

6.6 Comportamento da Permeabilidade

Nos reservatórios onde há dificuldade de produzir o óleo contido na rocha reservatório devido à baixa permeabilidade, e onde essa rocha é carbonática ou contém cimentação carbonática, a técnica de acidificação (assim como a técnica de bioacidificação) busca melhorar o desempenho da produção, utilizando como parâmetro para avaliar seu sucesso a permeabilidade alcançada (melhora da permeabilidade).

Nos ensaios realizados, essa permeabilidade, ou seja, a facilidade com que o óleo ou um fluido pode fluir através da rocha reservatório das amostras estudadas, foi medida através da injeção de fluido (água destilada) nas amostras, realizada em permeômetros e sistemas de controle e medição acoplados, como o da Core Laboratories, descrito na Figura 66. Esses equipamentos se encontram nas instalações da Weatherford Laboratories, em Xerém, Duque de Caxias, RJ, onde os testes foram realizados. A Weatherford realiza serviços para a indústria de petróleo e gás, e conta com amplas instalações para diversos testes e outros serviços, na unidade de Xerém (WEATHERFORD, 2013).

Figura 66 – Exemplo de permeômetro e sistema de controle e medição acoplado, da Core Laboratories



Fonte: CORE LABORATORIES, 2013a.

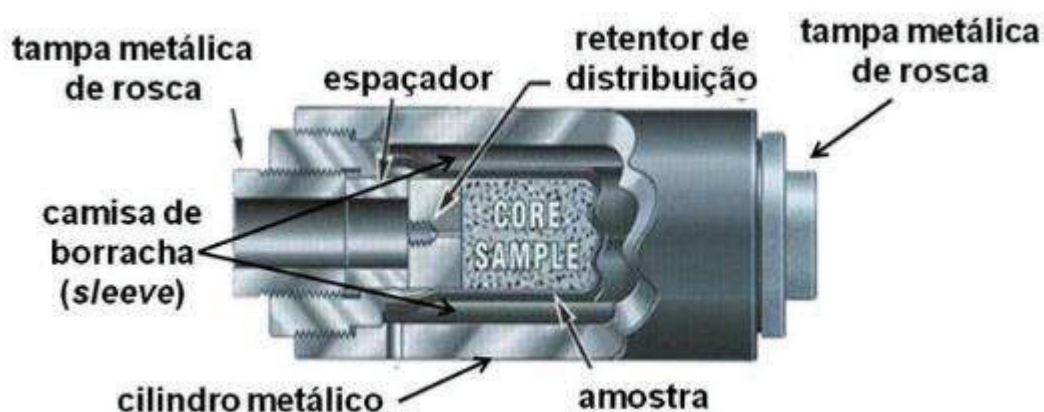
Nesses equipamentos, as amostras são inseridas em cilindros metálicos, onde a pressão de injeção de fluidos é controlada, e a vazão resultante é medida. A pressão de injeção pode ser variada sob condições de vazão constante, até 690 bar, em temperaturas até 150°C. Uma camisa de borracha e retentores nas extremidades asseguram que as amostras fiquem seguras e que o fluido não escape exceto através da amostra em si. Sistemas de controle e medição automatizados, da pressão, temperatura, vazão e tempo, permitem calcular a permeabilidade ao fluido (CORE LABORATORIES, 2013b; CORE LABORATORIES, 2013c). Os componentes do sistema de contenção do permeâmetro podem ser vistos na Figura 67, e uma ilustração do arranjo, quando montado, pode ser visto na Figura 68.

Figura 67 – Sistema de fixação de amostras no cilindro do permeâmetro



Nota: Observar o selamento anelar composto por uma camisa de borracha (*sleeve*).
Fonte: Fotografias do autor.

Figura 68 – Arranjo do sistema de contenção da amostra dentro do permeâmetro



Fonte: Core Laboratories, 2013c.

A medição da permeabilidade está baseada na Lei de Darcy, e pode ser realizada usando a equação de Darcy, que descreve o fluxo de um fluido através de um meio poroso (IGLESIAS, 2009):

$$v = -\frac{k}{\mu} \frac{dp}{dL} \quad (3)$$

Onde, v é a velocidade aparente (cm/seg) do fluxo do fluido através da amostra; k é a constante de proporcionalidade que define a permeabilidade (Darcy); μ é a viscosidade (em centipoise); e dp/dL é a variação da pressão com o deslocamento (atm/cm). Vale lembrar que a equação de Darcy é válida sob certas condições, como fluxo isotérmico, laminar e permanente; fluido incompressível, homogêneo e de viscosidade invariável com a pressão (UFPR, 2008). Apesar de que em se tratando de rochas de reservatórios e seus fluidos essas condições nem sempre são válidas na prática, para efeitos que se trata de demonstrar com os presentes ensaios, a equação de Darcy pode ser utilizada para derivar a permeabilidade das amostras.

Na medição da permeabilidade, o fluxo do fluido (q) é o parâmetro resultante medido pelo sistema; como esse fluxo é definido como sendo o volume de fluido por unidade de tempo (cm^3/seg), basta transformar a equação acima para resolver a permeabilidade (k) em termos de parâmetros conhecidos ou observados no teste:

$$k = -\frac{q\mu}{A} \frac{dL}{dp} \quad (4)$$

Onde q é a vazão de fluido medida pelo sistema; A é a: área da seção por onde ocorre o fluxo (em cm^2), que no caso dos testes é dada pela área da seção da amostra, facilmente medida; μ é a viscosidade do fluido, que no caso dos testes é a água destilada injetada para saturar a rocha das amostras (sua viscosidade é de aproximadamente 1 mPA s); e dL/dp é o inverso da variação da pressão com o deslocamento (cm/atm), facilmente medida pelo sistema, verificando as pressões em cada extremidade do cilindro metálico contendo a amostra (pressão de entrada e saída), assim como o comprimento da amostra. A velocidade de deslocamento do fluido, v , na equação de Darcy, acima, é dada por q/A . Dessa forma, a

permeabilidade de qualquer amostra pode ser calculada, e dada em unidades de Darcy ($1 \times 10^{-12} \text{ m}^2$) ou mili-Darcy (mD).

Na engenharia de reservatórios as permeabilidades relativas de cada fase (água, óleo, gás) possivelmente presente numa rocha assumem um papel importante para entender e lidar com o comportamento das rochas e dos diferentes fluidos presentes, e assim poder adequar as condições de produção para otimizar a produção do fluido desejado, geralmente o óleo. Nos presentes ensaios, não se tratou de observar a permeabilidade relativa de cada fase, pois se buscou observar apenas alguma mudança no comportamento da rocha em relação à permeabilidade de uma fase, sendo essa fase a água, mais facilmente medida.

6.7 Modificações Observadas nas Lâminas Petrográficas das Amostras

O objetivo final da bioacidificação é facilitar a produção de óleo de reservatórios que poderiam ser suscetíveis à técnica. Ainda assim, os efeitos intrínsecos que ocorrem na rocha, especialmente em escala microscópica, são essenciais para entender como a técnica funciona, e poder prever seu desempenho, se aplicada em outros campos e em outras condições.

Portanto, nos presentes ensaios, além de medir a permeabilidade, a principal propriedade que reflete o desempenho da técnica, outros estudos dos possíveis efeitos da técnica também foram realizados.

Apesar de, na prática, em operações no campo, a permeabilidade ser a propriedade considerada determinante do sucesso dessa técnica de MEOR, existem parâmetros intermediários que também podem ser observados e mensurados, como forma de avaliar os efeitos da bioacidificação. Quaisquer mudanças nas propriedades das amostras poderiam fornecer informações sobre os diversos efeitos que ocorreram com a aplicação da bioacidificação na forma empregada. Nos presentes ensaios se buscou obter informações a respeito dos processos operantes, que possam sugerir como essa técnica age e se ela tem potencial para alcançar objetivos intermediários.

Um dos objetivos intermediários que poderia sugerir se a bioacidificação tem potencial como técnica de MEOR é a modificação da estrutura da rocha em escala

microscópica. Esse é um objetivo intermediário, pois se imagina que mudanças na permeabilidade serão resultado dessas modificações. Se essa técnica de MEOR demonstra algum efeito sobre a rocha em si, como alguma dissolução da rocha ou da cimentação, já serão justificados mais estudos, mesmo se os resultados em relação à melhora da permeabilidade não forem positivos.

Por esse motivo é importante estudar as amostras e descrever sua estrutura petrográfica antes e depois dos ensaios, através de observações de lâminas petrográficas em microscópio. As lâminas petrográficas das amostras foram preparadas no LGPA da FGEL/UERJ, em equipamento de polimento próprio (Figura 69).

Figura 69 – Equipamento de polimento de lâminas petrográficas



Nota: Equipamento do Laboratório de Preparação de Amostras (LGPA), da Faculdade de Geologia da UERJ.

Fonte: Fotografias do autor.

As lâminas petrográficas são produzidas utilizando um pequeno pedaço cortado de uma extremidade de cada amostra, portanto a dimensão final de cada amostra usada nos testes de permeabilidade é menor do que a dimensão original da amostra recebida. Depois, esses pedaços são impregnados com resina corante, para facilitar sua visualização, e cortados no tamanho aproximado da lâmina. Esses passos podem ser vistos na Figura 70, onde são mostradas as extremidades cortadas com a resina corante utilizada (ilustração superior); a face de onde são

preparadas as lâminas (ilustração do meio); e o pedaço cortado no tamanho aproximado das lâminas (ilustração inferior).

Figura 70 – Ilustração do processo de preparo das lâminas petrográficas



Legenda: Na ilustração superior: extremidades cortadas com a resina corante utilizada; ilustração do meio: a face de onde são preparadas as lâminas; ilustração inferior: o pedaço cortado no tamanho aproximado das lâminas.

Nota: O preparo é realizado a partir de pequenos pedaços de uma extremidade das amostras, preparadas no LGPA da FGEL/UERJ.

Fonte: Fotografias do autor.

O resultado do preparo das lâminas petrográficas, chamadas lâminas delgadas, pode ser visto na Figura 71, onde cada lâmina preparada foi identificada por amostra de origem (amostra A, B, C ou D), e etapa do teste (pré-tratamento: sem tratamento com consórcio microbiano; ou pós-tratamento: tratamento com tempo de incubação de 10 ou 20 dias).

Figura 71 - Lâminas petrográficas preparadas



Legenda: As lâminas foram identificadas por amostra de origem (A, B, C ou D), e etapa do teste (pré-tratamento: sem tratamento com consórcio microbiano; ou pós-tratamento: tratamento com tempo de incubação de 10 ou 20 dias).

Fonte: Fotografias do autor.

O estudo das lâminas foi realizado nos microscópios das instalações da FGEL, nos equipamentos disponíveis para uso de docentes e discentes. O principal equipamento utilizado foi o microscópio de luz polarizada da Carl Zeiss, modelo Axioskop 40 Pol, equipado com câmara digital acoplada, especialmente indicado para estudo de estruturas minerais cristalinas (Figura 72).

Figura 72 – Microscópio da FGEL/UERJ utilizado para observar as lâminas petrográficas



Legenda: À esquerda: Aparelho da Carl Zeiss, modelo Axioskop 40 Pol, equipado com câmara digital acoplada. À direita: aparelho com lâmina em posição para observação.
Fonte: Fotografias do autor.

O estudo das lâminas petrográficas seguiu as classificações e observações geralmente aplicadas em rochas carbonáticas (LIMA, 2010), mas o autor optou por apresentar as observações em forma de planilha, para melhor comparação entre as amostras analisadas. Essas observações serviram de base para descrever os seguintes principais parâmetros em relação a cada lâmina de amostra analisada: tipo de rocha, seus constituintes, sua estrutura, a descrição dos grãos, a disposição dos grãos, a descrição dos poros, e a descrição da cimentação. Também foram anotadas observações em relação às características que podem estar envolvidas nos efeitos induzidos pela bioacidificação.

Posteriormente, foram comparadas as descrições das lâminas petrográficas obtidas das amostras antes e depois da realização dos ensaios de injeção e incubação com a solução contendo o consórcio microbiano, para fazer um levantamento das mudanças observadas. A análise dessas mudanças complementou a avaliação dos resultados dos testes de permeabilidade.

6.8 Resultados

6.8.1 Permeabilidade

Os resultados dos ensaios realizados pela Weatherford Laboratories foram compilados e relatados em uma planilha. Com base nessas informações detalhadas, foi preparada uma nova planilha com os resultados das medições da permeabilidade, apresentados de forma sintética (Tabela 6).

Tabela 6 – Planilha com resultados dos ensaios realizados pela Weatherford Laboratories

Amostra	Comprim. (cm)	Diâm. (cm)	Peso seco (g)	Volume total (cc)	Volume dos grãos (cc)	Volume dos poros (cc)	Poros. (%)	Densid. dos grãos (gm/cm ³)	Permeabilidade (mD) água		
									dia 0	10 dias a 40°C	20 dias a 40°C
A	5,565	3,787	146,685	61,878	54,681	7,197	11,6	2,683	2,43	0,97	
B	5,465	3,788	143,663	61,113	53,501	7,612	12,5	2,685	1,71		1,46
C	5,230	3,790	136,859	58,099	51,008	7,091	12,2	2,683	5,11	3,39	
D	5,505	3,816	143,247	61,406	53,333	8,073	13,1	2,686	8,60		4,36

Nota: Os dados referentes ao conjunto de amostras da FGEL não foram analisados pois os valores iniciais da permeabilidade das duas amostras supostamente idênticas (7cm de separação vertical entre elas) eram demasiadamente diferentes entre si para permitir uma análise comparativa dos resultados pré- e pós-tratamento.

Fonte: O autor.

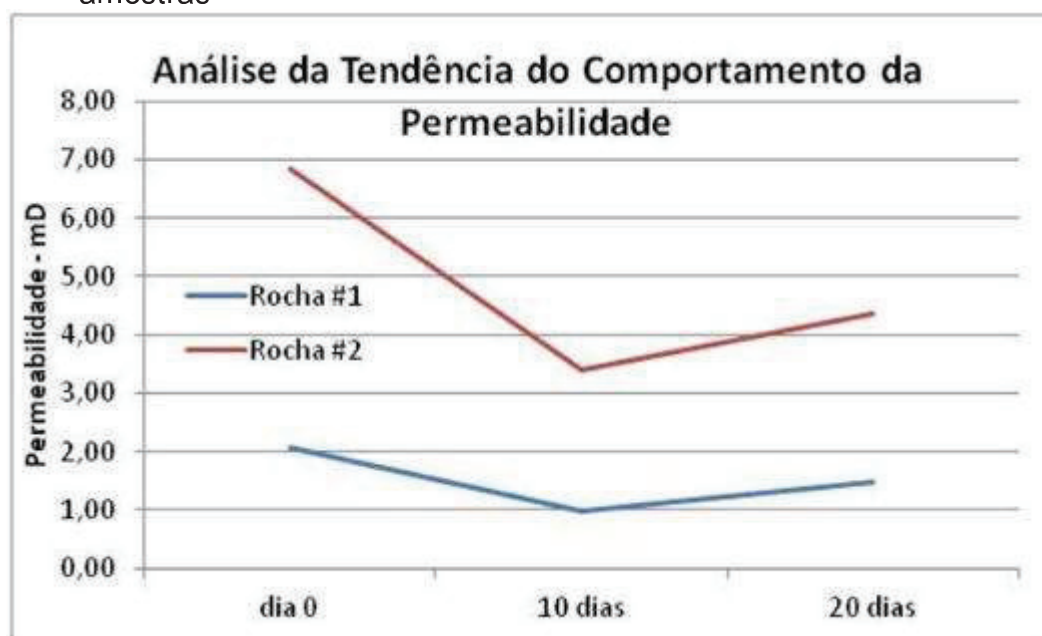
Os resultados dessa planilha mostram que apesar das duas amostras de cada conjunto (rocha #1 e rocha #2) serem da mesma rocha, as medidas da permeabilidade original, que deveriam ser semelhantes, apresentam permeabilidades diferentes, com variação de aproximadamente 18% e 25% em relação à média da permeabilidade para cada rocha. Dessa forma, para efeitos de análise dos resultados, para o valor da permeabilidade inicial foi utilizado o valor da média das permeabilidades das duas amostras de cada conjunto.

Quanto aos resultados dos testes de permeabilidade, foi observado que para todas as amostras houve uma redução significativa da permeabilidade, após 10 dias da injeção e incubação (a 40°C) com a solução contendo o consórcio microbiano. A redução da permeabilidade em relação à média inicial foi de aproximadamente 53% e 51%, para as amostras da rocha #1 (A), e da rocha #2 (C), respectivamente. Como

mencionado anteriormente, é um resultado não totalmente inesperado, já que um dos efeitos do crescimento microbiano é a formação de biofilme e produtos metabólicos. Se o consórcio microbiano conseguiu sobreviver e crescer dentro das amostras, nas condições utilizadas nos testes, é provável que algum biofilme ou produto metabólico tenha se formado. Isso explicaria a redução da permeabilidade, pois o crescimento de um biofilme aderido às paredes da rocha teria o efeito de obstruir os poros e gargantas da rocha das amostras, reduzindo sua permeabilidade.

Os resultados dos testes de permeabilidade após 20 dias da injeção e incubação (a 40°C) com a solução contendo o consórcio microbiano sugerem que houve um aumento da permeabilidade, em relação aos valores após 10 dias. O aumento em relação à permeabilidade aos 10 dias de incubação foi de aproximadamente 52% e 29%, para as amostras da rocha #1 (amostras A e B) e da rocha #2 (amostras C e D), respectivamente, apesar de que os valores não retornaram aos valores iniciais de permeabilidade antes do tratamento microbiano. Isso pode ser visto no gráfico da Figura 73.

Figura 73 – Gráfico ilustrando a tendência de recuperação da permeabilidade das amostras



Nota: Observar a recuperação da permeabilidade das amostras, após 20 dias da injeção e incubação com a suspensão contendo o consórcio microbiano.

