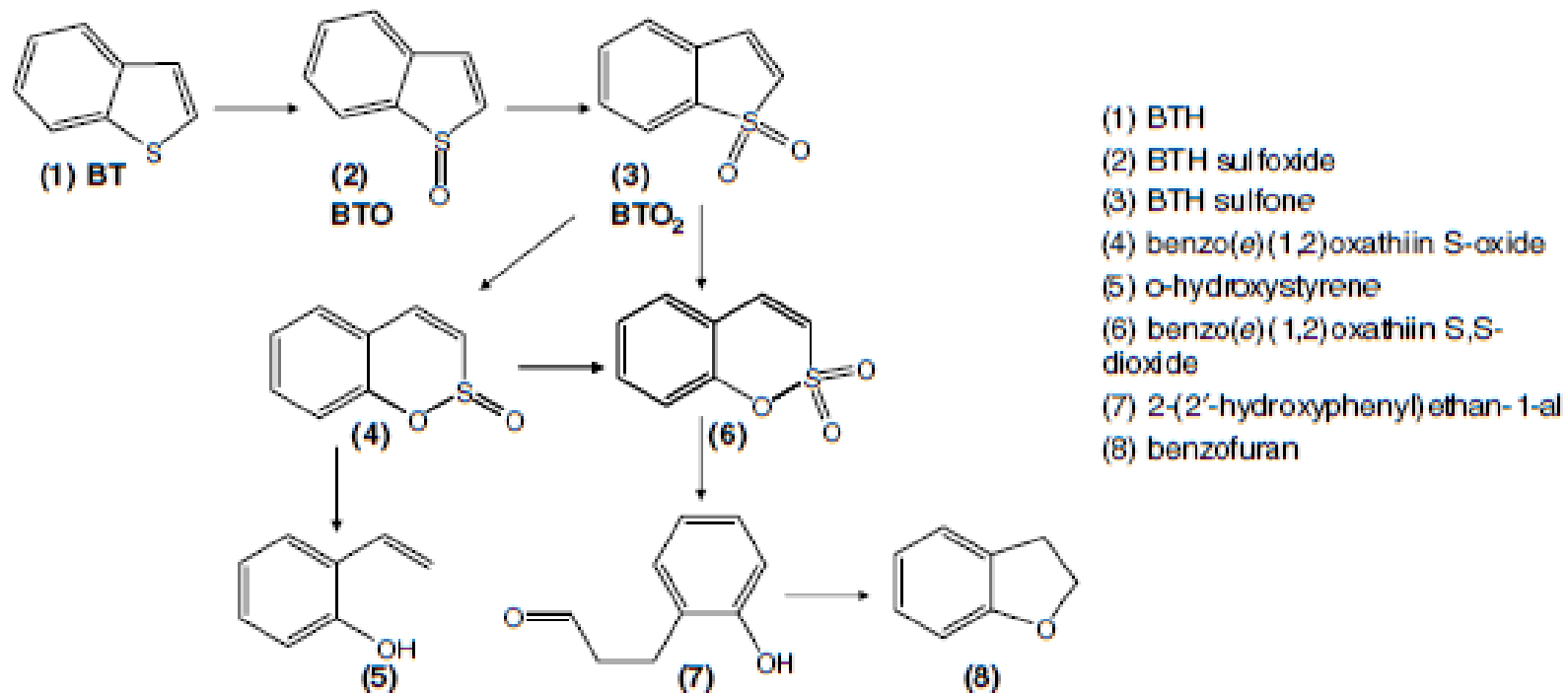
Via de desulfurización de Benzo Tiofeno por *Gordonia* sp 213E





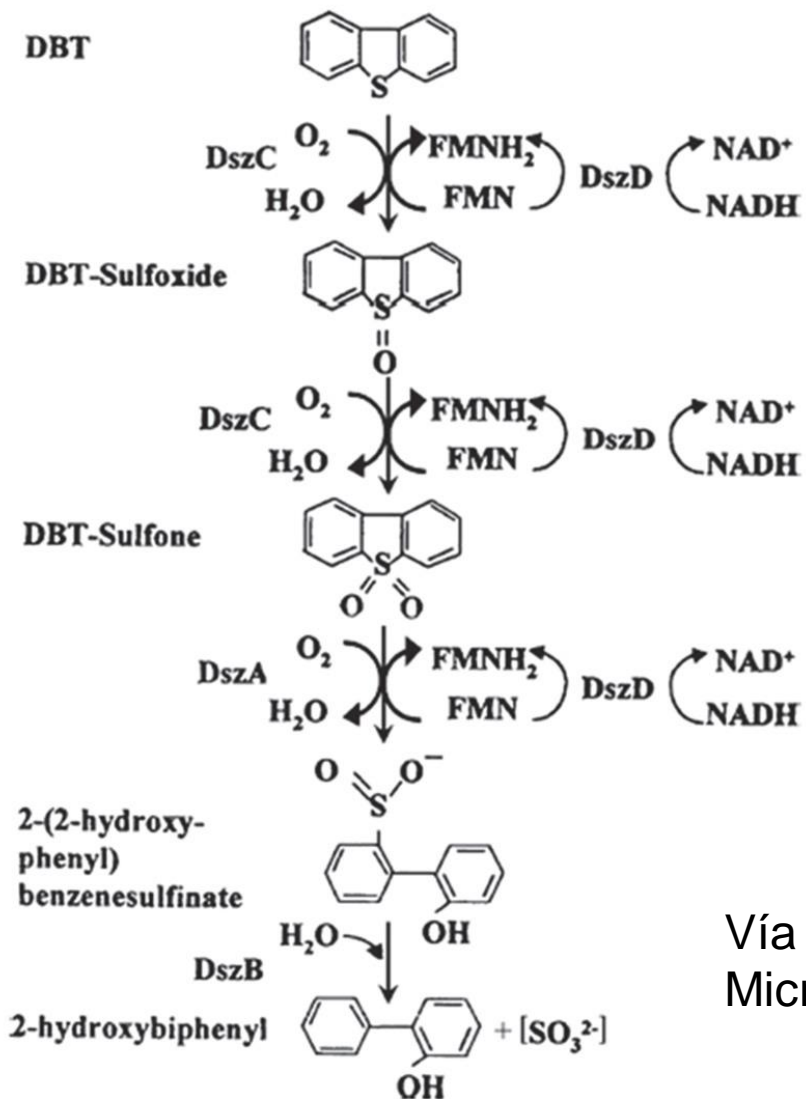
Vía destructiva de anillos en cepas de *Brevibacterium*





