

FABIANE DE MESQUITA BATISTA

PRODUÇÃO DE BIOSURFACTANTE POR *Bacillus subtilis* COM ELEVADA
EFICIÊNCIA NA MOBILIZAÇÃO DE ÓLEO PESADO

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Microbiologia Agrícola para
obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2008

RESUMO

BATISTA, Fabiane de Mesquita, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Setembro de 2008. **Produção de biossurfactante por *Bacillus subtilis* com elevada eficiência na mobilização de óleo pesado**. Orientador: Marcos Rogério Tótola. Co-orientadores: Antonio Galvão do Nascimento e Luis Henrique Mendes da Silva.

Os óleos pesados (10-20 °API) constituem mais da metade das reservas mundiais de petróleo, havendo previsões de que em 2025 sejam a principal fonte de petróleo no mundo. As dificuldades na exploração desse tipo de óleo estão associadas a características desfavoráveis, como densidade e viscosidade (100 a 10000 cP). Com a necessidade de melhorar o aproveitamento dos reservatórios — tendo em vista os níveis relativamente baixos de eficiência das técnicas tradicionais — tem-se ampliado as pesquisas para o desenvolvimento de novas técnicas de recuperação, destacando-se a recuperação avançada de petróleo melhorada por microrganismos (Microbially enhanced oil recovery – MEOR). Na recuperação de óleos contidos em meios porosos, duas variáveis adimensionais são relatadas como importantes: o número capilar e a razão de viscosidade. À medida que o número capilar aumenta, o óleo residual decresce. Isso pode ser obtido por meio da redução da tensão interfacial entre o fluido de arraste e o óleo residual. Diversos autores têm reportado a obtenção de tensões interfaciais ultrabaixas entre biossurfactantes e hidrocarbonetos, incluindo o óleo pesado. Neste trabalho, testou-se a hipótese de que os biossurfactantes produzidos, em condição de reservatório, por dois isolados de *Bacillus subtilis* pertencentes à Coleção de Culturas do Laboratório de Biotecnologia e Biodiversidade para o Meio Ambiente (LBBMA/DMB/UFV), são capazes de mobilizar óleo pesado em sistemas porosos de areia. Inicialmente, os isolados de *Bacillus subtilis* LBBMA 155 e *Bacillus subtilis spizizenii* LBBMA 258 foram avaliados quanto ao crescimento e produção de biossurfactante em resposta a variações de temperatura e salinidade. Para tanto, foi empregada a Metodologia de Superfície de Resposta (MSR) através do delineamento experimental Composto Central Rotacional (DCCR), e observou-se que esses isolados foram capazes de produzir biossurfactantes em anaerobiose, sendo o crescimento influenciado pela

temperatura e a produção de biossurfactante influenciada pela temperatura e pela salinidade. Posteriormente, os biossurfactantes produzidos por esses isolados, “sozinhos” ou em misturas, foram avaliados quanto à capacidade de mobilização de óleo pesado retido em núcleos porosos de areia. A injeção de três volumes porosos do extrato de biossurfactante (EB) produzidos por *Bacillus subtilis* LBBMA 155 e *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* LBBMA 258 removeram 13,55% e 17,42%, respectivamente, de petróleo residual (14 °API). A mistura dos extratos de biossurfactantes produzidos por esses dois isolados mostrou valores intermediários de DMC e recuperação de petróleo residual reportados para cada um. Sinteticamente, os extratos de biossurfactantes (EB) produzidos em anaerobiose por *B. subtilis* LBBMA 155 e *B. subtilis* subsp. *spizizenii* LBBMA 258 são efetivos na mobilização de óleo pesado em núcleos porosos de areia e possuem potencial de utilização na recuperação avançada de petróleo melhorada por microrganismos.

ABSTRACT

BATISTA, Fabiane de Mesquita, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, September 2008. **Biosurfactant production by *Bacillus subtilis* with enhanced efficiency in heavy oil recovery.** Adviser: Marcos Rogério Tótola. Co-advisers: Antonio Galvão do Nascimento and Luis Henrique Mendes da Silva.

The heavy oil (10 – 20°API) is more than half of world oil reserves, there are predictions that in 2025 are the main source of oil in the world. The difficulties in exploration this kind of oil are associated with unfavorable characteristics such as density and viscosity (100 to 10.000 cP). With the need to improve the utilization of reservoir - in view of the relatively low levels of efficiency of traditional techniques - it has expanded the research to develop new techniques for recovery, especially Microbially Enhanced Oil Recovery (MEOR). In the recovery of oil contained in sand-pack columns, two dimensionless variables are reported as important: the capillary number and ratio of viscosity. As the increases capillary number, the residual oil decreases. This can be achieved by reducing the interfacial tension between the fluid of residual oil. Several authors have reported the tensions interfaciais ultra between biosurfactant and hydrocarbons, including heavy oil. In the present work, tested the hypothesis that the biosurfactant produced on condition of reservoir, by two isolates of *Bacillus subtilis* from the collection of culture of the Laboratório de Biotecnologia e Biodiversidade para o Meio Ambiente (LBBMA / DMB / UFV), are capable to remove heavy oil in sand-pack columns. Initially, the isolates of *Bacillus subtilis* LBBMA 155 and *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* LBBMA 258 were evaluated as to the growth and biosurfactant production in response to temperature and salinity. A central composite rotatable design (CCRD) was used, with temperature and salinity being independent variable. The results were analyzed using Response Surface Methodology (RSM) and showed that the those isolates were able of growth and biosurfactant production of under anaerobic conditions. The growth was influenced by temperature and biosurfactant production was influenced by temperature and salinity. After that, the biosurfactant produced by those isolates, alone or mixed, were analyzed as the ability to remove heavy oil trapped in sand-pack columns. The injection of three volumes of porous extract biosurfactante (EB) produced by *Bacillus subtilis* LBBMA 155 and *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* LBBMA 258 removed 13.55% and 17.42%, respectively, from

residual oil (14 °API). The mixed of extracts from biosurfactant produced by those two isolates showed intermediate values of DMC and recovery of residual oil reported for each. Summarize, the extracts from biosurfactant (EB) produced under anaerobic conditions by *Bacillus subtilis* LBBMA 155 e *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* LBBM 258 are effective in recovery heavy oil nuclei of the sand-pack columns and have potencial for use Microbialy Enhanced Oil Recovery.