Fonte: O autor.

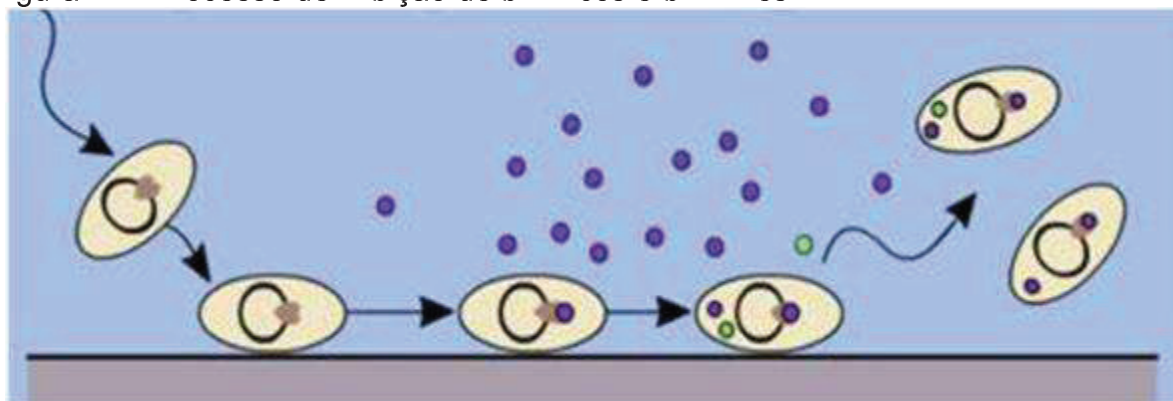
Infelizmente, a medida da permeabilidade após a injeção e incubação com a solução contendo o consórcio microbiano não consegue identificar quais efeitos

ocorreram na rocha, só mede o resultado final dessa permeabilidade. Como na bioacidificação é de se esperar que ocorram processos físicos (a dissolução de minerais por ácidos), ao mesmo tempo que processos biológicos (crescimento de micro-organismos e produção de produtos metabólicos), e como esses processos tendem a operar em direções opostas, em relação às mudanças na permeabilidade resultante, a permeabilidade final apenas pode refletir o resultado do balanço desses dois processos, não o efeito absoluto de cada um.

Ainda assim, apenas utilizando os testes de permeabilidade realizados nas amostras, é possível observar que o aumento da permeabilidade após um período de incubação mais longo deve refletir uma mudança das magnitudes relativas dos dois efeitos opostos operantes, após o primeiro período de incubação. Se a permeabilidade foi reduzida no primeiro período, e se esse resultado foi devido a efeitos biológicos (como o crescimento de biofilme ou formação de produtos metabólicos), no segundo período o aumento da permeabilidade deve ter sido causado por um efeito físico mais notável (dissolução de minerais), ou por uma reversão do efeito biológico.

Vale lembrar que assim como a complexidade dos processos biológicos pode resultar na produção espontânea de bioflocos ou biofilmes, ela também pode resultar na produção de determinados biocompostos que inibem, ou mesmo desfazem bioflocos e biofilmes já formados, mas esses mecanismos de controle e reversão não são completamente compreendidos. A Figura 74 descreve como esse mecanismo pode funcionar para bloquear ou desfazer a formação de bioflocos ou biofilmes, mediante a presença de biocompostos introduzidos artificialmente ou produzidos espontaneamente pelos próprios micro-organismos, sob determinadas condições.

Figura 74 - Processo de inibição de bioflocos e biofilmes



Nota: A inibição de bioflocos e biofilmes ocorre na presença de determinados biocompostos introduzidos artificialmente ou produzidos espontaneamente pelos micro-organismos.
 Fonte: ASK NATURE, 2012.

Também é importante entender que os micro-organismos introduzidos na técnica de bioacidificação, como nos ensaios realizados, representam complexas comunidades microbianas, que podem formar bioflocos ou biofilmes, assim como podem produzir biocompostos que reduzem essas formações. Esses mesmos micro-organismos também podem produzir outros compostos e influenciar as propriedades do óleo nas rochas, por exemplo, portanto não é possível, na prática, restringir a atuação de uma comunidade microbiana a somente um processo, e geralmente muitos processos ocorrem simultaneamente, tanto desejáveis como possivelmente indesejáveis. Para aqueles que estão interessados em utilizar técnicas de MEOR para alcançar objetivos como uma melhora da permeabilidade, resta buscar combinações de micro-organismos e condições de aplicação que resultem em maiores efeitos positivos do que negativos.

6.8.2 Análise de lâminas petrográficas

A análise das lâminas petrográficas foi feita de forma a fornecer uma descrição de vários parâmetros das amostras, apresentados na forma de uma planilha. Os resultados foram apresentados por amostra e etapa do teste (Tabela 9). As descrições e observações se remetem às fotografias das lâminas, incluídas no Apêndice H – Fotografias das Lâminas Petrográficas.

Tabela 9 – Descrição dos diversos parâmetros analisados para as lâminas petrográficas das amostras sem tratamento, e após 10 ou 20 dias de tratamento com consórcio microbiano

Parâmetro	Descrição antes da injeção e incubação	Descrição depois da injeção e incubação
Tipo de rocha	Carbonática (calcarenito).	Carbonática (calcarenito).
Constituintes	Bioclastos, oólitos, peloides, cimentação, outros.	Bioclastos, oólitos, peloides, cimentação, outros.
Estrutura da rocha	Firme, com grãos cimentados e alguma porosidade.	Firme, com grãos cimentados e alguma porosidade.
Descrição dos grãos	Bioclastos, principalmente fragmentos de moluscos(?), com formas alongadas; peloides; oólitos; alguns miliólidos enrolados; algumas feições internas preservadas. A maioria parcialmente dissolvidos e cimentados.	Bioclastos, principalmente fragmentos de moluscos(?), com formas alongadas; peloides; oólitos; alguns miliólidos enrolados; algumas feições internas preservadas. A maioria parcialmente dissolvidos e cimentados.
Disposição dos grãos	Orientação principalmente no plano de acamamento (#1642).	Orientação principalmente no plano de acamamento (#1699).
Descrição dos poros	Porosidade estimada em 10%-15% (#1747).	Porosidade estimada em 10%-15% (#1845).
Descrição da cimentação	Calcita espática (#1646); em menor quantidade, cimentação em franja fibrosa (#1646, #1741); alguma re-cimentação (#1741).	Calcita espática (#1682); em menor quantidade, cimentação em franja fibrosa (#1845); alguma re-cimentação (#1686).
Outras observações	<ol style="list-style-type: none"> 1. Sem crescimento de colônias microbianas (#1982); 2. Interfaces poro-grão e poro-cimentação sem sinais de alterações irregulares (#1960, #1948); 3. Interfaces poro-grão e poro-cimentação sem sinais de dissolução (#1992); 4. Canais de poros sem evidência de dissolução lateral (#2006); 5. Porosidade relativamente concentrada em poucos poros, bem definidos (#1646); 6. Sem evidência de superfícies marcadas por ranhuras de dissolução (#1948). 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Forte crescimento de colônias microbianas é evidente (#1965); 2. Crescimento microbiano concentrado nas interfaces poro-grão e poro-cimentação (#1936); 3. Interfaces poro-grão e poro-cimentação com sinais de dissolução propagada a partir das regiões com crescimento microbiano (#1973); 4. Canais de poros com evidência de dissolução lateral (#1944); 5. Porosidade relativamente dispersa - muitos (micro) poros, pouco definidos (#1659, #1761); 6. Ampla evidência de superfícies fortemente marcadas por ranhuras de dissolução (#1902, #1954).

NB: fotografias citadas constam do Anexo VIII – Fotografias das Lâminas Petrográficas.

Fonte: O autor.

Os resultados da comparação entre as lâminas petrográficas das amostras de cada rocha, antes e depois da injeção e incubação com a solução contendo o consórcio microbiano, foram estudados com especial atenção para quaisquer modificações que sugerissem que houve alguma dissolução de minerais. Evidentemente, conforme acontecem mudanças na permeabilidade das amostras, ocorreram efeitos que reduziram a permeabilidade, mas evidências de que também ocorreu algum efeito positivo são muito importantes, para não descartar o potencial da bioacidificação como técnica de MEOR, pois estaria comprovado que pelo menos objetivos intermediários foram alcançados, restando focar esforços futuros no sentido de resolver ou mitigar os demais efeitos deletérios.

7 DISCUSSÃO

7.1 MEOR Pode Melhorar o Fator de Recuperação ou Trazer Outros Benefícios à Indústria do Petróleo?

O principal objetivo desta tese era mostrar que tanto em acumulações convencionais de hidrocarbonetos (recursos convencionais), quanto nas acumulações não convencionais e métodos não convencionais de produção de hidrocarbonetos (recursos não convencionais), a aplicação de técnicas derivadas, ou mesmo diretamente copiadas dos processos microbiológicos que ocorrem na natureza, podem proporcionar grandes vantagens para aqueles que exploram esses recursos.

Ao longo dos inúmeros estudos analisados, sobre diferentes experiências com MEOR, envolvendo diferentes processos e mecanismos, ficou claro que essas técnicas apresentam um longo e farto histórico de experiências com bastante sucesso. Esse histórico aqui levantado respalda amplamente o objetivo de mostrar o potencial de MEOR para trazer benefícios concretos à indústria do petróleo e gás.

7.2 Quais Técnicas de MEOR São Mais Adequadas à Realidade Brasileira?

Um objetivo mais específico desta tese foi identificar as técnicas de MEOR que poderiam ser consideradas mais adequadas à realidade brasileira e às suas principais áreas com recursos petrolíferos e energéticos. Para tanto, foram levadas em conta principalmente as características geológicas, mas também geográficas, econômicas e de infraestrutura, das principais áreas com esses recursos, no Brasil.

A ampla e complexa gama de processos físicos, químicos e biológicos, e dos diferentes efeitos inter-relacionados, envolvidos nos processos que ocorrem nos reservatórios de petróleo e gás, além daqueles que atuam nas instalações que

fazem parte do conjunto produtivo, tornou esse objetivo um trabalho desafiador. Ainda assim, foi possível relacionar algumas condições, bacias, e recursos em que possa haver maior potencial para a aplicação de determinadas técnicas de MEOR.

Com base nas especificidades de alguns dos principais reservatórios brasileiros, e na compreensão dos diversos tipos de técnicas de MEOR, assim como dos tipos de problemas que elas podem ajudar a resolver, são propostas técnicas de MEOR cujo benefício potencial é avaliado como sendo maior nesses casos. Não se tem conhecimento, na literatura, de uma avaliação desse tipo para os principais reservatórios brasileiros.

7.2.1 Foco em Bacias Relativamente Maduras

Diversas bacias sedimentares no Brasil têm condições que poderiam ser favoráveis à utilização de técnicas de MEOR, com base em seu potencial de recuperação de recursos que não puderam ser recuperados até o momento, com as técnicas de exploração empregadas, mesmo sendo algumas delas métodos de EOR relativamente avançados. Esse é o caso, por exemplo, das bacias continentais terrestres Potiguar, de Sergipe-Alagoas, e do Recôncavo, cujo estágio exploratório pode ser considerado maduro. Elas contêm campos maduros, e até exauridos, que ainda retêm significativas quantidades de óleo, pois o fator de recuperação atingido, em muitos casos, é baixo. Segundo ZALÁN (2013), essas bacias:

...já cumpriram o seu papel de bacias-escola para o aprendizado exploratório da Petrobras e de bacias pioneiras que sustentaram a produção nacional de óleo e gás nas quatro primeiras décadas de existência da companhia. Atualmente, todas podem ser consideradas como bacias maduras ou super-maduras, com a maior parte de seu potencial petrolífero esgotado no que concerne ao interesse de grandes companhias de petróleo. Logicamente, elas se prestam ainda a recuperações secundárias e terciárias de campos maduros e, eventualmente, pequenas descobertas de acumulações que passaram despercebidas pelo rigoroso crivo exploratório da Petrobras.

Hoje, podemos acrescentar que esse interesse parte não somente da Petrobras, mas de diversos outros *players* da indústria do petróleo, como foi evidenciado pelo interesse e pela participação de muitas empresas, além da Petrobras, tanto de pequeno como de médio porte, e com forte preponderância de empresas de capital brasileiro, nos blocos exploratórios oferecidos na 12ª Rodada de Licitações da ANP, em fins de 2013. Além da Petrobras, sete empresas brasileiras arremataram blocos nessa rodada, assim como quatro empresas estrangeiras (ANP, 2013d).

Como sugere Zalán, essas bacias devem servir como “bacias-piloto” e “bacias-escola” para que novos e pequenos *players* da indústria do petróleo passem a atuar onde a Petrobras e outras grandes empresas já não têm interesse, devido às reduzidas oportunidades de encontrar ou produzir reservas significativas. Nesse sentido, são justamente essas empresas que poderão fazer uso das novas técnicas de MEOR, que têm o potencial de liberar recursos até agora sem possibilidade de serem extraídos. Mesmo que esses volumes sejam relativamente pequenos, e que possam apenas viabilizar novas reservas da ordem de centenas de milhares de barris, ou que possam resultar em nova produção de até poucos milhares de barris de óleo por dia, valores insignificantes para as *majors* da indústria do petróleo, isso poderia resultar em novas empresas, novos empregos, e novo desenvolvimento regional de grande importância social e estratégica. Ou seja, poderiam ser a semente de uma nova indústria “genuinamente nacional, muito mais ampla e diversificada que a atual.” (ZALÁN, 2013).

Certamente, as técnicas de MEOR poderão ser o caminho mais promissor para permitir e estimular a entrada de novos *players* na indústria nacional do petróleo, já que essas técnicas podem ser empregadas por empresas de até pequeno e médio porte, e geralmente não envolvem investimentos intensivos em capital. Além de criar um novo segmento na indústria nacional do petróleo, com empresas de capital nacional, alcançar essa nova realidade representaria o atingimento de um antigo sonho nacional, uma vez que, mesmo após anos de políticas da ANP supostamente direcionadas para estimular o crescimento de novas, pequenas e independentes empresas brasileiras, isso ainda não ocorreu efetivamente, como atesta a absoluta dominância atual da Petrobras, em todos os sentidos, e a ausência de um número significativo de empresas independentes, na indústria nacional do petróleo.

Essa possibilidade deveria estimular o empreendedorismo a uma maior participação nessas iniciativas como formas de negócios com rentabilidade atrativa. Infelizmente, o conservadorismo da indústria do petróleo, evidenciado pela lenta adoção das técnicas de MEOR, mesmo as mais consagradas, sugere e justifica a adoção de políticas industriais e energéticas que favoreçam a utilização dessas técnicas, especialmente aquelas empregadas em bacias maduras, de importância estratégica para o país. Uma forma direta desse tipo de incentivo seria um maior empenho da ANP no sentido de apoiar pesquisas relativas às técnicas de MEOR citadas aqui como merecendo estudos aprofundados. Outra forma seria a criação de incentivos fiscais, financeiros e regulatórios, buscando favorecer e estimular as empresas que empregam as tecnologias de MEOR para a recuperação avançada de recursos energéticos no Brasil, especialmente aquelas tecnologias mencionadas acima, como sendo tecnicamente mais consolidadas, já que envolveriam menores riscos, compatíveis com as acumulações de recursos remanescentes, e com o perfil dessas empresas.

7.2.2 Técnicas Voltadas para Recursos Não Convencionais

Como visto na seção 5.6.1 (Folhelhos Betuminosos), do Capítulo 5, o Brasil dispõe de significativos recursos não convencionais, espalhados por várias regiões e bacias sedimentares. A operação do processo Petrosix, da Petrobras, em São Mateus do Sul, Paraná, que funciona há anos com bons resultados, porém com significativos impactos ambientais, representa uma importante base de conhecimento acumulado sobre esses recursos, e sobre seu comportamento durante os processos de transformação realizados, apesar de que se trata basicamente de um processo térmico.

Dada essa situação, seria importante realizar estudos para determinar a eficácia de técnicas de MEOR voltadas para a transformação desses mesmos recursos *in situ*, através de processos microbiológicos análogos às técnicas de MEOR de gaseificação de óleo ou carvão, em produtos semelhantes aos que são atualmente produzidos pelo processo Petrosix. Se esses estudos resultarem em avanços tecnológicos que permitam a aplicação dessas técnicas nos folhelhos

betuminosos da Fm. Irati, ou em recursos semelhantes, grandes vantagens econômicas, ambientais e estratégicas poderiam resultar. É muito provável que qualquer processo microbiológico que pudesse ser levado a cabo através da injeção ou aspersão de soluções microbianas *in situ*, com um período de incubação suficientemente longo para permitir que os processos microbiológicos realizem as transformações necessárias, teria um impacto ambiental muito mais reduzido do que o do processo atual.

Resultados positivos também poderiam abrir a perspectiva de monetização de recursos semelhantes, espalhados em outras regiões, onde atualmente não é viável seu aproveitamento por nenhum processo conhecido. Essa inviabilidade se deve, em grande parte, aos fortes impactos ambientais associados aos métodos produtivos conhecidos, porém com uma redução desses impactos, é fácil imaginar que grandes oportunidades surgiriam para produzir produtos combustíveis a partir desses recursos, tanto nas instalações atuais, como em novas regiões. Isso permitiria grandes ganhos em produção adicional de metano e outros produtos combustíveis. Como visto nas seções 4.3.9 (Gaseificação de Óleo *in situ*) e 4.3.10 (Gaseificação de Carvão *in situ*), do Capítulo 4, os estudos sobre essas técnicas de MEOR já demonstraram a possibilidade de se obter esses produtos, a partir de recursos como óleo pesado ou carvão.

7.3 Quais Técnicas de MEOR Merecem Mais Estudos?

Dado o estudo das técnicas de MEOR descritas na literatura, e de algumas que foram estudadas em projetos e aplicações em campo, também são propostas técnicas avaliadas como sendo mais promissoras em futuras aplicações. É justamente nessas técnicas que se propõe que sejam empenhados os maiores esforços no seu estudo e aplicação. Esse direcionamento representa uma contribuição concreta para a P&D na área de MEOR, ajudando a focar recursos em técnicas mais promissoras.