Vía metabólica de desulfurización de Benzo Tiofeno con *M. goodii*





Vía 4S de Proceso de Desulfurización Microbiana de DBT a 2HBP y Sulfato



Rendimientos

Cultivo	Fracción de hidrocarburo	Grado de desulfurización %
Gordonia sp. P32C1 (células en crecimiento)	Combustible diesel liviano después de la hidrodesulfurización (303 ppm)	48.5
Mycobacterium sp. X7B(células en reposo)	Combustible diesel después de la hidrodesulfurización (535 ppm)	86
Pseudomonas delafieldii R_8 (células en crecimiento)	Combustible diesel después de la hidrodesulfurización (591ppm)	47
Gordonia sp. CYKS1(células en reposo)	Alimentación de la unidad de destilados medianos (1500 ppm)	70
	Gasoil Liviano (3000 ppm)	50
Gordonia sp. SYKS1(células en reposo)	Gasoil Liviano (3000 ppm) sin ser sometido a hidrodelsufurización	35
	Alimentación de la unidad de destilados medianos (1500 ppm)	60
Gordonia sp. SYKS1(células en reposo)	Combustible Diesel (250 ppm)	76
Rhodococcus sp. CRD_1(células en crecimiento)	Fracción media del gasoil liviano después del craking catalitico (669 ppm)	92
Rhodococcus erythropolis I_19 (células en reposo)	Destilado Medio después de la hidrodesulfurización (1850 ppm)	67
Mycobacterium phlei WU_0103 (células en crecimiento)	Gas oil liviano diluido 12 veces (Straight-run light gasoil) (1000 ppm)	52
Pseudomonas delafieldii R_8 (células en reposo)	Combustible Diesel después de la hidrodesulfurización (591ppm)	90.5

Productos iniciales y finales

Bacteria	Substrato portador de azufre	Producto Final
Rhodococcus erythropolis KA2-5-1	DBTs alquilados (C2-DBTs and C3-DBTs)	Bifenilos hidroxilados correspondientes
Rhodococcus erythropolis H-2	2,8-DMDBT, 4,6-DMDBT 3,4-Benzo-DBT a-Hidroxi-b-fenilnaftaleno	Bifenilos hidroxilados correspondientes
Bacterial cepa RIPI-S81	4-MDBT 4,6-DMDBT	2-Hidroxi-3-metil bifenil, 2-Hidroxi-3-metil bifenil 2-Hidroxi dimetil bifenil
Mycobacterium sp. G3	4,6-Dibutyl DBT, 4,6-dipentyl DBT; 4,6-DMDBT, 4,6-DEDBT	Productos de la rotura C-S
Paenibacillus sp. A11-2	Metil, etil, dimetil, trimetil and propil DBTs Bifenilos	Hidroxilados correspondientes
Rhodococcus sp. ECRD-1	4,6-DEDBT	Hidroxi dimetil bifenil

Biodesulfurization of Petroleum Distillates—Current Status, Opportunities and Future Challenges

Olawumi O. Sadare, Franklin Obazu and Michael Olawale Daramola *



Enzimas:

Dibenzotiofeno Desulfurizantes

Monooxigenasa

Dibenzothiophene (DBT) Sulfono Monooxigenasa,

Desulfinasas Aromáticas,

2-(2'-Hidroxifenil) Benzeno sulfinato Desulfinasa



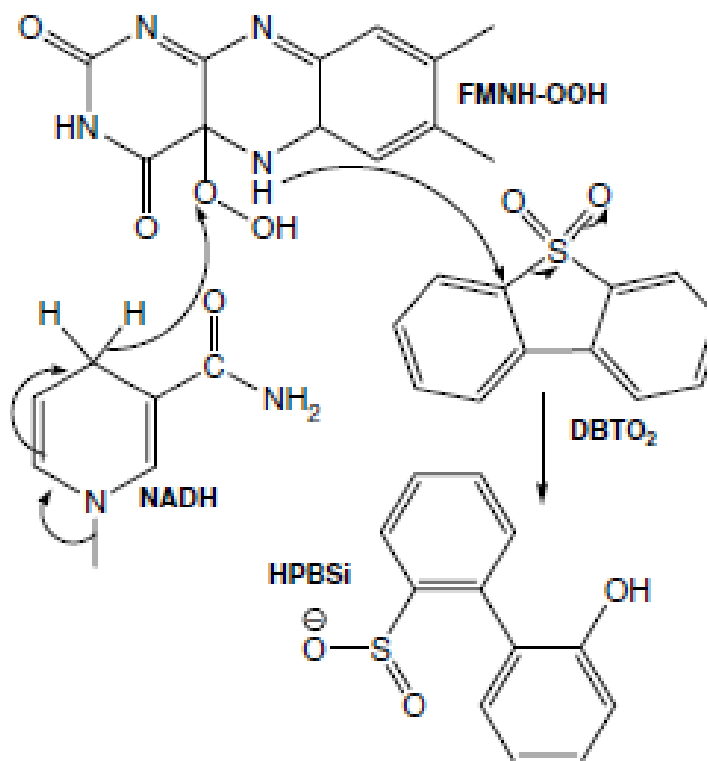


Figure 10. Proposed mechanism of action for the DszA.



Table 6. Comparison of properties of enzymes involved in biodesulfurization

	Maximum activity at <i>T</i> (°C), units/mg	Optimum temperature (°C)	Optimum pH	pH stability	Temperature Stability (°C) 30 min	Molecular mass (kDa)	Number of subunits and mass (kDa)	Metal inhibitors	Other inhibitors
DszC	775 (45°C)	45	8.0–9.0	8.0–9.0	45 (80%)	180	4 × 45	Zn ²⁺ , Cu ²⁺ , Hg ²⁺	DTNB, DTNP, PCMB, 1, 10-PT
TdsC	4.6 (50°C)	65	9.0	ND	65 (40%)	200	4 × 43	Zn ²⁺ , Cu ²⁺ , Hg ²⁺	DTNB, DTNP, PCMB, 1, 10-PT
BdsC	84.2 (50°C)	50	8.0	8.0–11.0	50 (80%)	200	4 × 45	Ag ⁺ , Cu ²⁺ , Hg ²⁺	DEDC, DTNP, PCMB, 1, 10-PT, 8-Q
DszA	807 (35°C)	35	7.5	6.0–10.0	40 (10%)	100	2 × 50	Mn ²⁺ , Cu ²⁺ , Ni ²⁺ , Hg ²⁺	DTNP, 8-Q
TdsA	33 (50°C)	45	5.5	ND	65 (40%)	120	2 × 48	Cu ²⁺ , Zn ²⁺	–
BdsA	855 (50°C)	50	7.5	6.0–10.0	50 (30%)	174	4 × 45	Ag ⁺ , Co ²⁺ , Zn ²⁺ , Cu ²⁺ , Ni ²⁺ , Hg ²⁺	EDTA, 2, 2'-BP, PCMB, 1, 10-PT
DszB	207 (28°C)	35	6.0–9.0	6.0–11.0	30 (70%)	40	1 × 40	Ag ⁺ , Cu ²⁺ , Hg ²⁺	NEM, PCMB
TdsB	139 (50°C)	55	8.0	ND	65 (50%)	39	1 × 39	Mn ²⁺ , Zn ²⁺	DTNB, IA, NEM, PCMB
BdsB	211 (35°C)	37	6.0–9.0	6.0–11.0	30 (80%)	40	1 × 40	Ag ⁺ , Cu ²⁺ , Hg ²⁺	PCMB

ND = Not determined; DTNB: 2,2'-Dithiobis(5-nitropyridine); DTNP: 2,2'-Dithiobis(5-nitrobenzoate); DEDC: Diethyldithiocarbamate; IA: Iodoacetate; NEM: N-ethylmaleimide; PCMB: p-chloromercuribenzoate; 1, 10-PT: 1, 10-phenanthroline; 8-Q: 8-Quinolinol; 2, 2'-BP: 2, 2'-Bipyridyl.
References: Bds enzyme data [150], Dsz enzymes: [90,151–154], Tds enzymes: [155,156].



Aspectos a considerar en el proceso

Presencia de agua

Desalinización del petróleo o del combustible considerado

Eliminación de impurezas e inhibidores

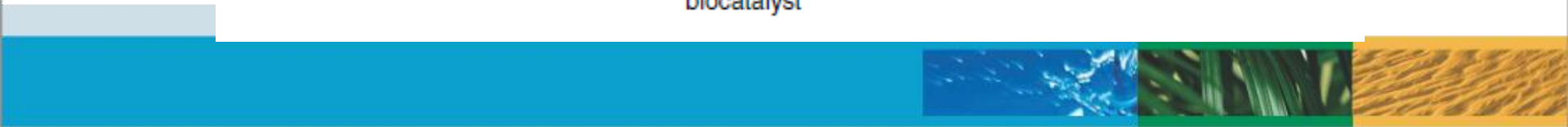
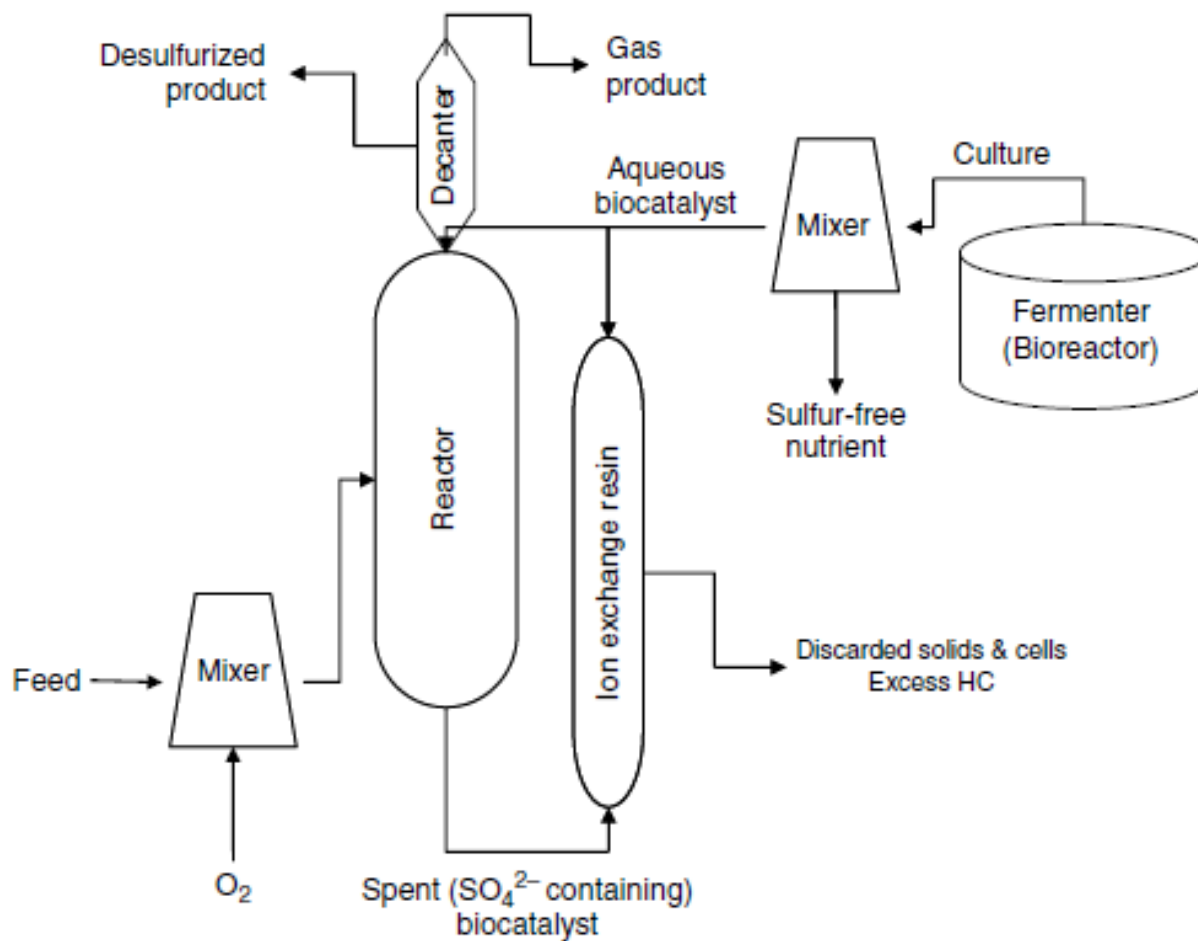
El procedimiento incluye:

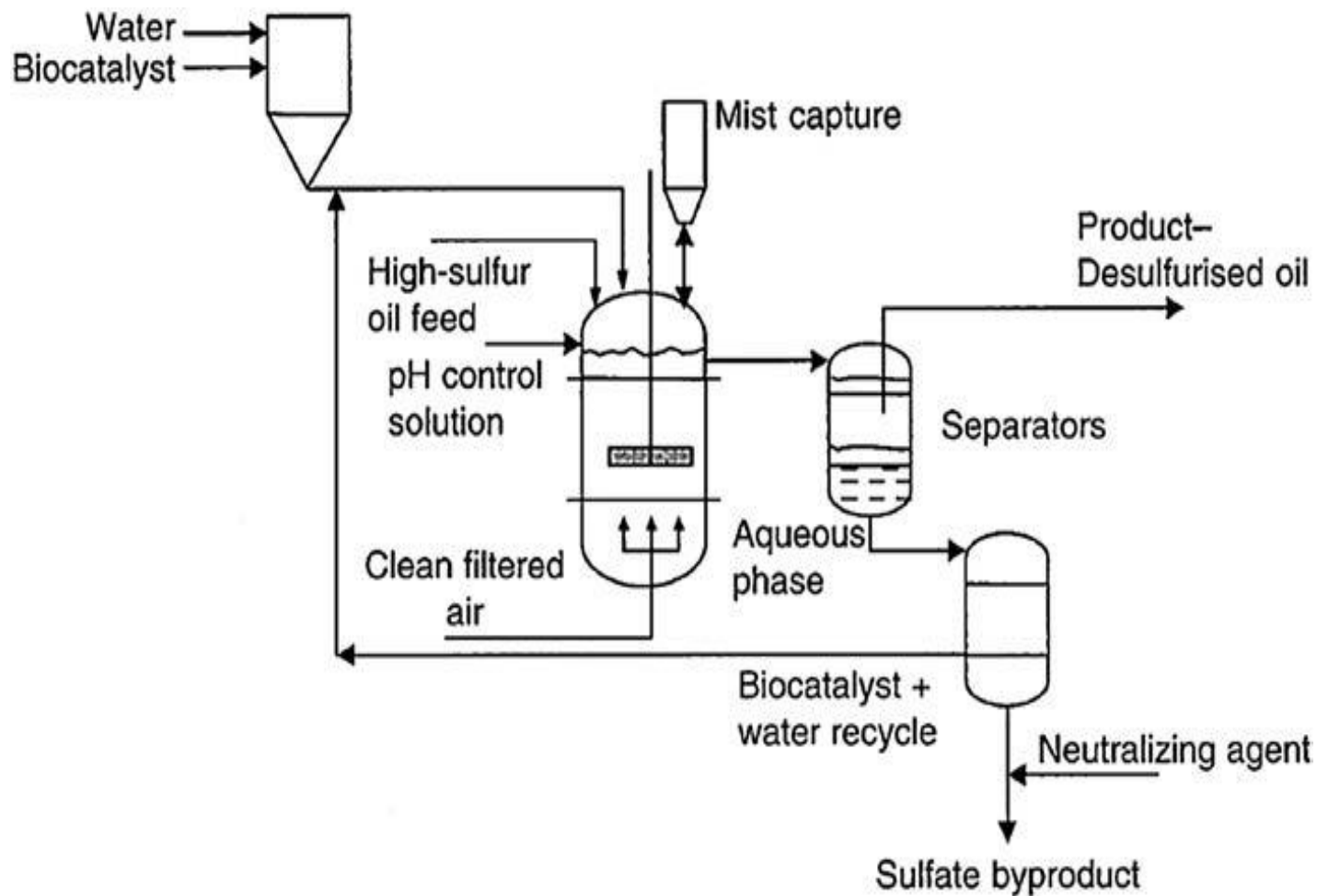
1. Poner en contacto el combustible con suficiente cantidad de agua para disminuir la concentración de sales e inhibidores.
2. Poner en contacto una cantidad de biomasa suficiente para producir la desulfurización
3. Desarrollo del proceso (tiempo de residencia suficiente)
4. Separar el agua del combustible, la primera contiene biomasa y las sales inorgánicas de azufre