Também é apresentada uma recomendação voltada para políticas industriais que favoreçam a utilização de técnicas de MEOR em determinadas bacias, como parte de um esforço para desenvolver um novo segmento da indústria nacional de

petróleo, com maior participação de pequenas e médias empresas genuinamente nacionais, justamente em regiões onde a geração de emprego e renda seria bem-vinda como forma de diversificar a atual concentração geográfica e o domínio de grandes empresas, que existe na indústria do petróleo atualmente.

7.3.1 Foco em Técnicas Relativamente Consolidadas

7.3.1.1 Produção Microbiana de Biopolímeros

As muitas experiências relativas à produção de biopolímeros, descritas na literatura, assim como aquelas em que o autor participou, sugerem que essa é uma tecnologia cujas técnicas estão bastante bem dominadas, tanto o ponto de vista de sua produção, como de sua aplicação.

Em relação à aplicação das técnicas envolvendo o uso de biopolímeros, o avançado estágio desses métodos de EOR, conforme visto na seção 2.5.3.2 (Polímeros) do Capítulo 2, sugere que o uso de biopolímeros não exigiria maiores modificações nos métodos de EOR empregados. Trata-se de uma técnica de MEOR, devido ao fato que há uma substituição de produtos semelhantes: em EOR, originados por processos produtivos convencionais (químicos); e em MEOR, por processos produtivos realizados microbiologicamente, em instalações próprias.

A principal área de novos esforços que poderiam ser realizados em relação às técnicas de MEOR é a otimização do desempenho da fase de produção desses biopolímeros, pois quanto maior a eficiência desses processos, geralmente realizados *ex situ*, mais vantagens se espera obter no custo dos produtos utilizados, e conseqüentemente no desempenho da técnica de estimulação utilizada.

A busca pela otimização da produção dos biopolímeros tem atraído a atenção de pesquisadores de MEOR, e foi, justamente, o objetivo dos trabalhos desenvolvidos e descritos na seção 4.2.3 (Produção Microbiana de Xantana para Aplicações em MEOR) do Capítulo 4.

7.3.1.2 Produção Microbiana de Biossurfatantes

Da mesma forma que ocorre com os métodos de EOR envolvendo o uso de polímeros, os métodos de EOR envolvendo o uso de surfatantes também está bastante avançado, conforme visto na seção 2.5.3.1 (Surfatantes) do Capítulo 2. Os processos que ocorrem nos reservatórios, em escala microscópica, quando surfatantes interagem com a rocha e o óleo, são bastante mais complexos e ainda não são completamente compreendidos. Mas está claro que os métodos de EOR que empregam surfatantes também estão relativamente consolidados, e os resultados são relativamente previsíveis.

Além das aplicações envolvendo a injeção de soluções microbianas para a produção de biopolímeros *in situ*, os biopolímeros também podem ser produzidos *ex situ*, em instalações próprias, por processos microbiológicos, e depois utilizados como em métodos convencionais de EOR envolvendo surfatantes. Nesse caso, o uso de biossurfatantes tampouco exigiria maiores modificações nas técnicas empregadas. Essa alternativa é mais atrativa para as operadoras de campos em que se pretende aplicar as técnicas de MEOR, pois ela segue de perto a experiência adquirida e consolidada na aplicação de métodos de EOR envolvendo a injeção de surfatantes. Trata-se apenas da substituição de produtos semelhantes, originados por diferentes processos produtivos. Por serem produzidos microbiologicamente, o uso de biossurfatantes representa uma técnica de MEOR, e seu domínio atual favorece sua maior utilização.

Aqui também, se propõe que a principal área de novos esforços que poderiam ser realizados em relação a essas técnicas de MEOR (Produção Microbiana de Biossurfatantes) é a otimização do desempenho da fase de produção desses biopolímeros.

Nos trabalhos desenvolvidos e descritos na seção 4.2.2 (Produção Microbiana de Biossurfatantes para Aplicações em MEOR) do Capítulo 4, esse também foi um dos focos das pesquisas atuais.

O grande desafio para essas técnicas de MEOR, como para as que envolvem o uso de biopolímeros, ainda é sua maior aceitação e utilização pela indústria do petróleo, como ferramentas usuais, e aqui também, uma maior utilização traria ganhos no seu desempenho.

7.3.1.3 Exclusão Biocompetitiva de BRS

Com um objetivo muito focado, o do controle da corrosão, mas com muitas vertentes de possíveis aplicações, a exclusão biocompetitiva de BRS é uma técnica de MEOR que atraiu consideráveis esforços de P&D para tornar essa ferramenta mais eficaz e previsível (VIK et al., 2007; DINNING et al., 2005). Diversas empresas têm focado essa técnica como base para desenvolver negócios, inclusive algumas com que o autor tem tido contato sobre possíveis negócios baseados nessas técnicas no Brasil, como a Aquateam AS (Noruega).

Dado o valor dos danos causados pela corrosão na indústria do petróleo, técnicas de MEOR que possam reduzir essas perdas são de grande interesse. Também, dado o avançado estágio do conhecimento em relação aos processos envolvidos na corrosão, objeto de estudos há muito tempo, independentemente do estudo das técnicas de MEOR, é possível concluir que há bastante espaço na indústria do petróleo para aplicações de técnicas de MEOR voltadas para o controle da biocorrusão. Isso é especialmente verdade para aquelas técnicas de MEOR, como a TEB, que empregam determinados micro-organismos para impedir a MIC e outros processos corrosivos em geral, como visto na seção 4.3.3.3 (Exclusão Biocompetitiva de BRS) do Capítulo 4.

As técnicas de MEOR para o controle da corrosão que envolvem o uso de compostos de nitrato como agente para estimular comunidades microbianas benéficas e inibir as prejudiciais, ainda estão cercadas por problemas referentes à própria corrosão que o uso desses compostos químicos pode causar. Dessa forma, as outras vertentes das técnicas de MEOR para o controle da corrosão que apresentam grande potencial são aquelas voltadas para desenvolver formas mais eficazes de permitir que a ação microbiana desejável ocorra, além daquelas que buscam novos micro-organismos que inibem a ação dos micro-organismos problemáticos. Dentre os esforços nesse sentido, está justamente o da seção 4.2.1 (Exclusão Biocompetitiva de BRS) do Capítulo 4, onde o trabalho preparado para publicação apresenta uma inovadora forma de alavancar o efeito dos inibidores da corrosão, e da atividade microbiana desejável, através do emprego de matrizes poliméricas complexantes. Isso permitiu que técnicas de TEB se tornassem mais

eficazes, ajudando a transformar essas técnicas de MEOR em alternativas mais viáveis.

Considerando que, como em outras técnicas de MEOR, mesmo aquelas mais consolidadas, a grande dificuldade enfrentada é sua relativa pouca utilização, estudos que trazem mais confiança em seus resultados, e apontam para uma maior eficácia, são importantes para reverter esse quadro. Ainda assim, as experiências com as técnicas de MEOR para o controle da biocorrusão, especialmente as técnicas de TEB, já têm apresentado resultados muito positivos, configurando essas técnicas como relativamente consolidadas. Falta apenas que a indústria do petróleo se empenhe em tirar maior proveito de seu potencial.

7.3.2 Foco em Técnicas Pouco Estudadas

Os estudos das técnicas de MEOR descritas na literatura, inclusive de algumas especificamente estudadas nos ensaios realizados nesta tese, permitem sugerir técnicas de MEOR cuja compreensão e estágio de maturidade tecnológica estão menos desenvolvidos, mas que ainda assim apresentam grande potencial. Também nessas técnicas se propõe que sejam empenhados mais esforços em P&D, pois se esses esforços resultarem em ganhos de desempenho, grandes vantagens poderiam ser criadas.

7.3.2.1 Gaseificação de Carvão *in situ*

No Brasil, grande parte dos recursos de carvão é considerada de baixa qualidade: ou pelo seu teor elevado de cinzas; ou pela sua disposição nas jazidas, em forma de camadas finas que dificultam sua extração; ou por terem baixo valor energético (ZANCAN, 2007). No mundo, uma das alternativas para o aproveitamento do valor energético do carvão, sem realizar operações de mineração, seja a céu aberto (que envolve grandes impactos ambientais), ou em minas subterrâneas (com custos elevados e problemas de segurança), é a gaseificação subterrânea de carvão

(UCG - *underground coal gaseification*), geralmente realizada *in situ*, com queima controlada.

Mas as técnicas de MEOR voltadas para a gaseificação de carvão *in situ* também representam uma alternativa interessante, em relação a sua mineração convencional. Mesmo se essas técnicas somente puderem disponibilizar um valor energético menor do que o que poderia ser produzido de jazidas de carvão com processos de mineração convencional, a possibilidade de transformar o processo de mineração e transporte de um recurso “sujo”, em um processo envolvendo o manuseio de um gás, representa vantagens operacionais e ambientais importantes.

Essas vantagens adicionais podem ajudar a impulsionar o desenvolvimento das técnicas de MEOR envolvendo a gaseificação de carvão *in situ*: o fato que o gás natural representa um recurso energético muito mais limpo que o carvão é uma vantagem importante. Ela pode se tornar ainda mais significativa nos casos em que preocupações ambientais venham a onerar o aproveitamento de recursos fósseis, com base em impostos ou outros custos sobre o carbono de suas emissões. Como o carvão é geralmente extraído através de técnicas de mineração a céu aberto ou em minas subterrâneas que despejam rejeitos na superfície, essas operações são geralmente muito mais impactantes ao meio ambiente do que a pegada ambiental de possíveis instalações para a injeção de micro-organismos e/ou nutrientes, e a produção de gás.

Dado o potencial dos recursos representados por jazidas de carvão no Brasil; sua dificuldade de aproveitamento; sua economicidade marginal; os problemas ambientais associados à sua extração, e ao seu transporte e consumo; e o potencial das técnicas atuais de gaseificação de carvão, Zancan (2007) sugere que essas tecnologias sejam desenvolvidas pela indústria nacional, para transformar recursos em reservas, com uma vantagem competitiva no mundo. Com o embasamento apresentado sobre a possibilidade de desenvolvimento de técnicas de MEOR voltadas para a gaseificação de carvão *in situ*, essa recomendação parece ainda mais oportuna, especialmente se essas técnicas de MEOR forem mais estudadas, visando aplicações comerciais.

7.3.2.2 Dissociação Microbiana de Hidratos de Gás

Diante do enorme volume dos recursos energéticos representados pelos hidratos de gás (FISK, COLLETT, CLOUGH, 2004), e do atual estágio incipiente das técnicas de produção de metano a partir desses recursos, técnicas que possam facilitar, pelo menos em alguns casos, a dissociação dos hidratos de gás, liberando o metano contido, se apresentam como interessantes alternativas aos métodos tidos atualmente como mais promissores para sua produção, como a desestabilização dos hidratos por aquecimento ou descompressão, injeção de metanol, e substituição de metano por CO₂ nos hidratos (JONES, 2009b).

Em contato pessoal com Dr. Mark Delwiche, do Departamento de Biological Sciences, do Idaho National Laboratory, nos EUA, em 29 de janeiro de 2009, ele informou que suas pesquisas apontam para “um provável avanço significativo na compreensão dos processos realizados pelos micro-organismos que vivem em contato com acumulações de hidratos de gás em regiões proximais das plataformas continentais [onde se encontra grande parte dos recursos de hidratos de gás no mundo], dos mecanismos de controle da ESTABILIDADE em que esses micro-organismos estão envolvidos, e dos fluxos de carbono das camadas da subsuperfície, mediados microbiologicamente.” Essa compreensão deve eventualmente permitir empregar micro-organismos para desestabilizar os hidratos, criando, assim, novas técnicas de MEOR para a produção de metano a partir de hidratos de gás.

Ainda em 2009, em contato pessoal com Dr. Fred Wright, do Geological Survey of Canada, ele já dizia que havia o “potencial para utilizar comunidades microbianas que convertem o metano em CO₂ para possivelmente permitir a desestabilização controlada dos hidratos de metano”. Outros pesquisadores (Dr. P. R. Bishnoi, University of Calgary, e outros) também sugeriram essa possibilidade, já que o micro-organismo *Acidimethylosilex fumarolicum* SolV cresce em condições anóxicas, apenas com metano como fonte de energia, até em pH de 0,8 (POL, 2007). Yan et al. (2006) encontraram uma grande diversidade de genes funcionais que codificam a capacidade de converter o metano nos micro-organismos metanotróficos, em sedimentos associados aos depósitos de hidratos de gás no Golfo do México. Esse poderá ser uma fonte para buscar e aplicar os elementos

genéticos que possivelmente abrirão novas perspectivas de processos microbiológicos para a dissociação de hidratos de gás.

Como as formações de hidratos de gás que poderiam ser produzidas se encontram em profundidades e temperaturas amenas à atividade microbiana, essas técnicas não deveriam enfrentar obstáculos intransponíveis para sua aplicação, faltando mais estudos para um melhor entendimento dos processos envolvidos e das melhores formas de aplicação e controle.

Dessa forma, uma das mais importantes técnicas de MEOR, em relação ao potencial de aproveitamento energético dos hidratos de gás, seria a técnica de dissociação microbiana de hidratos de gás. Infelizmente, até o momento, não há registro de pesquisas adiantadas feitas com esta técnica. A única iniciativa conhecida a respeito é do próprio autor, que fez estudos preliminares que apontaram o possível impacto dessas técnicas (JONES, 2009b).

7.3.2.3 Bioacidificação

A bioacidificação, uma técnica relativamente nova, é apontada como promissora para ser aplicada em certos reservatórios brasileiros, e mais esforços são sugeridos para que seu verdadeiro potencial possa ser avaliado. Os resultados dos ensaios realizados com amostras de rochas de reservatórios carbonáticos, e com amostras de rochas de reservatórios areníticos com cimentação carbonática, foram inconclusivos em relação à eficácia dessa técnica.

Inicialmente, os resultados apontaram para uma redução da permeabilidade, o oposto do resultado desejado, provavelmente induzida pelo efeito de entupimento pelo crescimento de biofilmes e bioflocos microbianos, observados nos poros das rochas tratadas (nas lâminas petrográficas). Posteriormente, porém, com maior tempo de incubação da solução microbiana injetada, os resultados demonstraram uma significativa melhora da permeabilidade.

Esses resultados demonstram que a técnica de bioacidificação realmente induziu mudanças na permeabilidade das amostras, mas como os efeitos positivos não puderam ser observados por mais tempo, para ver até onde chegariam, seria importante realizar novos ensaios nesse sentido. Como o maior tempo de incubação

testado foi de apenas vinte dias, resta saber se um tempo de incubação ainda maior seria suficiente para reverter a redução inicial da permeabilidade, e obter resultados positivos. Esses tempos de tratamento ainda são relativamente curtos, em relação à duração de intervenções comuns em poços de petróleo, portanto tratamentos com essa técnica, mas com duração maior, não seriam necessariamente inviáveis.

Evidências de que também ocorreu algum efeito positivo com a aplicação da técnica de bioacidificação são muito importantes, pois demonstram que essa técnica não deve ser descartada sem maiores estudos para comprovar seu verdadeiro potencial.

Também fica claro que se os fatores que levaram à redução inicial da permeabilidade puderem ser controlados, revertidos, ou compensados, essa técnica de MEOR tem o potencial de ter grande aplicabilidade nos campos petrolíferos brasileiros, em que as rochas reservatório ou são carbonáticas ou têm alguma cimentação carbonática que restringe sua produção. Essas condições são amplamente difundidas nas bacias petrolíferas brasileiras, portanto mais esforços para buscar entender melhor os mecanismos operantes dessa técnica são fortemente indicados.

Com os ensaios realizados, a técnica de bioacidificação apresenta resultados que sugerem que deva ser mais estudada, para constatar se a tendência de recuperação da permeabilidade representa um efeito que pode continuar, dado mais tempo de incubação ou modificação em outros parâmetros. Nesse caso, a técnica se tornaria uma alternativa atrativa.

Dessa forma, uma importante sugestão para novos ensaios seria a realização das medições da permeabilidade após o tratamento, em prazos (tempos de incubação) não somente de 10 e 20 dias, mas também de 30, 45 e até de 60 dias. Esses prazos ainda são compatíveis com a realidade de diversos métodos de EOR, e como envolvem apenas a incubação por mais tempo, sem esforços ou despesas significativas adicionais, podem se justificar, caso os resultados venham a ser mais positivos nesses prazos.

De todas formas, face à grande variabilidade dos parâmetros, observada nas amostras antes e mesmo depois dos ensaios, futuros ensaios devem considerar a utilização de um número muito maior de amostras de cada tipo de rocha. Isso permitiria testar mais períodos de incubação, e também obter valores probabilísticos das medições da permeabilidade, utilizando conjuntos de pelo menos dez amostras

para cada medição, por exemplo, o que permita analisar melhor o comportamento dos parâmetros estudados e obter resultados com maior confiabilidade.

Como as rochas carbonáticas têm grande variabilidade de comportamento em relação à permeabilidade, e também em relação à interação com o tipo de óleo encontrado nesses reservatórios, eventualmente seria interessante realizar ensaios com rochas (testemunhos) de diferentes campos petrolíferos.

Na acidificação, os processos realizados pelos micro-organismos introduzidos são lentos e sutis, pois não se espera uma drástica modificação do pH dos fluidos. Por outro lado, o objetivo que se deseja alcançar não é uma mudança em si no pH dos fluidos na rocha, mas uma mudança física da rocha que permita que o óleo possa ser produzido com mais facilidade. Ainda assim, por se tratar de uma técnica de acidificação, outra sugestão para próximos ensaios é medir o pH da solução contendo o consórcio microbiano antes e depois da incubação. Já que mesmo pequenas modificações no pH, agindo durante o período relativamente longo de incubação, poderiam ser eficazes na dissolução de pelo menos uma pequena parte da rocha, medir o pH da solução poderia fornecer uma indicação, pelo menos, de quão significativa é essa mudança de pH (acidificação).

Finalmente, como as modificações ocorridas nas amostras das rochas testadas ocorreram em escala microscópica, e como a observação das lâminas petrográficas com o microscópio utilizado ainda apresentou bastante dificuldade de estabelecer claramente as modificações ocorridas, futuros ensaios devem considerar duas novas estratégias. A primeira é a utilização de um microscópio com maior poder de resolução, como um microscópio eletrônico de varredura, para a observação mais precisa das possíveis modificações nos poros e na cristalização da cimentação, já que sua resolução é muito maior do que a de um microscópio ótico. A segunda é a utilização de um equipamento de ressonância nuclear magnética, próprio para a análise de rochas, para realizar observações da estrutura tridimensional dos poros das amostras antes e depois do tratamento, já que esse equipamento permite a investigação em uma escala muito menor do que a de um microscópio ótico.

7.3.2.4 Bioconversão de CO₂ *in situ*

Com base no forte e crescente interesse na mitigação dos efeitos dos gases de efeito estufa, quaisquer técnicas de MEOR que possam ajudar nesse esforço se tornam atrativas para a indústria do petróleo, uma das mais visadas em relação a esse tema. Infelizmente, apesar do grande potencial das técnicas de MEOR voltadas para a bioconversão de CO₂ em metano, duplamente vantajosas, tanto do ponto de vista de aproveitamento energético, como do ponto de vista de mitigação de gases de efeito estufa, essas técnicas ainda estão relativamente longe de poderem ser aplicadas comercialmente.

Os mecanismos químicos e biológicos das rotas mais comuns dessa conversão são relativamente conhecidos, mas questões como a escolha dos micro-organismos mais eficazes, o controle de sua atividade e das condições de aplicação e de monitoramento, e do real desempenho obtido nessas aplicações, ainda precisam maiores estudos para poderem fornecer maior controle, desempenho e previsibilidade a essas técnicas.

Ainda assim, a indústria do petróleo se encontra fortemente pressionada a desenvolver técnicas que possam trazer benefícios ambientais, para compensar sua grande pegada ambiental, especialmente no que tange as emissões de CO₂. Dessa forma, seria muito importante para essa indústria, mais do que para qualquer outra, desenvolver tais técnicas, buscando benefícios ambientais e produção energética.

O valor da possível produção energética dessas técnicas de conversão de CO₂ está relacionado ao metano e outros hidrocarbonetos provenientes das reações de conversão de CO₂ atualmente conhecidas e estudadas. Mesmo que essas técnicas eventualmente permitam uma produção significativa de gases energéticos a partir da bioconversão de CO₂, esse valor energético deve ser avaliado numa perspectiva que considera o valor atual da produção total de petróleo e gás dessa indústria, o que relativiza esse possível benefício.

Dadas as pressões da opinião pública a que está sujeita, esse objetivo (produção energética) provavelmente terá menor peso para a indústria do petróleo, do que os possíveis benefícios ambientais decorrentes desses processos (mitigação de gases de efeito estufa).

7.4 Introdução de MEOR como Parte do *toolbox* da Indústria de Petróleo

O objetivo de tornar mais frequente a adoção das técnicas de MEOR, e de fazer com que alcancem um amplo reconhecimento do seu potencial, por parte da indústria do petróleo, evidentemente ainda não foi alcançado, especialmente no Brasil, onde as experiências com MEOR ainda são incipientes.

A favor desse objetivo, além do histórico positivo de MEOR, há o apelo de uma tecnologia cujo fundamento é a microbiologia, hoje entendida como fonte dos maiores ensinamentos que a natureza pode oferecer ao homem. Se, apesar desses fatores, MEOR ainda não está completamente inserida como parte das ferramentas padrão da indústria do petróleo, isso se deve, provavelmente, à complexidade e dificuldade de desvendar os mecanismos operantes, e conseguir controlar satisfatoriamente os respectivos processos. A indústria do petróleo está acostumada a poder contar com ferramentas aplicáveis à exploração e produção desse recurso, que apresentam um elevado grau de previsibilidade. Os métodos de EOR utilizados pela indústria estão basicamente fundados em processos físicos e químicos bem compreendidos, e com técnicas de controle e previsão bem desenvolvidas. Quando operadores decidem optar por utilizar técnicas de MEOR, mesmo se baseadas em processos semelhantes aos de EOR, eles enfrentam um desconforto em relação à experiência com os métodos de EOR. Em MEOR, existe muito mais complexidade, menos conhecimento, e maior dificuldade de domínio absoluto dos mecanismos operantes.

Com base nos estudos levantados, que demonstram sucessos em diversos tipos de aplicações, há embasamento suficiente para sugerir que as técnicas de MEOR devem ser efetivamente introduzidas como parte integrante do *toolbox* das empresas que atuam na indústria de petróleo e gás. Os estudos adicionais propostos acima, para certas técnicas de MEOR que merecem ser mais estudadas, poderão ajudar a dissipar alguma resistência institucional em relação a MEOR, trazendo mais conhecimentos e aperfeiçoamento dessas técnicas, de seus mecanismos operantes, e dos métodos de controle e monitoramento de seu desempenho.

Essa inserção, utilizando os conceitos de MEOR discutidos ao longo deste trabalho, permitiria alavancar ao máximo os benefícios da utilização da tecnologia de

MEOR. Se a presente tese conseguiu ajudar a alcançar esse objetivo, representará uma contribuição de grande valor para a tomada de decisões estratégicas pelos players da indústria de petróleo no mundo, pelos países que detêm recursos petrolíferos cujo valor possa ser alavancado com essas técnicas, e pelo Brasil, onde diversas bacias petrolíferas e recursos não convencionais foram apontados como possíveis beneficiários da aplicação das técnicas de MEOR.

7.5 Relevância estratégica de MEOR

As conclusões acima evidenciam a importância da tecnologia de MEOR, e de suas diversas técnicas, para empresas e países em condições de aplicar esses conceitos aos seus recursos petrolíferos. Dado o valor que os recursos energéticos representam para a economia mundial, maximizar o aproveitamento dos recursos já descobertos, ou seja, aumentar o fator de recuperação desses recursos é um objetivo revestido de implicações estratégicas, tanto para os países detentores de reservas de petróleo e gás, como para as empresas que exploram esses recursos. O domínio das técnicas de EOR, e especialmente das técnicas de MEOR, representa um fator estratégico de segurança e competitividade, semelhante ao que foi o domínio das técnicas de exploração e produção de petróleo em águas profundas.

As técnicas de MEOR estão amplamente fundamentadas e respaldadas por conceitos análogos aos operantes em processos precursores e paralelos, assim como em inúmeros exemplos de aplicações práticas bem sucedidas. Dados os ganhos potenciais advindos das técnicas envolvendo MEOR, elas não podem mais ser relegadas a um segundo plano, nos planos de pesquisa e desenvolvimento dos players da indústria de petróleo, nem apenas levadas a cabo por estudos não publicados ou confidenciais. A importância e as implicações estratégicas para as empresas de petróleo que detiverem esta tecnologia são, portanto, comparáveis às que envolveram a questão do domínio das tecnologias de produção de petróleo em águas profundas. As questões estratégicas, relacionadas à economia nacional e à autonomia energética de países como o Brasil, ditam uma nova visão em relação às técnicas de MEOR, orientada para sua maior aplicação prática. Por outro lado, a

abundante e crescente disseminação e experiências com as técnicas de MEOR comprovam esta tendência.

A partir da compilação dos campos petrolíferos e dos recursos não convencionais, identificados como de possível interesse para exploração e produção de óleo e gás, é possível relacionar determinados aspectos que podem ser importantes na determinação do sucesso ou do desempenho de técnicas de MEOR, caso sejam aplicadas nesses casos. Os objetivos compreendidos por recursos não convencionais, assim como a recuperação de maiores percentuais das reservas já descobertas, representam uma tendência mundial que está, cada vez mais, apoiada em novas abordagens não convencionais, tanto tecnológicas como contratuais, organizacionais e estratégicas (LEIS, McCREERY, GAY, 2012). Como consequência dessa tendência, recursos não convencionais, métodos não convencionais de recuperação, e regiões antes tidas como inacessíveis, estão se tornando o foco das iniciativas dos grandes players da indústria do petróleo, especialmente das NOCs, cujos objetivos corporativos não se dissociam dos interesses nacionais soberanos. Especialmente as NOCs podem e devem trabalhar os objetivos de longo prazo, considerando os interesses nacionais e as questões estratégicas advindas do domínio de técnicas que permitam alcançar uma vantagem competitiva na exploração e produção dos recursos energéticos disponíveis.

7.6 Outras Considerações

Dessa forma, além de focar estudos em aspectos técnicos da compreensão e da avaliação dos processos operantes nas diversas técnicas de MEOR, é necessário realizar mais estudos dos aspectos gerenciais, econômicos e estratégicos de MEOR. Não é de estranhar que esses aspectos foram justamente alguns dos pontos importantes destacados para as técnicas de EOR em geral, como relatado, por exemplo, pela pesquisa sobre o futuro das técnicas de EOR, durante o Enhanced Oil Recovery World Congress 2012, realizado em Abu Dhabi, em 2012. Alguns desses pontos foram:

- Avaliação do potencial de cada técnica de MEOR em campos petrolíferos existentes;
- Avaliação dos avanços possíveis em cada técnica;
- Avaliação dos projetos de MEOR de cada país, levando em conta seus interesses nacionais;
- Avaliação do potencial de parcerias entre diferentes *players*;
- Estudos da maximização da recuperação, como objetivo estratégico;
- Avaliação dos aspectos econômicos de cada técnica;
- Avaliação dos diferentes requisitos (recursos humanos, tecnológicos, equipamentos, produtos, etc.) para aplicação das técnicas de MEOR

Uma das contribuições desta tese é uma nova avaliação criteriosa do potencial de diversas técnicas de MEOR, resultando numa hierarquização dessas técnicas, com base numa visão de reservatório, em vez de numa visão do óleo contido, como convencionalmente tem sido a abordagem das técnicas de MEOR. Essa nova forma de avaliar o potencial dessas técnicas representa uma importante quebra de paradigma na forma como são estudadas e aplicadas.

Da mesma forma, com base nas especificidades de alguns dos principais reservatórios brasileiros, são propostas técnicas de MEOR cujo benefício potencial é avaliado como sendo maior nesses casos. Não se tem conhecimento, na literatura, de uma avaliação desse tipo para os principais reservatórios brasileiros.

Dado o estudo das técnicas de MEOR descritas na literatura, e de algumas que foram estudadas em projetos e aplicações em campo, também são propostas técnicas avaliadas como sendo mais promissoras em futuras aplicações. É justamente nessas técnicas que se propõe que sejam empenhados os maiores esforços no seu estudo e aplicação. Esse direcionamento representa uma contribuição concreta para a P&D na área de MEOR, ajudando a focar recursos em técnicas mais promissoras.

Especificamente, uma técnica relativamente nova, a bioacidificação, é apontada como promissora para ser aplicada em certos reservatórios brasileiros, e mais esforços são sugeridos para que seu verdadeiro potencial possa ser avaliado.

Finalmente, esta tese sugere que as técnicas de MEOR devem ser introduzidas como parte integrante do toolbox das empresas que atuam na indústria

de petróleo e gás. Essa inserção, utilizando os conceitos apresentados acima, permitiria alavancar ao máximo os benefícios da utilização da tecnologia de MEOR. Isso envolve a plena aceitação da tecnologia de MEOR por parte dos players da indústria de petróleo no mundo, e para alcançar essa aceitação é compreensível que seja necessário oferecer evidências robustas do potencial da tecnologia de MEOR. Se a presente tese conseguiu ajudar a alcançar esse objetivo, representará uma contribuição de grande valor para a tomada de decisões estratégicas pelos players da indústria de petróleo no mundo, e pelos países que detêm recursos petrolíferos cujo valor possa ser alavancado com essas técnicas.

Ficou clara a importância da tecnologia de MEOR, e de suas diversas técnicas, para empresas e países em condições de aplicar esses conceitos aos seus recursos petrolíferos. Dado o valor que os recursos energéticos representam para a economia mundial, maximizar o aproveitamento dos recursos já descobertos, ou seja, aumentar o fator de recuperação desses recursos é um objetivo revestido de implicações estratégicas, tanto para os países detentores de reservas de petróleo e gás, como para as empresas que exploram esses recursos. O domínio das técnicas de EOR, e especialmente das técnicas de MEOR, representa um fator estratégico de segurança e competitividade, semelhante ao que foi o domínio das técnicas de exploração e produção de petróleo em águas profundas.

CONCLUSÕES

Em relação ao objetivo de demonstrar que os processos microbiológicos que ocorrem na natureza podem ser adaptados ou diretamente aproveitados na indústria do petróleo e gás para melhorar o fator de recuperação, a produção ou o desempenho das operações e intervenções, o histórico dos inúmeros estudos analisados respalda amplamente o objetivo de mostrar o potencial de MEOR para trazer benefícios concretos a essa indústria.

O objetivo de tornar mais frequente a adoção das técnicas de MEOR, e de fazer com que alcancem um amplo reconhecimento do seu potencial, por parte da indústria do petróleo, evidentemente ainda não foi alcançado, especialmente no Brasil, onde as experiências com MEOR ainda são incipientes. Se as técnicas de MEOR ainda não estão completamente inseridas como parte das ferramentas padrão da indústria do petróleo, isso se deve, provavelmente, à complexidade e dificuldade de desvendar os mecanismos operantes, e conseguir controlar satisfatoriamente os respectivos processos.

Em relação ao objetivo de identificar determinadas técnicas de MEOR que possam ser mais aplicáveis aos reservatórios petrolíferos e outros recursos não convencionais no Brasil, a pesquisa realizada permitiu relacionar algumas condições, bacias, e recursos em que possa haver maior potencial para a aplicação de determinadas técnicas de MEOR.

Especificamente, foi possível sugerir o uso de técnicas de MEOR mais consolidadas, como a produção de biossurfactantes e biopolímeros, e a técnica de exclusão biocompetitiva de BRS (TEB), em campos maduros brasileiros *onshore*, onde uma relativa facilidade em relação à infraestrutura instalada, assim como o baixo *Capex* (despesas de capital ou investimento) exigido, favorecem a atuação por parte de *players* de menor porte da indústria do petróleo. A pesquisa realizada também mostrou que essas técnicas apresentam um *Opex* (despesas operacionais, ou custo) relativamente baixo, em relação ao valor do óleo adicional recuperado, favorecendo a economicidade e viabilidade dessas iniciativas.

A possibilidade de participação de empresas de menor porte na aplicação de técnicas de MEOR em bacias maduras representa um interessante modelo de negócios, com características, vantagens e benefícios próprios, como menor risco,

investimentos mais modestos, e a criação de uma indústria de serviços constituída de empresas menores, justamente em regiões onde a geração de emprego e renda seria bem-vinda como forma de diversificar a atual concentração geográfica e o domínio de grandes empresas, que existe na indústria do petróleo atualmente.

Entre as bacias brasileiras que poderiam se enquadrar nesse perfil, estão a Bacia do Recôncavo, Bacia de Sergipe-Alagoas e Bacia Potiguar.

Também foi possível sugerir o uso de técnicas de MEOR relativamente bem consolidadas, envolvendo a produção biológica de biossurfatantes ou biopolímeros *ex situ*, nas Bacias de Campos, Santos e Espírito Santo, já que dessa forma essas técnicas de MEOR não dependem da sobrevivência dos micro-organismos nas condições adversas comuns nos reservatórios dessas bacias. A TEB também foi apontada como técnica de possível aplicação em alguns reservatórios dessas bacias, no controle da biosulfetogênese, já que esse problema envolve despesas muito significativas. A bioacidificação apresenta menor potencial, mas poderia ser uma alternativa aos métodos de EOR envolvendo a acidificação química para o combate à ocorrência dos danos (efeito *skin*) verificados em certos poços da Bacia de Campos

Em relação a recursos não convencionais e técnicas de MEOR que ainda não foram bem dominadas, foi identificado um grande potencial para o emprego dessas técnicas na transformação de recursos energéticos não convencionais ou de difícil aproveitamento, como os folhelhos betuminosos e o carvão. Esse é o caso, especialmente, dos folhelhos betuminosos da Formação Irati, onde as técnicas de MEOR com base em processos semelhantes à gaseificação de óleo *in situ* poderiam ser uma alternativa à mineração e processamento desses recursos não convencionais, como faz atualmente a Petrobras em São Mateus do Sul, PR (Petrosix). Dado o volume desses recursos energéticos na Bacia do Paraná, essas técnicas poderiam disponibilizar significativas quantidades de metano e outros produtos, caso sua aplicação venha a ser viabilizada comercialmente. O atual estado da arte dessas técnicas sugere que essa viabilidade esteja próxima.

A grande escala das operações provavelmente envolvidas na aplicação dessas técnicas sugere que seja mais provável que essas atividades somente possam ser realizadas por empresas de maior porte, ou através de entidades governamentais, que tenham acesso ao mercado de capitais, ou a recursos de P&D, em nível nacional ou internacional. Mesmo se essa atuação eventualmente atingir o

potencial esperado para a monetização desses recursos, e uma elevada rentabilidade em relação ao *Opex* dos processos, o elevado *Capex* de operações desse porte provavelmente exclui a participação de *players* de menor porte da indústria do petróleo, representando um modelo de negócios com domínio de *majors*.