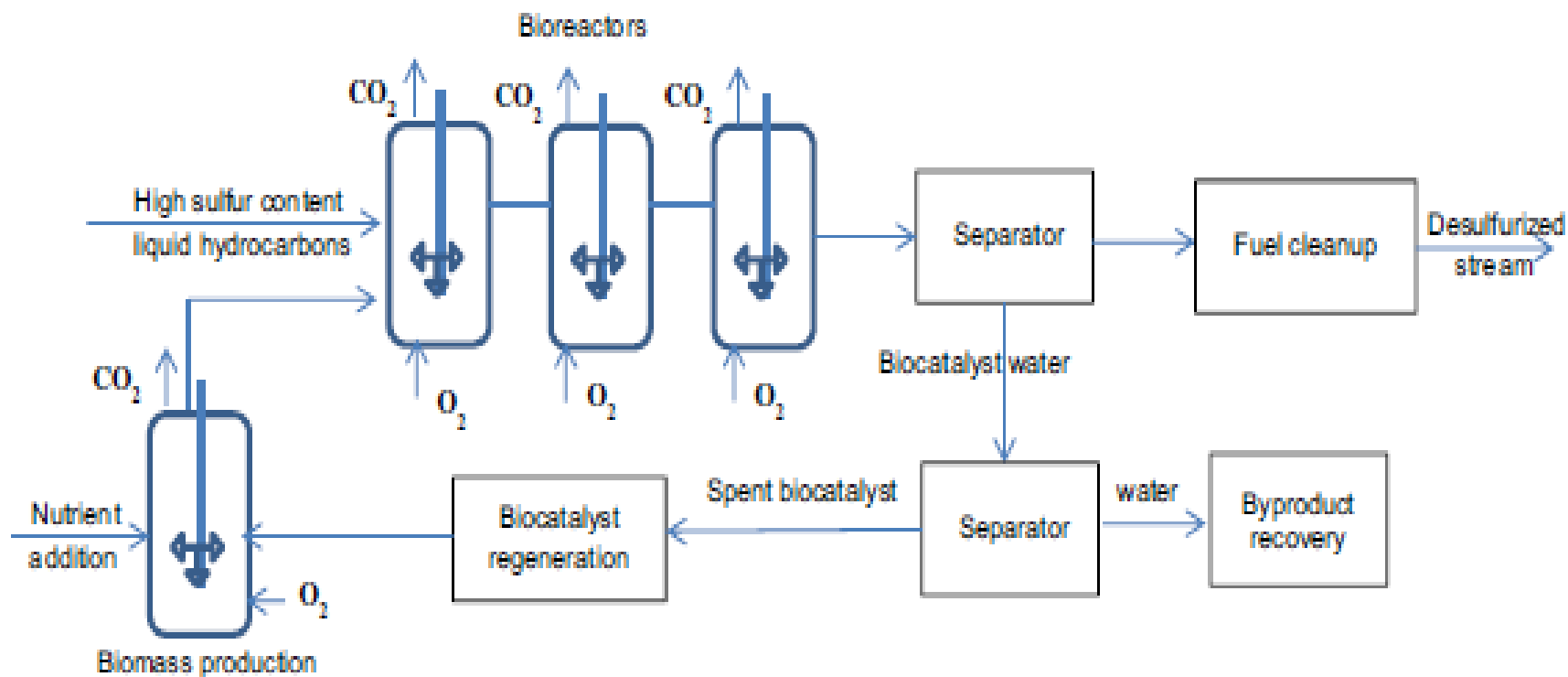
Las etapas 1,2 y 3 se pueden hacer en un “desalter” el cual requiere baja concentración de agua y tiene tiempos de residencia (30 minutos). Otra opción es realizar estas etapas en un reactor tanque agitado.



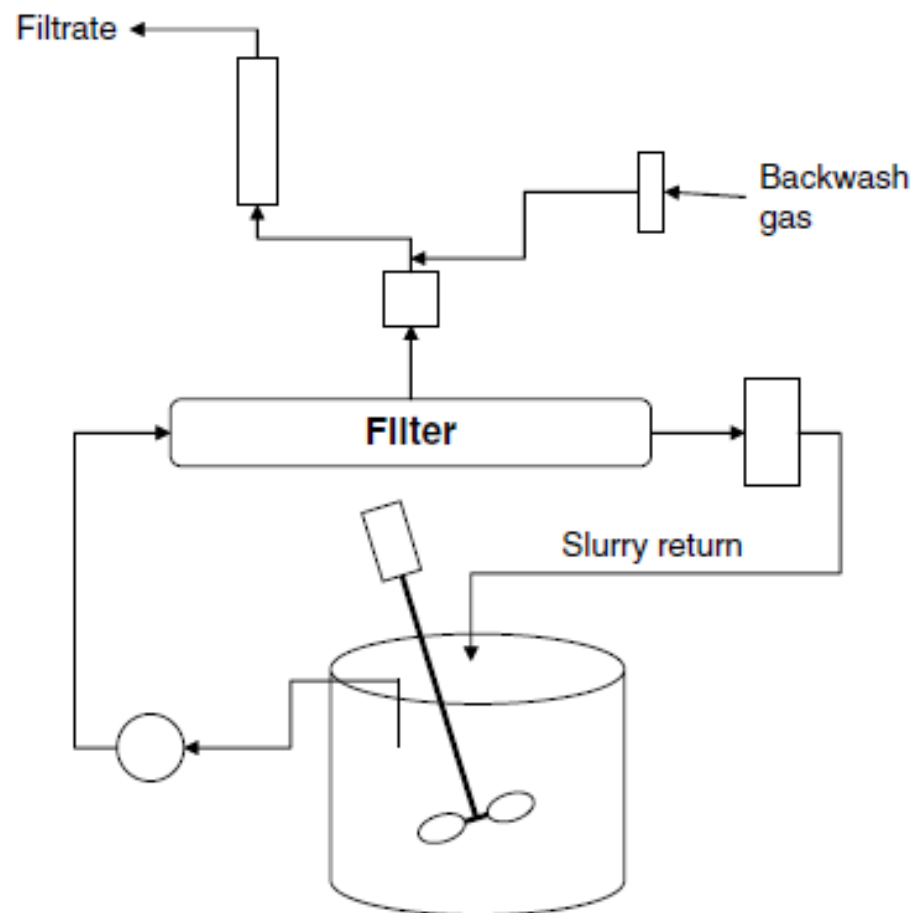
Proceso típico



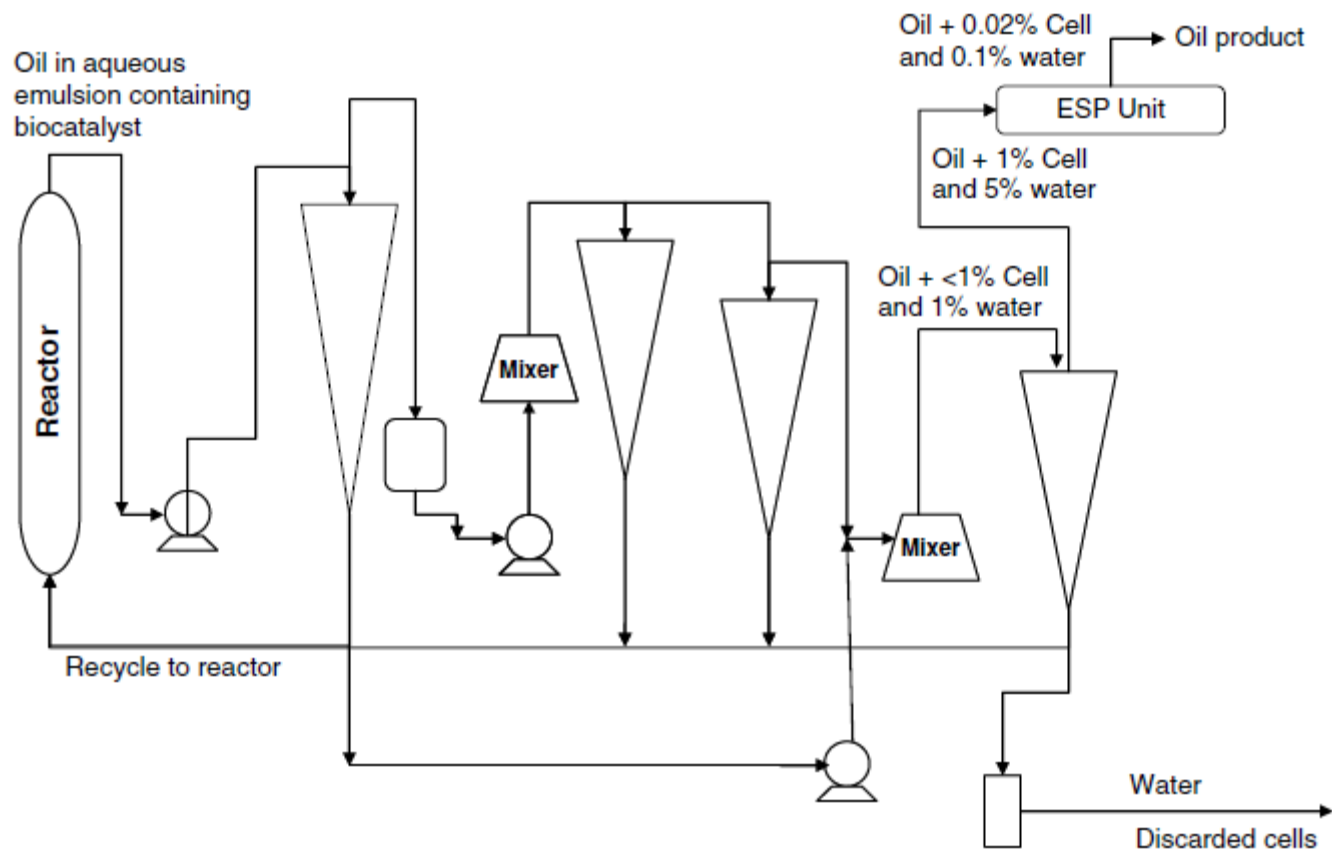




Separación de emulsiones por filtrado



Separación de emulsiones por hidrociclonado



Influencia de las variables de proceso

Nutrientes de proceso

Fuente de carbono: citrato y glucosa. (ácidos orgánicos)

Los medios deben estar dirigidos al desarrollo de microorganismos que puedan descomponer el enlace C-S.

En todos los casos conviene desarrollar el medio específico en forma experimental

Estos medios son complejos y están en fase de desarrollo.

Los restantes componentes son fuente de Nitrógeno, de Fósforo y oligoelementos.

Toxicidad del hidrocarburo sobre los microorganismos y el efecto de la formación de emulsiones

Los hidrocarburos más tóxicos son los de la fracción gasolina/nafta.

La velocidad de respiración se puede usar como medida de la toxicidad



Relación agua/petróleo

- El proceso se lleva a cabo en un sistema bifásico Un factor que afecta es la viscosidad del hidrocarburo, además de la toxicidad y el contenido de sales
- La efectividad depende del microorganismo y del tipo de hidrocarburo
- Cuando se trabaja con petróleo crudo la efectividad es menor que cuando se usan destilados medianos (60 a 90 % dependiendo del destilado)
- La relación puede medirse en base a biomasa (1,25 ml agua/g de células secas por congelamiento) o por la relación agua/hidrocarburo.
- H_2O/HC varía desde 9:1 a 4:1
para cepas específicas 1:1 hasta 20:1

Se ha encontrado que la velocidad de desulfurización aumenta hasta una relación de 2:1 y luego se mantiene constante

Algunos autores recomiendan **una relación de 3:1** como relación técnico-económica



Densidad celular

La densidad celular es importante y se ha verificado que la desulfurización aumenta con la biomasa. Se requiere un mínimo de 25 g de células por litro. Diversos estudios indican que se pueden utilizar desde 18 g c liof/L a 270 g c liof/L

Proceso discontinuo, semi continuo y continuo

La mayor parte de la experimentación se ha hecho en proceso discontinuo

Proceso semicontinuo la velocidad de dilución es de 0,12 /h, se requiere un ingreso de biomasa y la recirculación de la misma.

En proceso continuo (de mayor posibilidad de aplicación industrial) requiere de un estudio profundo (está aún en fase de desarrollo)



Diseño del Reactor (proceso aerobio)

Debe producir microemulsiones

1. Tanque agitado
2. Electroseparator forma microemulsiones utilizando el efecto de las diferentes conductividades
3. Air lift
4. Air lift en serie

Proceso anaerobio

Electrobiocatalítico: usa celdas electroquímicas y los microorganismos se encuentran en el cátodo. Se pueden usar bacterias sulfato reductoras y el azufre es liberado como H_2S .