Finalmente, foram sugeridos mais esforços para aperfeiçoar certas técnicas de MEOR avaliadas como tendo mais potencial. Entre as técnicas de MEOR relativamente consolidadas, identificadas como sendo merecedoras de mais estudos focados em otimizar seu desempenho, estão as técnicas de produção microbiana de biopolímeros; produção microbiana de biossurfatantes; e exclusão biocompetitiva de BRS (TEB). Entre as técnicas de MEOR ainda pouco consolidadas, identificadas como sendo merecedoras de mais estudos focados em viabilizar seu potencial, que ainda não foi plenamente comprovado, estão as técnicas de gaseificação de carvão *in situ*; gaseificação de óleo ou matéria orgânica *in situ*; dissociação microbiana de hidratos de gás; bioconversão *in situ* de CO₂ em metano; e bioacidificação.

Para novos ensaios com a técnica de bioacidificação, foram apresentadas diversas sugestões para aprimorar a metodologia empregada e os equipamentos utilizados.

As conclusões acima evidenciam a importância da tecnologia de MEOR, e de suas diversas técnicas, para empresas e países em condições de aplicar esses conceitos aos seus recursos petrolíferos. Dado o valor que os recursos energéticos representam para a economia mundial, maximizar o aproveitamento dos recursos já descobertos, ou seja, aumentar o fator de recuperação desses recursos é um objetivo revestido de implicações estratégicas, tanto para os países detentores de reservas de petróleo e gás e outros recursos energéticos, como para as empresas que exploram esses recursos. O domínio das técnicas de MEOR representa um fator estratégico de segurança e competitividade, semelhante ao que foi o domínio das técnicas de exploração e produção de petróleo em águas profundas.

REFERÊNCIAS

- ABBASNEZHAD, H. *Bacterial Adhesion to Oil-Water Interface and its Effect on Bioremediation of Heavy Oil Compounds*. 2010. Disponível em: <http://www.ualberta.ca/~hasana/Library/PhD_Project.html>. Acesso em: 01 out. 2013.
- ABIN-FUENTES, A.; EL-SAID MOHAMED, M.; WANG, D. I. C.; PRATHER, K. L. J. Exploring the mechanism of biocatalyst inhibition in microbial desulfurization. *Appl. Environ. Microbiol*, v. 79, n. 24, Dec 2013. Disponível em: <<http://aem.asm.org/content/early/2013/09/30/AEM.02696-13.abstract>>. Acesso em: 26 nov. 2013.
- AFC – AMERICAN FUELS COALITION. Coal Gasification Technology Tested at Chinese Project (*PR Newswire*). Versão online, 21 ago 2012. Disponível em: <<http://www.americanfuelscoalition.com/2012/08/21/coal-gasification-technology-tested-at-chinese-project-pr-newswire/>>. Acesso em: 01 dez. 2013.
- AGERBA – AGÊNCIA ESTADUAL DE REGULAÇÃO DE SERVIÇOS PÚBLICOS DE ENERGIA, TRANSPORTES E COMUNICAÇÕES DA BAHIA. Campo de Manati inicia produção. *Notícias de 08 fev. 2007*. Disponível em: <<http://www.agerba.ba.gov.br/noticialnterna.asp?cod=233>>. Acesso em: 01 out. 2013.
- AL-ROOMI, Y.; REENA G.; ELGIBALY, A.; ELKAMEL, A. Use of a novel surfactant for improving the transportability/transportation of heavy/viscous crude oils. *Journal of Petroleum Science & Engineering*, n. 42, p. 235-243, 2004. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0920410503002304>>. Acesso em: 01 out. 2013.
- AL-SULAIMANI, H.; JOSHI, S.; AL-WAHAIBI, Y.; AL-BAHRY, S.; ELSHAFIE, A.; AL-BEMANI, A. Microbial biotechnology for enhancing oil recovery: Current developments and future prospects. Invited Review, *Biotechnol. Bioinf. Bioeng.*; v.1, n. 2, p. 147-158, 2011.
- ALHANATI, L. S. Físicoquímica FQM - Tensão Superficial. *Alfaconnection*. 2012. Disponível em: <http://alfaconnection.net/pag_avsf/fqm0101.htm>. Acesso em: 30 dez. 2012.
- ALIMAHMOODI M.; MULLIGAN, C. N. Anaerobic bioconversion of carbon dioxide to biogas in an upflow anaerobic sludge blanket reactor. *J Air Waste Manag Assoc.* v. 58, n. 1, p. 95-103, Jan 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18236799>>. Acesso em: 01 out. 2013.

ALMEHAIDEB, R.; ZEKRI, A. Y. Optimization of Microbial Flooding in Carbonate Reservoirs. SPE 77796-MS. In: SPE ASIA PACIFIC OIL AND GAS CONFERENCE AND EXHIBITION, 2002, Melbourne, Australia. *Anais...*Melbourne: SPE, 2002.

Disponível em:

<<http://www.onepetro.org/mslib/app/Preview.do?paperNumber=00077796>>. Acesso em: 01 out. 2013.

ALMEIDA, A. S. *Seminário Recursos Energéticos do Brasil: Petróleo, Gás, Urânio e Carvão*. In: SEMINÁRIO NO CLUBE DE ENGENHARIA, Rio de Janeiro, set 2004.

Disponível em:

<http://ecen.com/seminario_clube_de_engenharia/30092004/recuperac_sec_petrol.pdf>. Acesso em: 13 out. 2012.

ALMEIDA, P. F.; ALMEIDA, R. C. C.; CARVALHO, E. B.; SOUZA, E. R.; CARVALHO, A. S.; SILVA, C. H. T. P.; CARLTON, A. T. Overview of sulfate-reducing bacteria and strategies to control biosulfide generation. *Modern Biotechnology in Medicinal Chemistry and Industry. Research Signpost*: India, p. 183-197, 2006.

Disponível em: <http://www.academia.edu/5376579/Overview_of_sulfate-reducing_bacteria_and_strategies_to_control_souring_in_oil_industry>. Acesso em: 01 out. 2013.

ALVARADO, V.; RANSON, A.; HERNÁNDEZ, K.; MANRIQUE, E.; MATHEUS, J.; LISCANO, T.; PROSPERI, N. Selection of EOR/IOR Opportunities Based on Machine Learning. SPE 78332. In: SPE EUROPEAN PETROLEUM CONFERENCE, 13, 2002, Aberdeen, Scotland. *Anais...*Aberdeen: SPE, 2002.

ALVARADO, V.; MANRIQUE, E. Enhanced Oil Recovery: An Update Review, *Energies*, v. 3, p. 1529-1575, 27 Aug 2010. Disponível em:

<<http://www.mdpi.com/1996-1073/3/9/1529/pdf>>. Acesso em: 13 out. 2012.

ALVES, M. A. R. *Brazil Round 9 - Campos Basin*. 2007. Apresentação para o *roadshow* da ANP para a 9ª Rodada de Licitações. Disponível em:

<[http://www.brazil-rounds.gov.br/arquivos/Seminario_tecnico_r9_ingles/Campos_\(ingles\).pdf](http://www.brazil-rounds.gov.br/arquivos/Seminario_tecnico_r9_ingles/Campos_(ingles).pdf)>. Acesso em: 01 out. 2013.

ALVES, M. A. R. *Bacia do Parnaíba – 11ª Rodada*. 2013. Apresentação para o *roadshow* da ANP para a 11ª Rodada de Licitações. Disponível em:

<http://www.brazil-rounds.gov.br/arquivos/Seminarios_r11/tec_ambiental/Bacia_do_Parnaiba.pdf>. Acesso em: 01 out. 2013.

ALVES, M. A. R.; FERREIRA, M. A.; HAESER, B. S. *Décima Rodada de Licitações – Bacia dos Parecis*. 2008. Apresentação para o *roadshow* da ANP para a 10ª Rodada de Licitações. Disponível em: <http://www.brazil-rounds.gov.br/arquivos/seminarios/STA_5_Bacia_dos_Parecis_portugues.pdf>.

Acesso em: 01 out. 2013.

ALVES, R. J.; FONSECA, J. R. *Pré-Sal - Características Geológicas e Desafios da Produção*. In: SEMINÁRIO NO CLUBE DE ENGENHARIA, 2013, Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://www.portalclubedeengenharia.org.br/info/pre-sal-caracteristicas-geologicas-e-desafios-da-producao->>. Acesso em: 01 out. 2013.

AMBIENTE BRASIL. Petrobrás descobre outro poço na Bacia de Santos. Notícias online – *Energia*, 29-03-2008. Disponível em: <<http://noticias.ambientebrasil.com.br/clipping/2008/03/29/37259-petrobras-descobre-outro-poco-na-bacia-de-santos.html>>. Acesso em: 01 dez. 2013.

AMIGO, J. C. V. *Recursos hidrocarburíferos en América Latina y el Caribe: desafíos y oportunidades de acceso y desarrollo*. In: REGIONAL CONFERENCE ARPEL, Sustainable Energy Development, 2011, Punta del Este, Uruguai.

ANCHLIYA, A. New Nitrate Based Treatments - A Novel Approach to Control Hydrogen Sulfide in Reservoir and Increased Oil Recovery. In: SPE EUROPE/EAGE ANNUAL CONFERENCE AND EXHIBITION, 2006, Vienna, Austria. *Anais...Vienna*: SPE, 2006. Disponível em: <<https://www.onepetro.org/conference-paper/SPE-100337-MS>>. Acesso em: 01 out. 2013.

ANP - AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. *Segunda Rodada de Licitações – Bacia de Sergipe-Alagoas*. 2000. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/brasil-rounds/round2/Pdocs/Pbacias/PBframe02.htm>>. Acesso em: 01 dez. 2013.

ANP - AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. *Sumário Executivo do Campo de Dom João – Terra*. 2003a. Disponível em: www.anp.gov.br/?dw=851>. Acesso em: 01 dez. 2013.

ANP - AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. *Bacia Potiguar*. 2003b. Apresentação para o roadshow da ANP para a 5ª Rodada de Licitações. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/brnd/round5/round5/Apres_SemTec/R5_Potiguar.pdf>. Acesso em: 01 dez. 2013.

ANP - AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. *Sumário Executivo Externo do Campo de Barra Bonita. SIGEP - Sistema de Informações Gerenciais de Exploração e Produção, Contrato 480000039239709*. 2009. Disponível em: www.anp.gov.br/?dw=25147>. Acesso em: 01 dez. 2013.

ANP - AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. *Marlim 2011, resumo executivo do campo de Marlim*. 2011a. Disponível em: www.anp.gov.br/?dw=61184>. Acesso em: 01 dez. 2013.

ANP - AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. *Roncador 2011, resumo executivo do campo de Roncador*. 2011b. Disponível em: www.anp.gov.br/?dw=61187>. Acesso em: 01 dez. 2013.

ANP - AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. *Jubarte 2011, resumo executivo do campo de Jubarte*. 2011c. Disponível em: www.anp.gov.br/?dw=61182>. Acesso em: 01 dez. 2013.

ANP - AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. *Barracuda 2011, resumo executivo do campo de Barracuda*. 2011d. Disponível em: www.anp.gov.br/?dw=61179>. Acesso em: 01 dez. 2013.

ANP - AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. *Golfinho 2011, resumo executivo do campo de Golfinho*. 2011e. Disponível em: www.anp.gov.br/?dw=61360>. Acesso em: 01 dez. 2013.

ANP - AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. *Leste do Urucu 2011, resumo executivo do campo de Leste do Urucu*. 2011f. Disponível em: www.anp.gov.br/?dw=61363>. Acesso em: 01 dez. 2013.

ANP - AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. *Brazil's Regulatory Framework - Challenges of a rapidly expanding petroleum industry*. 2012a. Apresentação de Magda Chambriard, Diretora Geral, maio de 2012. Disponível em: <<http://www.scribd.com/doc/134446646/Brazil-s-Regulatory-Framework-Challenges-of-a-Rapidly-Expanding-Petroleum-Industry>>. Acesso em: 13 jan 2013.

ANP - AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. *Presidenta aprova a 11ª Rodada. Notas à Imprensa – Set 2012*. 2012b. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/?id=2695>>. Acesso em: 03-08-2012.

ANP - AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS (2013a). *Boletim da Produção de Petróleo e Gás Natural*, Setembro 2013a. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/?dw=68673>>. Acesso em: 01 dez. 2013.

ANP - AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. *Anuário Estatístico Brasileiro do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis 2013*. 2013b. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/?dw=68644>>. Acesso em: 01 dez. 2013.

ANP - AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. *Seções Geológicas e Cartas Estratigráficas*. 2013c. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/brasil-rounds/round4/atividades_exploratorias/cartas_secoes/>. Acesso em: 01 dez. 2013.

ANP - AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. *Resultados da 12ª Rodada de Licitações, Análise dos resultados da 12ª Rodada de Licitações*. 2013d. Disponível em: <<http://www.brasil->

rounds-data.anp.gov.br/relatoriosbid/Empresa/OfertantesDesktop>. Acesso em: 10 dez. 2013.

ANP - AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. *Sumário Executivo do Campo de Roncador*. 2013e. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/?dw=63781>>. Acesso em: 01 dez. 2013.

ANTUNES, A. F. *O Campo Petrolífero de Xaréu (Sub-Bacia de Mundaú, Bacia do Ceará – Nordeste do Brasil) no Contexto Transcorrente/Transformante da Margem Equatorial Atlântica Brasileira: Caracterização Estrutural por Meio de uma Abordagem Multiescala*. In: WORKSHOP DO PRH22, 2003, Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://www.ccet.ufrn.br/prh22/workshops/2003>>. Acesso em: 01 out. 2013.

ANTUNES, A. F.; SÁ, E. F. J.; ARAÚJO, R. G. S.; NETO, F. F. L. Caracterização tectonoestrutural do Campo de Xaréu (Sub-Bacia de Mundaú, Bacia do Ceará – NE do Brasil): abordagem multiescala e pluriferramental. *Revista Brasileira de Geociências*, v. 38 (1 - suplemento), p. 88-105, mar 2008. Disponível em: <http://www.sbggeo.org.br/pub_sbg/rbg/vol38_down/3801suplemento/8789.pdf>. Acesso em: 01 out. 2013.

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ORGANIZATION; AWWA - AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION; WEF - WATER ENVIRONMENT FEDERATION. *9000 Microbiological Examination, Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater*, 22nd Ed, 2012.

ARARIPE, P. T. *Quarta Rodada de Licitações, Bacia do Recôncavo*. Apresentação para o roadshow da ANP para a 4ª Rodada de Licitações. 2002. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/brasil-rounds/round4/round4/workshop/restrito/portugues/Reconcavo_port.PDF>. Acesso em: 01 out. 2013.

ARAÚJO, E. A. *Adesão Bacteriana e Formação de Biofilmes*. In: SIMPÓSIO DO PROGRAMA DE EDUCAÇÃO TUTORIAL DE ECONOMIA DOMÉSTICA: SEGURANÇA ALIMENTAR, 3, 2009, Universidade Federal de Viçosa. Disponível em: <<http://www.ded.ufv.br/pet/docs/simposios/adesaoBacteriana.pdf>>. Acesso em: 01 out. 2013.

ARAÚJO, E. A. *Estudo do processo de combustão in situ usando poços horizontais como produtores de óleo (Toe-to-Heel Air Injection)*. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2012. Disponível em: <http://bdtd.bczm.ufrn.br/tde_arquivos/41/TDE-2012-06-04T100732Z-4211/Publico/EdsonAA_DISSERT.pdf>. Acesso em: 01 out. 2013.

ARGONNE NATIONAL LABORATORY. *Earth Microbiome Project to catalogue world's microbes*. Nov 09, 2011. Disponível em: <<http://www.anl.gov/articles/earth-microbiome-project-catalogue-world-s-microbes>>. Acesso em: 13 out. 2012.

ARMSTRONG, R. T. *Microbial Enhanced Oil Recovery: A Pore Scale Investigation of Interfacial and Microbial Interactions*. Doctoral thesis, Oregon State University, Jun 2012. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/1957/26899>>. Acesso em: 13 out. 2012.

ARPS, J. J.; ROBERTS, T. G. Economics of Drilling for Cretaceous oil on East Flank of Denver-Julesberg Basin. *AAPG Bulletin*, v.42, 1958.

ASK NATURE. *Biosignal® Products (formerly), Antibacterial treatment that avoids resistance*. 2012. Projeto da Biomimicry 3.8 Institute. Disponível em: <<http://www.asknature.org/product/0dd16a9c54b669b57fdcf08765c28a0d>>. Acesso em: 30 dez. 2012.

ATCC. *Products – Cells and Microorganisms*. 2012. Disponível em: <<http://www.atcc.org/en.aspx>>. Acesso em: 01 dez. 2012.

AWAN, A. R.; TEIGLAND, R.; KLEPPE, J. EOR Survey in the North Sea - A Survey of North Sea Enhanced-Oil-Recovery Projects Initiated During the Years 1975 to 2005. *SPE Reservoir Evaluation & Engineering*, v. 11, n. 3, p. 497-512, Jun 2008.

BABADAGLI, T. Evaluation of EOR methods for heavy-oil recovery in naturally fractured reservoirs. *Journal of Petroleum Science & Engineering*, n. 37, p. 25-37, 2003. Disponível em: <<http://www.ualberta.ca/~tayfun/EOR/papers/Article-JPSE%202003.pdf>>. Acesso em: 01 out. 2013.

BABADAGLI, T. Optimization of CO₂ injection for sequestration / enhanced oil recovery and current status in Canada. In: LOMBARDI, S.; ALTUNINA, L. K.; BEAUBIEN, S. E. (Ed.). *Advances in the Geological Storage of Carbon Dioxide: International Approaches to Reduce Anthropogenic Greenhouse Gas Emissions*. The Netherlands: Springer, Dordrecht, 2006. p. 261–270.

BACOCOLI, G. *A Indústria do Petróleo – Comentários Históricos*. 2002. Material da aula do Curso de Fundamentos da Indústria do Petróleo - de A a Z.

BAE, J. H.; CHAMBERS, K. T.; LEE, H. O. Microbial Profile Modification with Spores. *SPE Reservoir Engineering*, v. 11, n. 3, p. 163-167, Aug 2006. Disponível em: <<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=00028617>>. Acesso em: 01 out. 2013.