Otros procesos anaeróbicos: se usan bacterias sulfato oxidantes y producen azufre elemental, o bien sulfóxidos



BIODESULFURIZACION DE LARGO TIEMPO EN CICLOS MEDIANTE INMOBILIZACION

INMOBILIZACIÓN DE CÉLULAS O ENZIMAS

Matriz polimérica y porosa que permita el intercambio de materia y energía. Las enzimas se pueden inmovilizar de forma similar.

Los materiales

- 1- alginato,
- 2- carragenato,
- 3- gelatina
- 4- quitosanos.

Características:

- 1- **Capacidad de recuperar fácilmente la biomasa y recircularla o reutilizarla**
- 2- Restricciones de transferencia de materia
- 2- densidad menor de células que en cultivo libre,
- 3- fuerza de adhesión,
- 4- actividad biocatalítica
- 5- Estabilidad operacional.



DESULFURIZACION NANOBIOCATALITICA

En este caso se incluye dentro de la preparación del inmovilizante nanopartículas super-paramagnéticas. De esta forma se pueden separar los microorganismos con un campo magnético.

Los métodos de preparación son un poco más complejos que la inmovilización en materiales no magnéticos.

Mejoras: recuperación y recirculación, mejora la actividad de la reacción, mayor estabilidad, mayor resistencia a la pérdida de células mayor número de ciclos
En ensayos realizados comparando células inmovilizadas en materiales no magnéticos y súper-paramagnéticos se ha logrado en estos últimos no solamente mejorar la recuperación sino también mejora la actividad en la reacción de biodesulfurización, mayor estabilidad, mayor resistencia a la pérdida de células y además mayor número de ciclos de uso mediante recirculación (de 5 a 7).

En el caso de las nanopartículas se disminuyen los problemas de transferencia de materia, pérdida de células y formación de películas sobre el agente inmovilizante. Esto procesos pueden ser mejorados por el uso de surfactantes.



Resumen de proceso

1. Crecimiento de microorganismos en un reactor biológico con adecuada fuente de carbono y nutrientes para alcanzar la biomasa necesaria
2. Separación de la biomasa del medio de cultivo
3. Uso de la biomasa en un reactor con una relación mínima de H₂O / HC de 3:1
4. Separación de fases (acuosa, hidrocarburo y biomasa)
5. Reciclado de la biomasa (pasta)
6. Recuperación secundaria de biomasa por filtración
7. Remoción de sulfato por precipitación con cal u otras sales
8. Remoción de la fase acuosa del hidrocarburo (separador electrostático)



BIOPGRADING DEL PETRÓLEO

Constituye el conjunto de técnicas que permiten reducir el contenido de asfaltenos, demetalización, desulfurización y denitrogenación.

Esta técnica es importante porque en 70 países del mundo existen grandes reservas de hidrocarburos pesados, ricos en asfaltenos. Por ejemplo Canadá posee una reserva de este tipo de hidrocarburos del orden de $280-300 \times 10^9$ barriles, muchos de ellos esquistos bituminosos, que supera en un 20 % de las reservas de Arabia Saudita (230×10^9 barriles).

En conjunto se estiman que las reservas de crudos pesados y extrapesados alcanzan 2,5 veces las reservas de crudos livianos y medianos

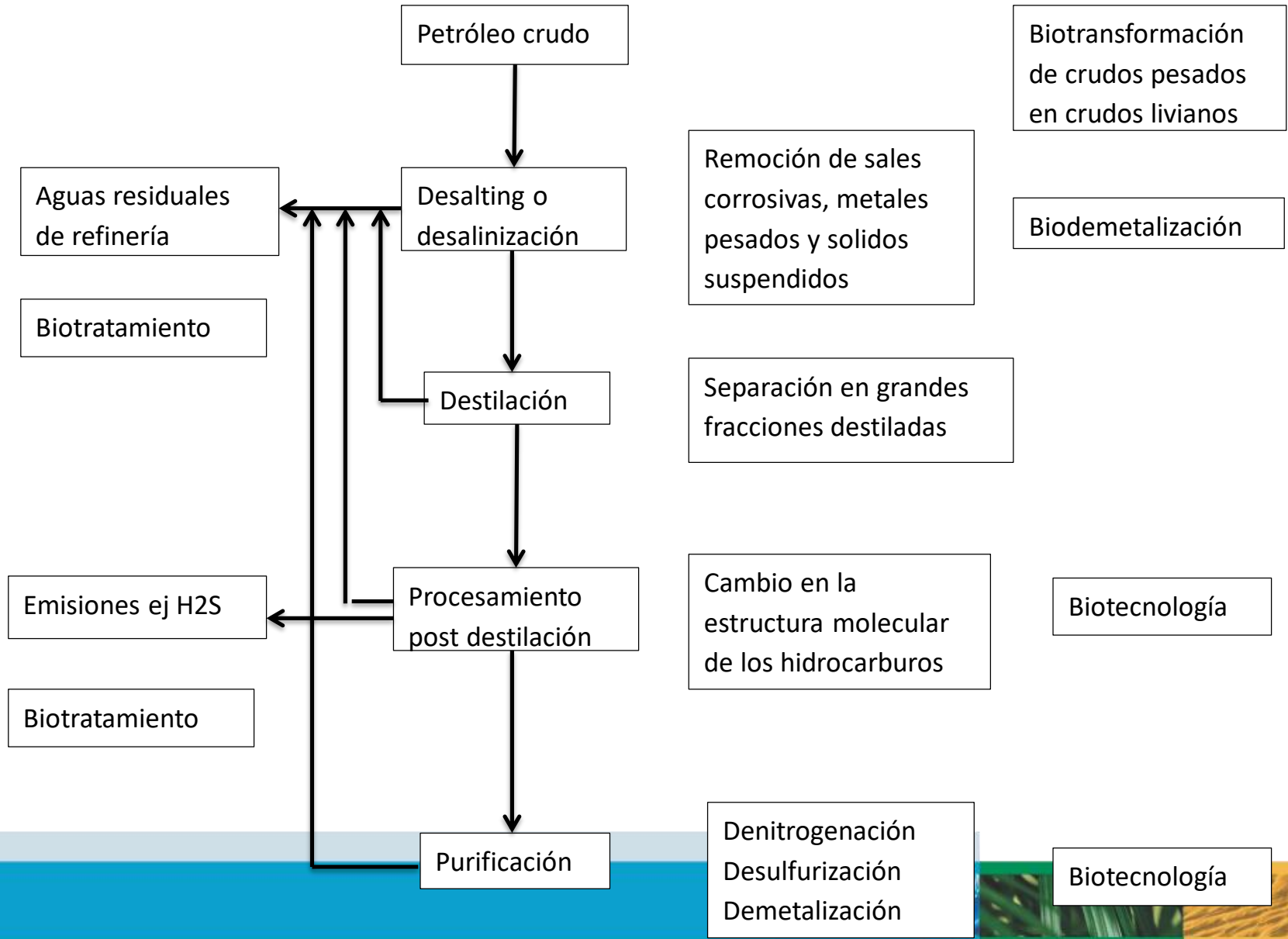
En este caso la biotecnología involucra el uso de un amplio rango de condiciones, temperaturas medias y bajas presiones, procesos limpios y selectivos, menor emisión no generación de productos indeseables.

Se puede aplicar a la eliminación de azufre, nitrógeno, metales tóxicos, aromáticos y asfaltenos.



Tipo de petróleo	Características
Crudo Liviano	Móvil en el reservorio
	Densidad API > 35 °API
	Viscosidad < 10000 cP
	Presente en reservorios de alta permeabilidad
	Se produce por métodos de recuperación primaria y secundaria
Crudo Medio	Móvil en el reservorio
	Densidad API: 25-35 °API
	Viscosidad < 10000 cP
	Presente en reservorios de alta permeabilidad
	Se produce por métodos de recuperación primaria y secundaria
Tight	Propiedades similares al petróleo crudo convencional
	Densidad API > 25 °API
	Viscosidad < 10000 cP
	Inmóvil en el reservorio
	Presente en reservorio de baja permeabilidad
	Se produce por perforación horizontal y fractura hidráulica para liberar líquidos y/o gases

Tipo de petróleo	Características
Crudo Pesado	Mas viscoso que el convencional
	Densidad API 10-20 °API
	Viscosidad < 10000 cP
	Móvil en el reservorio
	Presente en reservorios de alta permeabilidad
	Se produce por métodos de recuperación secundaria y terciaria
Crudo extrapesado	Propiedades similares al hidrocarburo de las arenas bituminosas
	Densidad API < 10 °API
	Viscosidad < 10000 cP
	Móvil en el reservorio
	Presente en reservorios de alta permeabilidad
	Reservorio o depósito de alta temperatura
	Se produce por métodos de recuperación secundaria y terciaria
Esquistos Bituminosos Arenas Bituminosas	Inmóvil en el depósito o yacimiento
	Densidad API < 10 °API
	Viscosidad < 10000 cP
	Presente en reservorios de alta permeabilidad
	Se produce por minería en galería o a cielo abierto o mediante extracción por gravedad con asistencia de vapor, con asistencia de diésel o proceso de extracción con vapor (VAPEX). También combustión in situ



BIOTRANSFORMACION DE PETROLEOS PESADOS

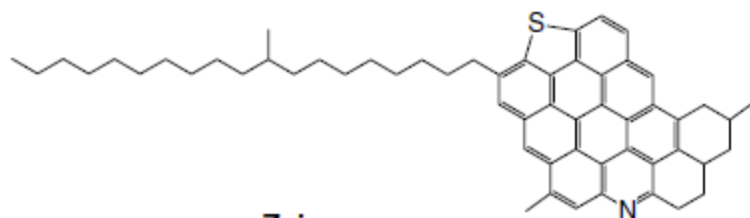
El principal objetivo es reducir la viscosidad del crudo, sin aumentar la temperatura mediante el uso de biosurfactantes o la fragmentación de las moléculas de asfaltenos.

La reducción de la viscosidad del crudo se puede lograr por métodos físicos como dilución, emulsificación y adición de tensioactivos. Químicamente se puede hacer una hidrogenación del crudo

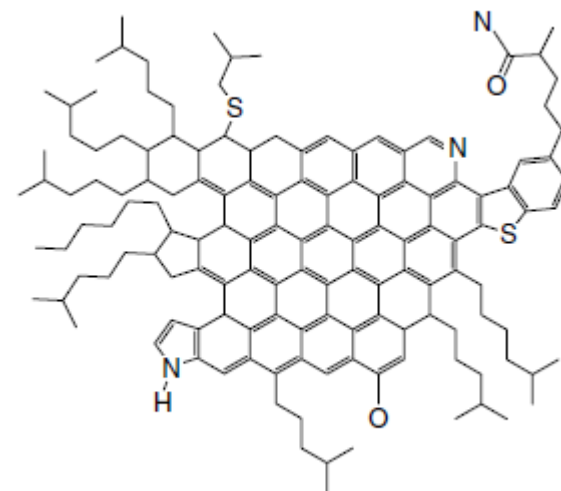
Los asfaltenos son compuestos de alto peso molecular desde 600 a 2×10^6 , con estructuras aromáticas y cíclicas dentro del petróleo son sólidos suspendidos que aumentan la viscosidad del mismo