BAGNI, O. *Quarta Rodada de Licitações, Bacia de Campos*. 2002. Apresentação para o roadshow da ANP para a 4ª Rodada de Licitações. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/brasil-rounds/round4/workshop/restrito/portugues/Campos_port.PDF>. Acesso em: 01 out. 2013.

BAHIA - GOVERNO DO ESTADO. Pesquisas indicam que a Bahia deve ter a maior reserva de gás do país. *Portal TIBahia*, 05 dez. 2012. Disponível em: <http://www.tibahia.com/tecnologia_informacao/conteudo_unico.aspx?c=NOT_GOV>

&fb=B_FULL&hb=B_CENTRA&bl=LAT1&r=NOT_GOV&nid=20311>. Acesso em: 01 out. 2013.

BAILEY, S.; ATNIP, S. Using a new biological option to repair polymer-induced formation damage. *World Oil*, May 2001. Disponível em: <<http://www.worldoil.com/May-2001-Using-a-new-biological-option-to-repair-polymer-induced-formation-damage.html>>. Acesso em: 16 fev. 2004.

BANAT, I. M. Biosurfactant production and possible uses in microbial enhanced oil recovery and oil pollution remediation: a review. *Bioresource Technology*, n. 51, p. 1-12, 1995. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852494001016>>. Acesso em: 01 out. 2013.

BAO, M.; KONG, X.; JIANG, G.; WANG, X.; LI, X. Laboratory study on activating indigenous microorganisms to enhance oil recovery in Shengli Oilfield. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, v. 66, n. 1-2, p. 42-46, May 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0920410509000370>>. Acesso em: 01 out. 2013.

BARBOSA, G.; RIBEIRO, L. M. A.; VASCONCELLOS, R. V. A. *Décima Rodada de Licitações - Bacia Potiguar*. 2008. Apresentação para o roadshow da ANP para a 10ª Rodada de Licitações. Disponível em: <http://www.brasil-rounds.gov.br/arquivos/seminarios/STA_4_Bacia_Potiguar_portugues.pdf>. Acesso em: 01 out. 2013.

BARILLAS, J. L. M. *Estudo do processo de drenagem gravitacional de óleo com injeção contínua de vapor em poços horizontais*. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, Brasil, Fev. 2005. Disponível em <http://www.anp.gov.br/site/extras/prh/docs/ANP_10anos/PRH_14.pdf>. Acesso em: 01 out. 2013.

BARREIRO, C. B.; MIZUSAKI, A. M. P.; GARCIA, A. J. V. *Análise da Seção de Transição Pré-Rifte/Rifte (Formações Serraria e Barra de Itiúba) da Bacia Sergipe-Alagoas*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE P&D EM PETRÓLEO E GÁS, 2, 2003, Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://www.portalabpg.org.br/PDPetro/2/1010.pdf>>. Acesso em: 01 out. 2013.

BEECY, D. J.; FERREL, F. M.; CAREY, J. K. *Biogenic Methane: A Long-Term CO2 Recycle Concept*. 2001. Disponível em: <http://www.netl.doe.gov/publications/proceedings/01/carbon_seq/5a1.pdf>. Acesso em: 01 out. 2013.

BENYUS, J. M. *Biomimicry: Innovation Inspired by Nature*. HarperCollins, New York, NY. 2002. Disponível em: <<http://biomimicry.net/about/biomimicry/janines-book/>>. Acesso em: 10-09-2012.

BHADRA, A.; SCHARER, J. M.; MOO-YOUNG, M. Microbial desulphurization of heavy oils and bitumen. *Biotechnology Advances*, v. 5, n. 1, p. 1–27, 1987.

Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0734975087900024>>. Acesso em: 01 out. 2013.

BIO-SYSTEMS CORP. *Bioremediation of oily residues at landfarming site, 1997.*

1997. Relatórios confidenciais sobre biorremediação de resíduos oleosos e limpeza de costas rochosas. Disponível em:

<<http://www.biobugs.com/06/casehistory/index.php>>. Acesso em: 13 nov. 2006.

BIT LIFE SCIENCES, INC. *Program*. In: BIT'S ANNUAL WORLD CONGRESS OF PETROMICROBIOLOGY, 2, 2011, Dalian, China. Disponível em:

<<http://www.bitlifesciences.com/wcp2011/fullprogram.asp>>. Acesso em: 01 out. 2013.

BLAHA, C. A. G. *Cluster for Research in Oil Technology*. In: INTERNATIONAL COURSE BIOTECHNOLOGY AND PETROLEUM, 2, 2009, Venezuela.

BLOG DO PLANALTO. *O Petróleo no Brasil*. Artigo de Domingo, 30 de Ago de 2009 às 23:30. Disponível em: <<http://blog.planalto.gov.br/o-petroleo-no-brasil/>>. Acesso em: 01 out. 2013.

BLOG IMPACTOS MINERAÇÃO CARVÃO. *Impacto ambiental causado pela mineração de carvão na MINA 2, Criciúma, SC*. Postado em 10 Nov 2011.

Disponível em: <<http://impactosmineracaocarvao.blogspot.com.br/2011/11/historico-da-mineracao-de-carvao-em.html>>. Acesso em: 01 dez. 2013.

BODROSSY, L.; MURRELL, J. C.; DALTON, H.; KALMAN, M.; PUSKAS, L. G.; KOVACS, K. L. Heat-Tolerant Methanotrophic Bacteria from the Hot Water Effluent of a Natural Gas Field. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 61, n. 10, p. 3549–3555, 1995. Disponível em: <<http://aem.asm.org/content/61/10/3549.short>>. Acesso em: 01 dez. 2013.

BOGAERT, P.; CAVAZZOLI, G.; PEREZ, D. R.; GUIMARAES, C.; TRUMMER, S.; LUNGWITZ, B. Deepwater acid stimulation accomplished using CT, DP drillship and FPSO. *World Oil*, Jul 2008, p. 77-86. Disponível em: <http://www.slb.com/~media/Files/coiled_tubing/industry_articles/200807_wo_brazil.pdf>. Acesso em: 01 out. 2013.

BOGNIOTTI, L. D. *Perspectivas para O&G Não-Convencional no Brasil*. In:

REUNIÃO DA OLADE, 2012, Montevideu, Uruguai. Disponível em:

<http://www.olade.org/sites/default/files/seminarios/2_petroleo_gas/ponencias/11hs.%20Lauro%20Doniseti%20Bogniotti..pdf>. Acesso em: 01 out. 2013.

BOOPATHY, R.; MELANCON, E. Metabolism of compounds with nitro-functions by *Klebsiella pneumoniae* isolated from regional wetland. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 54, p. 269-275, 2004.

BORGES, C. D.; VENDRUSCOLO, C. T. Goma Xantana: características e condições operacionais de produção. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, Londrina, v. 29, n. 2, p. 171-188, jul./dez. 2008. Disponível em: <http://www.uel.br/proppg/portal/pages/arquivos/pesquisa/semina/pdf/semina_29_2_20_33.pdf>. Acesso em: 30 dez. 2012.

BRADLEY, T. *The CO2 Enhanced Oil Recovery Story*. Apresentação da Kinder Morgan. In: CARBON CAPTURE AND SEQUESTRATION PUBLIC WORKSHOP, 2009, New York City. Disponível em: <www.edf.org/sites/default/files/10254_Bradley.pdf>. Acesso em: 13 out. 2012.

BRASIL. *Balanco Energético Nacional 2013 Ano Base 2012*. 2013a. Publicação da EPE - Empresa de Pesquisa Energética, do Ministério de Minas e Energia, Disponível em: <https://ben.epe.gov.br/downloads/Relatorio_Final_BEN_2013.pdf>. Acesso em: 01 out. 2013.

BRASIL. *Anuário Estatístico Brasileiro do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – 2013*. 2013b. Publicação da Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – ANP, Ministério de Minas e Energia, Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/?dw=68644>>. Acesso em: 01 out. 2013.

BRASIL247. *Camamu: Maior produção de gás natural do Brasil*. Reportagem online, 3 Abr 2013, 10:58. Disponível em: <<http://www.brasil247.com/pt/247/bahia247/97861/>>. Acesso em: 01 out. 2013.

BRASIL ENERGIA. *Adeus, Barra Bonita*. Edição online de 28 nov. 2013. Disponível em: <http://brasilenergiaog.editorabrasilenergia.com/cadun/login?url_retorno=/news/secoes/em-off/2013/11/em-449467.html>. Acesso em: 01 dez. 2013.

BREALEY, N. A Method to Predict MEOR Benefits on a Field Basis. *SHARP IOR eNewsletter*, n. 4, Jan. 2003a. Disponível em: <<http://ior.rml.co.uk>>. Acesso em: 13 nov. 2006.

BREALEY, N. The Use of Residual Oil as Nutrient for Microbial Enhanced Oil Recovery – JIP Proposal. *SHARP IOR eNewsletter*, n. 6, Oct. 2003b. Disponível em: <<http://ior.rml.co.uk>>. Acesso em: 13 nov. 2006.

BROWN, L. R. Thoughts on MEOR from the DTI Workshop. *SHARP IOR eNewsletter*, n. 2, May 2002. Disponível em: <<http://ior.rml.co.uk>>. Acesso em: 04-09-2006.

BROWN, L. R. Microbial enhanced oil recovery (MEOR). *Current Opinion in Microbiology*, v. 13, n. 3, p. 316-320, Jun. 2010. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369527410000160>>. Acesso em: 01 out. 2013.

BROWN, L.; STEPHENS, J. O.; VADIE, A. A. *Microbial Options for Increasing Oil Recovery*. In: WORKSHOP PATROCINADO PELA PETROLEUM TECHNOLOGY TRANSFER COUNCIL, 1999, Zanesville, OH, EUA.

BROWN, L. R.; PITTMAN JR., C. U.; LYNCH, F. L.; VADIE, A. A.; FRENCH, W. T. *Augmenting a Microbial Selective Plugging Technique with Polymer Flooding to Increase the Efficiency of Oil Recovery - A Search for Synergy*. 2002. Final Report, DE-AC26-99BC15210, Prepared by Mississippi State University. Disponível em: <<http://www.netl.doe.gov/technologies/oil-gas/publications/EP/15210FinalRpt.pdf>>. Acesso em: 01 out. 2013.

BROWN, L. R.; VADIE, A. A.; STEPHENS, J. O. Slowing Production Decline and Extending the Economic Life of an Oil Field: New MEOR Technology. *SPE Reservoir Evaluation & Engineering*, Feb. 2002.

BROWN, L. R.; VADIE, A. A.; STEPHENS, J. O. *Going underground to Spy on MEOR Microbes & Finding Many MEOR Barrels of Incremental Oil*. 2005. National Energy Technology Lab. Disponível em: <<http://www.netl.doe.gov/scngo/Petroleum/publications/newsletters/ca/Win98/meor.html>>. Acesso em: 24 jan. 2005.

BRYANT, R. S. Potential Uses of Microorganisms in Petroleum Recovery Technology. *Proc. Okla. Acad. Sci.* v. 67, p. 97-104, 1987.

BRYANT, R. S.; BURCHFIELD, T. E. Review of Microbial Technology for Improving Oil Recovery. *SPE Reservoir Engineering*, v. 4, n. 2, p. 151-154, May 1989.

BRYANT, R. S.; LINDSEY, R. *World-Wide Applications of Microbial Technology for Improving Oil Recovery*. In: SPE/DOE IMPROVED OIL RECOVERY SYMPOSIUM, 1996, Tulsa, Oklahoma, EUA. Disponível em: <<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=00035356>>. Acesso em: 01 out. 2013.

BRYANT, S. L.; LOCKHART, T. P. Reservoir Engineering Analysis of Microbial Enhanced Oil Recovery, SPE 63229-MS. In: SPE ANNUAL TECHNICAL CONFERENCE AND EXHIBITION, 2000, Dallas, Texas, EUA. *Anais...Dallas*: SPE, 2000. Disponível em: <<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=00063229>>. Acesso em: 01 out. 2013.

BULIS, K. Coal-Eating Microbes Might Create Vast Amounts of Natural Gas - Companies are demonstrating a novel way to turn inaccessible coal into usable fuel. MIT Technology Review, *Energy News*, 23 Oct. 2012. Disponível em: <<http://www.technologyreview.com/news/429682/coal-eating-microbes-might-create-vast-amounts-of-natural-gas/>>. Acesso em: 01 out. 2013.

BYTES OF SCIENCE. *Biomimicry: imitating nature in engineering*. Sep. 28, 2005. Disponível em: <<http://bytesofscience.blogspot.com.br/2005/09/biomimicry-imitating-nature-in.html>>. Acesso em: 25 ago. 2008.

C2ES – CENTER FOR CLIMATE AND ENERGY SOLUTIONS. *National Enhanced Oil Recovery Initiative - Carbon Dioxide Enhanced Oil Recovery: A Critical Domestic Energy, Economic, and Environmental Opportunity*. 2012a. Disponível em: <<http://www.c2es.org/docUploads/EOR-Report.pdf>>. Acesso em: 13 out. 2012.

C2ES – CENTER FOR CLIMATE AND ENERGY SOLUTIONS. *National Enhanced Oil Recovery Initiative - CO₂-EOR and Agriculture*. 2012b. Disponível em: <<http://www.c2es.org/initiatives/eor>>. Acesso em: 13 out. 2012.

CAMPBELL, C. J.; LAHERRÈRE, J. H. The End of Cheap Oil. *Scientific American*, Mar. 1998. Disponível em: <<http://www.sciamdigital.com/>>, e <<http://dieoff.com/page140.pdf>>. Acesso em: 13 out. 2012.

CARA, D. V. C. *Produção de Biossurfatante por Flavobacterium Sp. a Partir de Óleo de Soja Residual e Fertilizante Comercial*. Dissertação (Mestrado), Escola de Química, UFRJ, Rio de Janeiro, 2009. Disponível em: <<http://tpqb.eq.ufrj.br/download/biossurfatante-de-oleo-de-soja-residual.pdf>>. Acesso em: 31 out. 2013.

CARLETON COLLEGE. *What is an Extremophile? Microbial Life - Educational Resources*. 2012. Disponível em: <<http://serc.carleton.edu/index.html>>. Acesso em: 13 out. 2012.

CARVALHO, A. S. *Otimização e validação de métodos analíticos para avaliação e controle de sulfeto em efluentes salinos do processo de extração do petróleo*. Dissertação (Mestrado), UFBA, Programa de Pós-graduação em Química. Salvador, Bahia, Jan de 2007.

CARVALHO, A. S.; JESUS, D. S.; SOUZA, E. R.; CHINALIA, F. A.; JONES, C. M.; ALMEIDA, P. F. *Development and Application of the Biocompetitive Exclusion Technology in the Control of Biogenic Sulfide in the Oil Industry*. 2013. No prelo.

CARVALHO, P. C. A. P. *Caracterização de Água Produzida na Indústria de Petróleo para Fins de Descarte e Otimização do Processo de Separação de Óleo/Água*. Dissertação (Mestrado), Departamento de Engenharia Química, Centro de Tecnologia, UFRN, Natal, RN, 2011. Disponível em: <http://repositorio.ufrn.br:8080/jspui/bitstream/1/11411/1/PatriciaCAPC_DISSERT.pdf>. Acesso em: 01 out. 2013.

CEFAR DIAGNÓSTICA LTDA. Coleção de Culturas Cefar Diagnóstica (CCCD). *Cefar em Notícias*, v. 4, n. 29, set./out. 2008. Disponível em: <<http://www.cefard.com.br/download/jornal%2029ed2b%20-%20vs.pdf>>. Acesso em: 01 out. 2013.

CEPEMAR – SERVIÇOS DE CONSULTORIA EM MEIO AMBIENTE LTDA. [Campo de Jubarte] EIA – Estudo de Impacto Ambiental, Capítulo 2 – Caracterização da Atividade, Relatório Técnico CPM RT 017/04, mar. 2004. Disponível em: <<http://licenciamento.ibama.gov.br/Petroleo/>>. Acesso em: 01 dez. 2013.

CESERO, P.; PONTE, F. C. Análise comparativa da paleogeologia dos litorais atlânticos brasileiro e africano. *Boletim de Geociências da Petrobras*, v. 11, n. 1/2, p. 1-18, 1997. Disponível em: <<http://www2.petrobras.com.br/boletim/Bgp11/1analiseok.PDF>>. Acesso em: 01 out. 2013.

CHAILLAN, F. LEFLECHE, A.; BURY, E.; PHANTAVONG, Y. H.; GRIMONT, P.; SALIOT, A.; OUDOT, J. Identification and biodegradation potential of tropical aerobic hydrocarbon-degrading microorganisms. *Research in Microbiology*, v. 155, n. 7, p. 587-595, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15313261>>. Acesso em: 01 out. 2013.

CHAMBRIARD, M. *Campos Marginais – Presente, Passado e Futuro*. Apresentação corporativa. 2009. Disponível em: <http://www.redepetrobahia.org.br/admin753/upload/apresentacao_P-5.ppt>. Acesso em: 01 dez. 2013.

CHANG, H. K.; ASSINE, M. L.; CORRÊA, F. S.; TINEN, J. S.; VIDAL, A. C.; KOIKE, L. Sistemas petrolíferos e modelos de acumulação de hidrocarbonetos na Bacia de Santos. *Revista Brasileira de Geociências*, v. 38, n. 2, p. 29-46, jun. 2008. Suplemento. Disponível em: <http://www.sbgeo.org.br/pub_sbg/rbg/vol38_down/3802suplemento/8801.pdf>. Acesso em: 01 out. 2013.

CHAVES, H. A. F. *Experiência Brasileira no Processo de Exploração e Produção de Petróleo*. 2009. Apresentação preparada para aula magna em Angola, sobre a indústria de petróleo no Brasil. Sem publicação.

CHAVES, H. A. F. *Apostila*. Disciplina eletiva de graduação “Economia do Petróleo”, da Faculdade de Engenharia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2012.