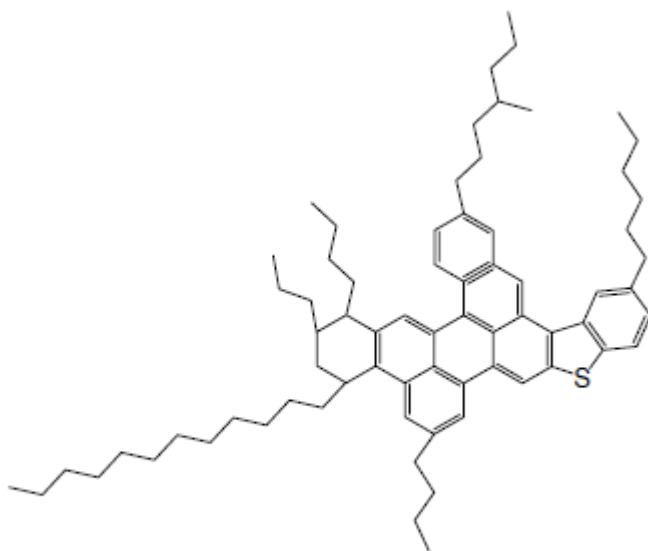
Asfaltenos



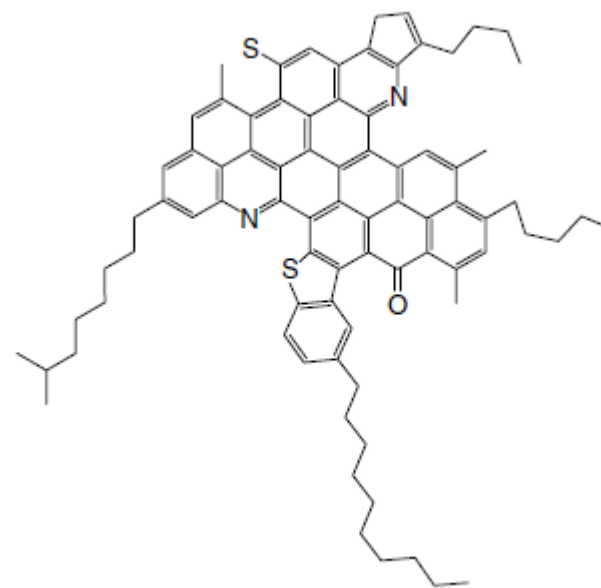
Zajac



Murgich

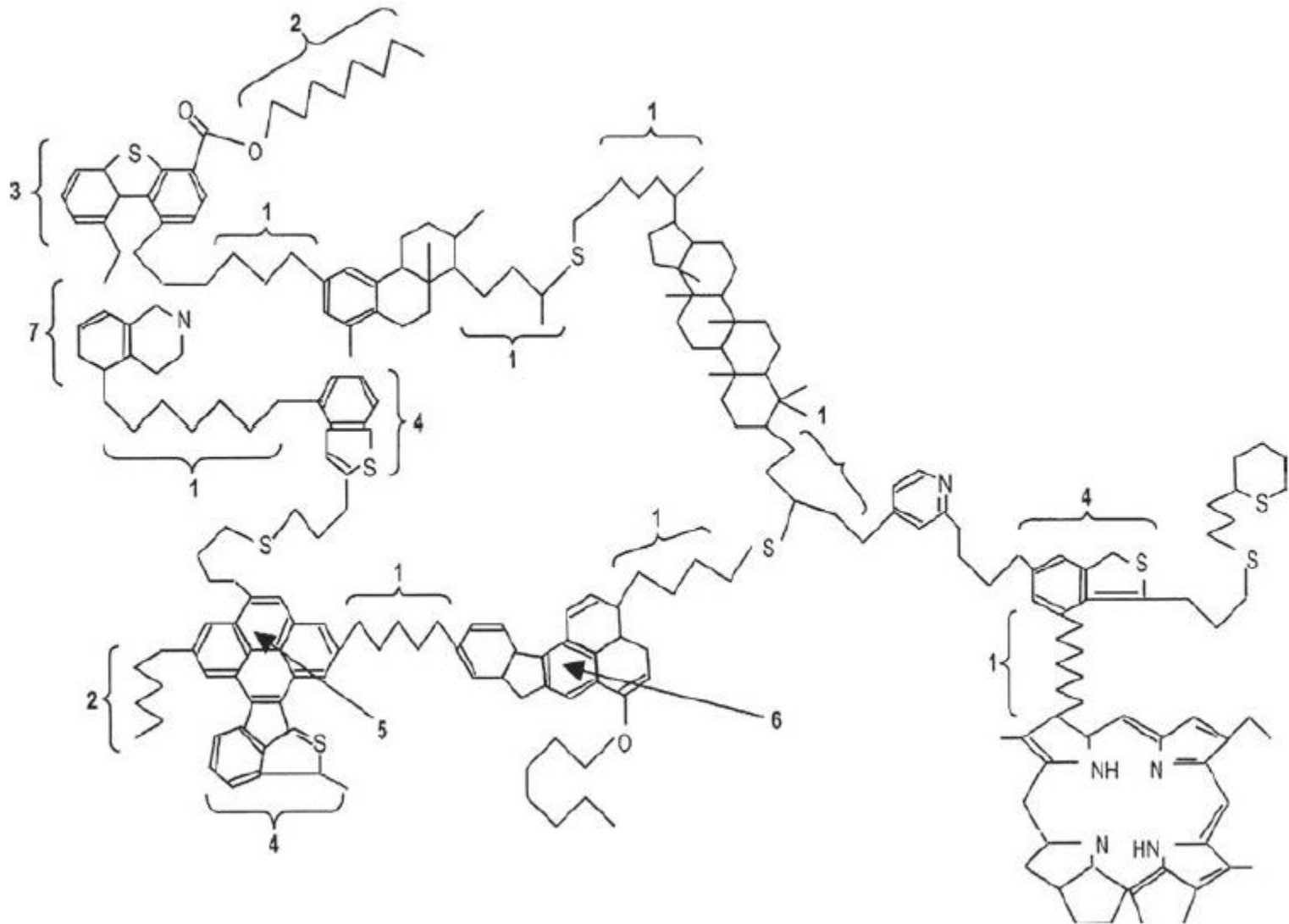


Mullins



Speight





Asphaltene structure. Regions susceptible of fragmentation and biodegradation in an asphaltene molecule:
 1. photooxidation; 2. beta-oxidation; 3. dibenzothiophene metabolic path; 4. path similar to dibenzothiophene; 5. pyrene path; 6. path similar to benzo(a)pyrene; 7. similar to carbazoles.



Con esta perspectiva se ha empezado el estudio de la biodegradación de asfaltenos en particular la rotura de los anillos aromáticos. Es una alternativa ambientalmente sustentable y técnica económica posible.

Una de las dificultades de la biotransformación es la transferencia de masa por el tamaño alto de la molécula. Sin embargo hay evidencia de ataque de los asfaltenos por acción biológica. Los microorganismos Del género *Achromobacter*, *Leptospirillum*, *Pseudomonas*, *Sulfolobus*, *Thiobacillus* tienen capacidad de atacar estos compuestos, son termotolerantes, resisten altas temperaturas, concentración de sal y altas concentraciones de hidrocarburos.

El mecanismo todavía no está bien conocido, pero puede incluir oxidación, redistribución y fragmentación a maltenos.

Se están aislando cepas de los campos petroleros de Irán, China, Mexico y Venezuela que son ricos en asfaltenos.



MÉTODOS PARA DISMINUIR EL TAMAÑO DE LA MOLÉCULA

Modificación molecular o rotura de enlaces

Los asfaltenos pueden contener azufre o enlaces estéricos entre dos o más anillos poliaromáticos. Estos enlaces con azufre y oxígeno pueden ser rotos por acción microbiana y traen aparejados la reducción de peso molecular.

Se ha demostrado que la remoción de azufre produce moléculas de alquilos y sulfuros. Los microorganismos que realizan esta transformación son del genero Rhodococcus. Son procesos de desulfurización del petróleo



Incorporación de oxígeno

Constituye una oxidación parcial que logra la rotura de los enlaces π de los anillos aromáticos de las moléculas de asfaltenos. Los microorganismos que atacan estas moléculas son especies de *Corynebacterium*, *Bacillus*, *Brevibacterium* y *Staphylococcus*. También lo producen *Pseudomonas*,

Acinetobacter, *Alcaligenes*, *Flavimonas*, y *Flavobacterium*. Hay muchos trabajos que indican otras especies.

Este proceso puede usar de enzimas del tipo Citocromo C que operan en temperaturas altas con una media de 60 °C.

También se han usado cloroperoxidasas en presencia de H_2O_2 . Estas enzimas se usan para reducir los PAH.



Saturación de anillos aromáticos

Consiste en la apertura de los anillos y disminuir el peso molecular del asfalteno.

Se han reportado ensayos en donde también disminuyen el contenido de azufre, nitrógeno y metales, especialmente estos últimos. Se producen compuestos oxigenados que mejoran la calidad antidetonante de las naftas. Como estos hay muchos otros ejemplos

Hidrogenación de anillos aromáticos

Es posible en presencia de hidrogenasas, enzimas que proveen de hidrógeno a las moléculas de asfaltenos. Esta etapa está en vías de desarrollo.



Los microorganismos que pueden actuar en estas situaciones son aislados de campos petroleros en zonas áridas, ricos en asfaltos o provenientes de reservorios

Todos estos procesos están en fase de desarrollo y constituyen una serie de estudios científicos y tecnológicos.

Los microorganismos que se han encontrado en los depósitos de asfalto son Archea y Bacteria. De un screening de 750 cepas sólo 6 tenían capacidad de atacar a los asfaltenos. Los productos de la biodegradación deben ser considerados cuidadosamente.

Se han realizado ensayos con consorcios de bacterias pero debido a la metodología analítica utilizada no se ha podido determinar su eficiencia y no se puede distinguir de las pérdidas abióticas, por lo que se debe tener precaución para llevar a la práctica estos ensayos.

Otros candidatos para el proceso son hongos aislados de lagos de asfalto o sitios contaminados en los desiertos cálidos,