CHAVES, H. A. F.; JONES, C. M.; DOURADO, J. D. A. *The Use of Biotechnology to Help Achieve Sustainability for the Brazilian Shrimpfarming Industry*. In: GLOBAL CONFERENCE ON SUSTAINABLE PRODUCT DEVELOPMENT AND LIFE CYCLE ENGINEERING, 4, 2006, São Carlos, SP.

CHAVES, H. A. F.; RODRIGUES, R.; JONES, C. M. *Sustentabilidade e Novas Oportunidades na Indústria do Petróleo e Gás: América do Norte e Brasil*. In: SEMINÁRIO OS DESAFIOS DOS RECURSOS NÃO CONVENCIONAIS NO BRASIL (organizado pelo CEDPEM – Centro de Excelência em Desenvolvimento Petróleo Energia e Mineração), 2013, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

CHO, J.-C.; TIEDJE, J. M. Bacterial Species Determination from DNA-DNA Hybridization by Using Genome Fragments and DNA Microarrays. *Applied Environmental Microbiology*, v. 67, n. 8, p. 677-3682, Aug. 2001. Disponível em: <<http://www.ou.edu/catalysis/home.htm>>. Acesso em: 13 out. 2012.

CIRE – CENTER FOR INTERFACIAL REACTION ENGINEERING. *Welcome to the Center for Interfacial Reaction Engineering*. University of Oklahoma. 2012, Disponível em: <<http://www.ou.edu/catalysis/Project12.htm>>. Acesso em: 13 out. 2012.

CIPR - CENTRE FOR INTEGRATED PETROLEUM RESEARCH. *Microbial Enhanced Oil Recovery (MEOR)*. 2012. Disponível em: <<http://www.cipr.uni.no/>>. Acesso em: 13 out. 2012.

CIPR - CENTRE FOR INTEGRATED PETROLEUM RESEARCH. *Nitrate – a cost efficient alternative to biocides*. 2013. Disponível em: <<http://www.cipr.uni.no/contentitem.aspx?ci=1546>>. Acesso em: 01 out. 2013.

CLARK, J. *Brazil Round 4 – Solimões Basin*. 2002. Apresentação para o roadshow da ANP para a 4ª Rodada de Licitações. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/brasil-rounds/round4/round4/workshop/restrito/ingles/solimoes_ing.PDF>. Acesso em: 01 out. 2013.

CLENNELL, M. B. Hidrato de gás submarino: natureza, ocorrência e perspectivas para a exploração na margem continental brasileira. *Brazilian Journal of Geophysics*, v. 18, n. 3, 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-261X2000000300013>. Acesso em: 03 mai. 2008.

COMM TECH LAB. *Microbe Zoo*. Michigan State University. 2005. Disponível em: <<http://commtechlab.msu.edu/sites/dlc-me/zoo/zwpmain.html>>. Acesso em: 20 nov. 2005.

COMPUTER MODELING GROUP LTD. *User's Guide: STARS Advanced Process and Thermal Reservoir Simulator, Version 2002*, available 2005. Disponível em: <<http://www.cmgl.ca/software/stars.htm>>. Acesso em: 13 nov. 2006.

CONVERSE, D. R.; HINTON, S. M.; HIESHIMA, G. B.; BARNUM, R. S.; SOWLAY, M. R. *Process for Stimulating microbial activity in a hydrocarbon-bearing, subterranean formation*. Patent WO0168904, US Patent Office, 20 set. 2001. Disponível em: <<http://www.google.com/patents/US6543535>>. Acesso em: 01 out. 2013.

COOK, B. R.; MASON, C. F. *Enhanced Oil Recovery: Going Beyond Conventional Extraction*. In: INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR ENERGY ECONOMICS, IAEE ENERGY FORUM, Q4, 2012.

CORE LABORATORIES. *Routine Rock Properties, Liquid Permeameter LPS-630*. 2013a. Disponível em: <<http://www.corelab.com/cli/routine-rock/liquid-permeameter-lps-630>>. Acesso em: 01 out. 2013.

CORE LABORATORIES. *Advanced Rock Properties, Core Flooding System*. 2013b. Disponível em: <<http://www.corelab.com/cli/advanced-rock-properties/core-flooding-system>>. Acesso em: 01 out. 2013.

CORE LABORATORIES. *Core Holders, Hassler Type Core Holder- RCH Series*. 2013c. Disponível em: <<http://www.corelab.com/cli/core-holders/hassler-type-core-holders-rch-series>>. Acesso em: 01 out. 2013.

CORRÊA, A. C. F. *Petrobras E&P Technology Overview*. Apresentação do escritório da Petrobras em Aberdeen, UK, em 8 mar. 2012.

CPRM – COMPANHIA DE PESQUISA DE RECURSOS MINERAIS. *Carvão Mineral - Roteiro Geológico sobre a Coluna White (Santa Catarina)*. 2013a. Disponível em: <http://www.cprm.gov.br/geoecoturismo/coluna_white/carvaomineral.html>. Acesso em: 01 out. 2013.

CPRM – COMPANHIA DE PESQUISA DE RECURSOS MINERAIS. *Seções Geológicas Esquemáticas: Bacias Sedimentares*. 2013b. Disponível em: <http://www.cprm.gov.br/gis/secoes_geologicas.htm>. Acesso em: 01 out. 2013.

CRACRAFT, J.; DONOGHUE, M.; DRAGOO, J.; HILLIS, D.; YATES, T. *Assembling the Tree of Life*. 2012. National science foundation. Disponível em: <http://www.phylo.org/atol/pdf_docs/atol.pdf>. Acesso em: 13 out. 2012.

CUNHA, C. D.; LEITE, S. G. F.; ROSADO, A. F.; ROSÁRIO, M. Biorremediação de água contaminada com gasolina e análise molecular da comunidade bacteriana presente. *Série Tecnologia Ambiental*, CETEM/MCT, L. G. S. Sobral (Ed), 2008.

DAMIÃO, A. O.; MATOS, J.; ROQUE, M. A.; QUINTELLA, C.; JONES, C. M.; ALMEIDA, P. F. (2013). *Production of Biosurfctant Utilizing Raw Glycerin, a Sustainable Biotechnological Alternative*. Artigo no prelo.

DANISH TECHNOLOGICAL INSTITUTE. *Harmful bacteria in North Sea oil fields monitored using modern DNA methods*. 2013. Site institucional – Services, Energy and Climate, Microbiology Management. Disponível em: <<http://www.dti.dk/services/harmful-bacteria-in-north-sea-oil-fields-monitored-using-modern-dna-methods/26026>>. Acesso em: 01 out. 2013.

DELSHAD, M.; ASAKAWA, K.; POPE, G. A.; SEPEHRNOORI, K. Simulations of Chemical and Microbial Enhanced Oil Recovery Methods. In: SPE/DOE IMPROVED OIL RECOVERY SYMPOSIUM, 2002, Tulsa, Oklahoma, EUA. *Anais...*Tulsa: SPE, 2002. Disponível em:

<<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=00075237>>. Acesso em: 01.10/2013.

DENG, D.; LI, C.; JU, Q.; WU, P.; DIETRICH, F. L.; ZHOU, Z. H. Systematic Extensive Laboratory Studies of Microbial EOR Mechanisms and Microbial EOR Application Results in Changqing Oilfield. In: SPE ASIA PACIFIC OIL AND GAS CONFERENCE AND EXHIBITION, 1999, Jakarta, Indonesia. *Anais...*Jakarta: SPE, 1999. Disponível em:

<<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=00054380>>. Acesso em: 01 out. 2013.

DESOUKY, S. M.; ABDEL-DAIM, M. M.; SAYYOUH, M. H.; DAHAB, A. S. Modelling and laboratory investigation of microbial enhanced oil recovery. *Journal of Petroleum Science & Engineering*, n. 15, p. 309-320, 1996. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0920410595000445>>. Acesso em: 01 out. 2013.

DIAS, J. F. *Produção de Petróleo e Pré-processamento*. 2005. Apostila de Curso, Indústria do Petróleo, Parte 3, Processos Orgânicos, Faculdade de Tecnologia, Campus Regional de Resende, UERJ.

DIAS, J. L. *Oil and Gas Resources on the Brazilian Continental Margin*. In: SEMINAR ON MARINE MINERAL RESOURCES OF THE SOUTH AND EQUATORIAL ATLANTIC OCEAN, 2008a, Rio de Janeiro.

DIAS, J. L. Estratigrafia e Sedimentação dos Evaporitos Neo-Aptianos na Margem Leste Brasileira. In: MOHRIAK, W.; SZATMARI, P.; ANJOS, S. M. C. (Coordenação Editorial). *Sal: Geologia e Tectônica*. Beca, São Paulo, 2008b.

DIETRICH, F. L.; BROWN, F. G.; ZHOU, Z. H.; MAURE, M. A. Microbial EOR Technology Advancement: Case Studies of Successful Projects. SPE ANNUAL TECHNICAL CONFERENCE AND EXHIBITION, 1996, Denver, Colorado, EUA. *Anais...*Denver: SPE, 1996. Disponível em:

<<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=00036746>>. Acesso em: 01 out. 2013.

DIGNART, A. *Bacias do Recôncavo e Tucano Sul*. 2013. Apresentação para o *roadshow* da ANP para a 11ª Rodada de Licitações. Disponível em:

<http://www.brazil-rounds.gov.br/arquivos/Seminarios_r11/tec_ambiental/Bacia_do_Reconcavo_e_Tucano_Sul.pdf>. Acesso em: 01 dez. 2013.

DIGNART, A.; VIEIRA, J. R. *Décima Rodada de Licitações - Bacia do Amazonas*. 2008. Apresentação para o *roadshow* da ANP para a 10ª Rodada de Licitações. Disponível em:

<http://www.brazil-rounds.gov.br/arquivos/seminarios/STA_3_Bacia_do_Amazonas_portugues.pdf>. Acesso em: 01 out. 2013.

DINNING, A. J.; OLIPHANT, D.; VIK, E. A.; BRUÅS, L. Initial Souring Monitoring and Souring-Mitigation Testing Using an Online Souring-Mitigation Cabinet (SMC) Prior to Live Produced Water Reinjection (PWRI) and Nitrate-Based Souring-Mitigation Treatment on Norske Shell's Draugen Platform. In: SPE INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON OILFIELD CHEMISTRY, 2005, The Woodlands, Texas, EUA. *Anais...*The Woodlands: SPE, 2005. Disponível em: <http://www.search4oil.com/DigitalEarth/getDocumentDetail.jsp?type=doc&id=doc_83cc2e430f8140138fd67aa080aeb8e5>. Acesso em: 01 dez. 2013.

DNA SEQUENCING COM. *DNA Sequence*. 2012. Disponível em: <<http://dnasequencing.com/DNA-Sequence.html>>. Acesso em: 13 out. 2012.

DOLAN, M.; COLWELL, R.; SEMPRINI, L.; HAGGERTY, R. Microbial enhanced oil recovery: a pore-scale investigation of interfacial interactions. *Scholars Archive*, Oregon State University, Dorthe Wildenschild School of Chemical, Biological, and Environmental Engineering, 6 Jan. 2012. Disponível em: <<http://ir.library.oregonstate.edu/xmlui/handle/1957/26899>>. Acesso em: 13 out. 2012.

DOURADO, J. D. A.; CHAVES, H. A. F.; JONES, C. M. Gas Hydrates and Microbiological Processes. In: AAPG GTW: DEEPWATER AND ULTRA DEEPWATER RESERVOIRS IN THE GULF OF MEXICO, 2010, Houston, Texas, EUA. *Anais...*Huston: AAPG, 2010. Disponível em, <<http://www.aapg.org/gtw/houston03mar162010-1.cfm>>. Acesso em: 01 dez. 2013.

DOURADO, J. D. A.; JONES, C. M.; CHAVES, H. A. F. Rumo a um novo modelo energético mundial, IBP-2925. In: RIO OIL & GAS EXPO AND CONFERENCE, 2010, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. *Anais...*Rio de Janeiro: IBP, 2010.

DREW, L. J.; ATTANASI, E. D.; SCHUENEMEYER, J. H. Observed oil and gas field size distributions: A consequence of the discovery process and prices of oil and gas. *Mathematical Geology*, v. 20, n. 8, Nov 1988.

DREW, L. J.; SCHUENEMEYER, J. H.; ROOT, D. J. *Petroleum resource appraisal and discovery rate forecasting in partially explored regions*. Professional Paper 1138-A-C, USGS, 1980.

DSMZ. *List of Recommended Media for Microorganisms*. 2012. Leibniz Institute DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell Cultures. Disponível em: <<http://www.dsmz.de/catalogues/catalogue-microorganisms/culture-technology/list-of-media-for-microorganisms.html>>. Acesso em: 13 out. 2012.

DTI - DEPARTMENT OF TRADE AND INDUSTRY. Workshop on Microbial Enhanced Oil Recovery, sponsored by DTI Oil and Gas Directorate, 27 Feb 2002, Patio Hotel, Aberdeen. *SHARP IOR eNewsletter*, n. 2, May 2002. Disponível em: <<http://ior.rml.co.uk>>. Acesso em: 13 nov. 2006.

DUARTE, K. S. *Décima Rodada de Licitações – Bacia do São Francisco*. 2008. Apresentação para o *roadshow* da ANP para a 10ª Rodada de Licitações. Disponível em:

<http://www.anp.gov.br/brnd/round10/arquivos/seminarios/STA_7_Bacia_do_Sao_Francisco_portugues.pdf>. Acesso em: 01 out. 2013.

DUHALT, R. V.; TORRERS, E.; VALDERRAMA, B.; LEBORGNE, S. Will Biochemical Catalysts Impact the Petroleum Refining Industry? *Energy & Fuels*, v. 16, p. 1239-1250, 2002.

DUNNINGHAM, A. *Sísmica no Brasil é do tempo da vitrola*. Globo Online, 2004. Disponível em: <http://oglobo.globo.com/petroleo/142689044.asp>. Acesso em: 27 mai. 2004.

DUPONT. *MATRx™ EOR Technologies, Dupont Sustainable Solutions*. 2013.

Disponível em:

<http://www2.dupont.com/Sustainable_Solutions/en_US/practice_areas/clean_tech/meor_landing.html>. Acesso em: 01 out. 2013.

EDWARDS, K. J.; BECKER, K.; COLWELL, F. The Deep, Dark Energy Biosphere: Intraterrestrial Life on Earth. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, v. 40: p. 551-568, May 2012. Disponível em:

<<http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-earth-042711-105500>>. Acesso em: 13 out. 2012.

EIA - ENERGY INFORMATION ADMINISTRATION. *Annual Energy Outlook 2012 with Projections to 2035*. 2012. US Department of Energy. Disponível em:

<<http://www.eia.gov/forecasts/aeo/>>. Acesso em: 13 out 2012.

ELLINGSEN, O. EOR by electro-acoustic reservoir stimulation: A new approach. *World Oil Magazine Feature Article*, v. 223, n. 11, Nov. 2002. Disponível em:

<<http://www.worldoil.com/November-2002-EOR-by-electro-acoustic-reservoir-stimulation-A-new-approach.html>>. Acesso em: 30 dez. 2012.

ELSEVIER. *Bioresource Technology*. 2013a. Informações sobre o periódico.

Disponível em: <<http://www.journals.elsevier.com/bioresource-technology/#Scope>>. Acesso em: 01 out. 2013.

ELSEVIER. *Journal of Biotechnology*. 2013b. Informações sobre o periódico.

Disponível em: <<http://www.journals.elsevier.com/journal-of-biotechnology/>>. Acesso em: 01 out. 2013.

ERNST & YOUNG. *Enhanced oil recovery (EOR) methods in Russia: time is of the essence*. 2013. Disponível em: <[http://www.ey.com/Publication/vwLUAssets/EY_-_Enhanced_oil_recovery_\(EOR\)_methods_in_Russia:_time_is_of_the_essence/\\$FILE/EY-Enhanced-Oil-Recovery.pdf](http://www.ey.com/Publication/vwLUAssets/EY_-_Enhanced_oil_recovery_(EOR)_methods_in_Russia:_time_is_of_the_essence/$FILE/EY-Enhanced-Oil-Recovery.pdf)>. Acesso em: 01 out. 2013.

ESTADÃO. *Governo anuncia 11ª rodada de licitação de blocos e 1º leilão do pré-sal para 2013*. 2012. Economia & Negócios. Disponível em: <<http://www.estadao.com.br/noticias/impresso,governo-anuncia-11-rodada-de-licitacao-de-blocos-e-1-leilao-do-pre-sal-para-2013-,932546,0.htm>>. Acesso em: 13 out. 2012.

EXAME. *Petrobras abre maior campo de gás do Brasil no dia 13*. 2011. Negócios, versão online. Disponível em: <<http://exame.abril.com.br/negocios/noticias/petrobras-abre-maior-campo-de-gas-do-brasil-no-dia-13/>>. Acesso em: 01 out. 2013.

EXAME. *Statoil confirma reserva de qualidade em Peregrino Sul*. Mundo, versão online, 24-10-2012. Disponível em: <<http://exame.abril.com.br/mundo/noticias/statoil-confirma-reserva-de-qualidade-em-peregrino-sul/>>. Acesso em: 01 dez. 2013.

EXXONMOBIL *Global Experience in Enhanced and Improved Oil Recovery*. Relatório de 10/2009. Disponível em: <<http://www.exxonmobilchemical.com/LOGCEC/Technology-EOR-insert-en.pdf>>. Acesso em: 13 out. 2012.

FAINSTEIN, R. Reservatórios no pré-sal e pós-sal. *Revista TN Petróleo*, n58, p. 92-98, 2008. Disponível em: <<http://www.scribd.com/doc/212776179/TN58-Artigo>>. Acesso em 01 out. 2013.

FANG, X.; WANG, Q.; SHULER, P. *Bio-Engineering High Performance Microbial Strains for MEOR by Directed Protein Evolution Technology*. Final Report Submitted by California Institute of Technology to the US DOE – National Energy Technology Laboratory, 02 Jul. 2008. Disponível em: <http://www.netl.doe.gov/technologies/oil-gas/publications/EP/NT15525_FinalReport.PDF>. Acesso em: 01 out. 2013.

FARN, R. J. *Chemistry and Technology of Surfactants*. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd., 2008.

FEDORAK, P. M.; ROBINSON, J. M. F.; GRAY, M. R. *Conversion of Heavy Oil and Bitumen to Methane by Chemical Oxidation and Bioconversion*. 2008. Patent application, Document Number 2640999, Canadian Intellectual Property Office. Disponível em: <<http://patents.ic.gc.ca/opic-cipo/cpd/eng/patent/2640999/claims.html?type=>>>. Acesso em: 01 out. 2013.

FEIJÓ, F. J. 40 years from shallow to deep water. In: AAPG INTERNATIONAL CONFERENCE AND EXHIBITION, 2013, Cartagena, Colombia. *Anais...Cartagena: AAPG*, 2013. Disponível em: <http://www.searchanddiscovery.com/pdfz/documents/2013/10553feijo/ndx_feijo.pdf.html>. Acesso em: 01 jan. 2014.

FIGUEIREDO, A. L. C. *Fácies Carbonáticas e Potencial Reservatório da Formação Salitre Neoproterozóica, na Bacia de Irecê-Bahia, Brasil*. Monografia (Graduação), do Curso de Geologia, Instituto de Geociências, UFBA, Salvador, Bahia, 2011. Disponível em:

<<http://www.twiki.ufba.br/twiki/bin/view/IGeo/Andr%E9Figueiredo2011>>. Acesso em: 01 out. 2013.

FILIPPIS, I. *Preservação de Micro-organismos*. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL ABRAPA DE INOCUIDADE DE ALIMENTOS, 9, 2010, São Paulo, SP, Brasil, Realização Associação Brasileira para a Proteção dos Alimentos (ABRAPA). Disponível em: <<http://abrapaalimentos.com.br/?p=250>>. Acesso em: 01 out. 2013.

FINEP - FINANCIADORA DE ESTUDOS E PROJETOS. *Carta-Convite MCT/FINEP/Ação Transversal – Cooperação ICTs-Empresas – 01/2005, Projetos Aprovados*. 2005. Disponível em: <http://www.finep.gov.br/fundos_setoriais/acao_transversal/resultados/Resultado_ICTS_01_2005.PDF>. Acesso em: 01 out. 2013.

FISK, R.; COLLETT, T.; CLOUGH, J. *Assessment of Alaska North Slope Gas Hydrates – Project Briefing – June 2004*. In: NATIONAL FLUID MINERALS CONFERENCE, 2004, Cheyenne, WY, EUA.

FOLHA DE SÃO PAULO. *Resíduos de carvão formam "superfície lunar" em Santa Catarina*. Cotidiano, 27 dez. 2000. Disponível em: <<http://www1.folha.uol.com.br/folha/cotidiano/ult95u17689.shtml>>. Acesso em: 01 dez. 2013.

FONTES, C.; RANNA, R. *Décima Rodada de Licitações – Bacia de Sergipe-Alagoas*. 2008. Disponível em: <http://www.brasil-rounds.gov.br/arquivos/seminarios/STA_8_Bacia_de_Sergipe_Alagoas_portugues.pdf>. Acesso em: 01 dez. 2013.

FOSTER, M. H.; KRAMER, T. L. *Bioaugmentation offers solutions to treatment plant deficiencies*. 2005. Disponível em: <http://www.paperloop.com/db_area/archive/p_p_mag/1997/9705/focus2.htm>. Acesso em: 18 out. 2005.

FOUILLAC, C.; BATTAGLIA-BRUNET, F.; BARANGER, P.; CZERNICHOSKI-LAURIOL, I. *Microbiological CO2 conversion to methane in sedimentary aquifers*. 2013. Apresentação da BRGM – Bureau de Recherches Géologiques et Minières (France). Disponível em: <<http://www.netl.doe.gov/publications/proceedings/04/carbon-seq/160.pdf>>. Acesso em: 01 out. 2013.

FRANKE, M. *Novas Fronteiras Exploratórias: Estudando o futuro do setor petróleo no Brasil*. In: RIO OIL & GAS EXPO AND CONFERENCE, 2004, Rio de Janeiro, Brasil,. *Anais...*Rio de Janeiro: IBP, 2004.

FRÖHLICH, J.; KÖNIG, H.; KAHLE, D. *Isolation of Microorganisms. Biocompare*. 2003. Disponível em: <<http://www.biocompare.com/Application-Notes/42881-Isolation-Of-Microorganisms/>>. Acesso em: 13 out. 2012.

GAO, C. H. Microbial Enhanced Oil Recovery in Carbonate Reservoir: An Experimental Study. SPE ENHANCED OIL RECOVERY CONFERENCE, 2011, Kuala Lumpur, Malaysia. *Anais...*Kuala Lumpur: SPE, 2011. Disponível em: <<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=SPE-143161-MS>>. Acesso em: 01 out. 2011.

GAZETA MERCANTIL. *Déficit de US\$ 2,2 bilhões adia auto-suficiência*. Brasil News online, 05 jan. 2007. Disponível em: <<http://www.brasilnews.com.br/NewsNextdd.php?CodReg=14151&edit=&CodNext=999>>. Acesso em: 01 out. 2013.

GHADIMI, M. R.; ARDJMAND, M. *Simulation of Microbial Enhanced Oil Recovery*. In: INTERNATIONAL OIL CONFERENCE AND EXHIBITION IN MEXICO, 1, 2006, Cancun, Mexico. Disponível em: <<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=SPE-101734-MS>>. Acesso em: 01 out. 2013.

GHARBI, R. B. C. An expert system for selecting and designing EOR processes, *Journal of Petroleum Science & Engineering*, n. 27, p. 33-47, 2000. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0920410500000498>>. Acesso em: 01 out. 2013.

GIEG, L. M.; DUNCAN, K. E.; SUFLITA, J. M. Bioenergy Production via Microbial Conversion of Residual Oil to Natural Gas. *Appl Environ Microbiol.* v. 74, n. 10, p. 3022–3029, May 2008. Disponível em: Acesso em: 01 out. 2013.

GOMES, E. S.; NAVARRETE, A. A.; LEMOS, E. G. M.; TSAI, S. M.; MOREIRA, F. M. S. A nova ciência da metagenômica: revelando segredos do planeta microbiano. *Boletim Informativo da SBCS*, jan.-abr. 2009. Disponível em: <<http://pt.scribd.com/doc/162359265/biologia-metagenomica#>>. Acesso em: 01 out. 2013.

GONZALEZ, J. M.; PORTILLO, M. C.; BELDA-FERRE, P.; MIRA, A. Amplification by PCR Artificially Reduces the Proportion of the Rare Biosphere in Microbial Communities. *PLoS ONE*, v. 7, n. 1, e29973, Jan. 11, 2012. Disponível em: <<http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0029973>>. Acesso em: 13 out. 2012.

GOODYEAR, S. DTI MEOR Workshop: A Participant's View. *SHARP IOR eNewsletter*, n. 2, May, 2002. Disponível em: <<http://ior.rml.co.uk>>. Acesso em: 13 nov. 2006.

GPQVA – GRUPO DE PESQUISA EM QUÍMICA VERDE E AMBIENTAL. *Linhas de pesquisa – fluidos supercríticos*. 2012. Site do Instituto de Química da USP – Universidade de São Paulo. Disponível em: <<http://www.usp.br/gpqa/scf.asp>>. Acesso em: 13 out. 2012.

- GREEN GENES. *16S rRNA gene*. 2012. Disponível em: <http://greengenes.lbl.gov/cgi-bin/JD_Tutorial/nph-16S.cgi>. Acesso em: 13 out. 2012.
- GROMMEN, R.; VERSTRAETE, W. Environmental biotechnology: the ongoing quest, *Journal of Biotechnology*, n. 98, p. 113-123, 2002. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168165602000901>>. Acesso em: 01 out. 2013.
- GUDIÑA, E. J.; PEREIRA, JORGE F. B.; RODRIGUES, LÍGIA R.; COUTINHO, JOÃO A. P.; TEIXEIRA, JOSÉ A. Isolation and study of microorganisms from oil samples for application in Microbial Enhanced Oil Recovery. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 68, Mar. 2012, p. 56–64. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0964830512000030>>. Acesso em: 13 out. 2012.
- HABTEC ENGENHARIA AMBIENTAL. *Atividade de Produção de Gás e Condensado no Campo de Mexilhão, Bacia de Santos, II.5.1.4 - Geologia e Geomorfologia*. 2007. Relatório para a Petrobras. Disponível em: <<http://licenciamento.ibama.gov.br/Petroleo/>>. Acesso em: 01 dez. 2013.
- HAKEMIAN, A. S.; ROSENZWEIG, A. C. The biochemistry of methane oxidation. *Annual Review of Biochemistry*, v. 76, p. 223-241, 2007. Disponível em: <<http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.biochem.76.061505.175355?journalCode=biochem>>. Acesso em: 01 dez. 2013.
- HALL, C.; THARAKAN, P.; HALLCOCK, J.; CLEVELAND, C.; JEFFERSON, M. Hydrocarbons and the evolution of human culture. *Insight commentary. Nature*, v. 426, p. 318-322, Nov. 2003. Disponível em: <<http://www.oilcrisis.com/cleveland/OilAndCulture.pdf>>. Acesso em: 13 out. 2012.
- HANDELSMAN, J. Metagenomics: Application of Genomics to Uncultured Microorganisms. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v. 68, n. 4, p. 669-685, Dec. 2004. Disponível em: <<http://mmb.asm.org/content/68/4/669.abstract>>. Acesso em: 13 out. 2012.
- HAO, R.; LU, A.; ZENG, Y. Effect on crude oil by thermophilic bacterium. *Journal of Petroleum Science & Engineering*, n. 43, p. 247-258, 2004. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0920410504000506>>. Acesso em: 01 out. 2013.
- HIRSCH, R. L. The Inevitable Peaking of World Oil Production. *Bulletin of The Atlantic Council of the United States*, v. 16, n 3, Oct. 2005. Disponível em: <http://large.stanford.edu/publications/power/references/docs/051007-Hirsch_World_Oil_Production.pdf>. Acesso em: 01 dez. 2013.
- HOMMEL, R. K. Formation and physiological role of biosurfactants produced by hydrocarbon-utilizing microorganisms - Biosurfactants in hydrocarbon utilization.

Biodegradation, v. 1, p. 107-119, 1990. Disponível em:
<<http://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2FBF00058830>>. Acesso em: 13 out. 2010.

HOU, J.; ZHANG, S-K.; DU, Q-J.; LI, Y-B. A streamline-based predictive model for enhanced-oil-recovery potentiality. *Journal of Hydrodynamics*, Ser. B, v. 20, n. 3, p. 314-322, June 2008. Disponível em:
<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1001605808600633>>. Acesso em: 01 out. 2013.

HUGHES D. S. Design and Implementation of Field Trial of Microbial Enhanced Oil Recovery. *SHARP IOR eNewsletter*, n. 2, May 2002. Disponível em:
<<http://ior.rml.co.uk>>. Acesso em: 13 nov. 2006.

HUGHES D. S. *MEOR – Revival of Microbial Enhanced Oil Recovery (MEOR) Initiatives on UK Continental Shelf*. In: ANNUAL WORKSHOP & SYMPOSIUM, COLLABORATIVE PROJECT ON ENHANCED OIL RECOVERY, International Energy Agency, 24, 2003, Saskatchewan, Canada, Sep. 7-10, 2003.

HUVA, E. I.; GORDIENKO, R. V.; RIPMEESTER, J. A.; ZENG, H.; WALKER, V. K. The Search for “Green Inhibitors:” Perturbing Hydrate Growth with Bugs (ICGH 2008). In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON GAS HYDRATES, 6, 2008, Vancouver, BC, Canada. *Proceedings...Vancouver*: ICGH, 2008. Disponível em:
<<http://circle.ubc.ca/handle/2429/1105>>. Acesso em: 01 dez. 2013.

IDEA – FUNDACIÓN INSTITUTO DE ESTUDIOS AVANZADOS. EI IDEA acoge a 35 investigadores internacionales. *Todos IDEA*, n. 17, Caracas, 04 feb. de 2009a. Disponível em:
<http://www.idea.gob.ve/images/publicaciones/todos_idea/TODOS_IDEA_17.pdf>. Acesso em: 13 out. 2012.

IDEA – FUNDACIÓN INSTITUTO DE ESTUDIOS AVANZADOS (2009b). *Reseña del II Curso Internacional Biotechnology and Petroleum*, Report on the II International Course Biotechnology and Petroleum. Evento e curso realizado em Caracas, Venezuela, 04 fev 2009b.

IGLESIAS, R. *Conceitos de Engenharia de Reservatório*. In: CAFÉ COM CIÊNCIA E SAPIÊNCIA, 2009, CEPAC. Disponível em:
<http://www.pucrs.br/cepac/download/Eng_Reservatorio_CCS.pdf>. Acesso em: 01 out. 2013.

INAGAKI, F.; NUNOURA, T.; NAKAGAWA, S.; TESKE, A.; LEVER, M.; LAUER, A.; SUZUKI, M.; TAKAI, K.; DELWICHE, M.; COLWELL, F. S.; NEALSON, K. H.; HORIKOSHI, K.; D’HONDT, S.; JORGENSEN, B. B. Biogeographical distribution and diversity of microbes in methane hydrate-bearing deep marine sediments on the Pacific Ocean Margin. *PNAS*, v. 103, n. 8, p. 2815-2820. 2006. Disponível em:
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1413818/>>. Acesso em: 01 dez. 2013.

INSTITUT PASTEUR. *CNCM - Collection Nationale de Cultures de Microorganismes*. 2013. Disponível em <<http://www.pasteur.fr/recherche/unites/Cncm/index-en.html>>. Acesso em: 01 out. 2013.

INT – INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA. *ISMOS4, International Symposium on Applied Microbiology and Molecular Biology in Oil Systems*. In: CONGRESSO DO CENPES, 2013, Rio de Janeiro, Brasil. Disponível em: <<http://www.ismos-4.org/scope/>>. Acesso em: 01 out. 2013.

IUCS - INTERNATIONAL UNION OF CONCERNED SCIENTISTS. *Biomimicry*. 2008. Disponível em: <<http://www.iucn.org/about/work/initiatives/biotechnology/biomimicry/>>. Acesso em: 24 ago. 2008.

JACK, T. R. M.O.R.E. to M.E.O.R.: An Overview of Microbially Enhanced Oil Recovery. *Developments in Petroleum Science*, v. 39, p. 7–16, 1993.

JACKSON KELLY PLLC. Bioconversion of In-Situ Coal to Methane: Microbes Used to Convert Coal to Gaseous Fuel. *Energy & Environment Monitor*, 09 May, 2009. Disponível em: <<http://eem.jacksonkelly.com/2011/05/bioconversion-of-in-situ-coal-to-methane-microbes-used-to-convert-coal-to-gaseous-fuel.html>>. Acesso em: 01 out. 2013.

JACKSON, S.; FISHER, J. *Microbial EOR makes gains*. Case da Hart Energy e DuPont, Feb. 01 2013. Disponível em: <http://www.epmag.com/item/Microbial-EOR-gains_112054>. Acesso em: 01 out. 2013.

JACQUES, R. J. S.; BENTO, F. M.; SELBACH, P. A.; GIANELLO, C.; TEDESCO, M. J.; CAMARGO, F. A. O. Processos biotecnológicos e oportunidades na biorremediação de ambientes contaminados. *Boletim Informativo da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, v. 34, n. 1, p.17-19, jan./abr. 2009.

JAIN, R. Novel CO₂ Capture Process Suitable for Near-Term CO₂ EOR. In: SPE INTERNATIONAL CONFERENCE ON CO₂ CAPTURE, STORAGE, AND UTILIZATION, 2010, New Orleans, Louisiana, EUA. *Anais...New Orleans*: SPE, 2010. Disponível em: <<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=SPE-139740-MS>>, acesso em 13 out. 2012.

JANDA, J. M.; ABBOTT, S. L. 16S rRNA Gene Sequencing for Bacterial Identification in the Diagnostic Laboratory: Pluses, Perils, and Pitfalls. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 45, n. 9, p. 2761–2764, Sep. 2007.

JAYASEKERA, A. J. Improved Hydrocarbon Recovery in the United Kingdom Continental Shelf: Past, Present and Future, SPE 75171. In: SPE IMPROVED OIL RECOVERY SYMPOSIUM, 2002, Tulsa, OK, EUA. *Anais...Tulsa*: SPE, 2002.

JENNEMAN, G.E.; MOFFITT, P.D.; YOUNG, G.R. Application of a Microbial Selective-Plugging Process at the North Burbank Unit: Pre-pilot Tests. *Production & Facilities*, v. 11, n. 1, p. 11-17, Feb. 1996. Disponível em: <<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=00027827>>. Acesso em: 01 out. 2013.

JENSEN, T. B.; HARPOLE, K. J.; ØSTHUS, A. EOR Screening for Ekofisk. In: SPE EUROPEAN PETROLEUM CONFERENCE, 2000, Paris, France. *Anais...* Paris: SPE, 2000. Disponível em: <<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=00065124>>. Acesso em: 01 out. 2013.

JIMENEZ, J. *The Field Performance of SAGD Projects in Canada*. In: INTERNATIONAL PETROLEUM TECHNOLOGY CONFERENCE, 2008, Kuala Lumpur, Malaysia. Disponível em: <<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=IPTC-12860-MS>>. Acesso em: 13 out. 2012.

JINFENG, L.; LIJUN, M.; BOZHONG, M.; RULIN, L.; FANGTIAN, N.; JIAXI, Z. The field pilot of MEOR in a high temperature petroleum reservoir. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, v. 48, p. 265-271, 2005. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0920410505000999>>. Acesso em: 01 out. 2013.

JOHANN, P. Reservoir Geophysics in Deep and Ultra-Deep Water Oil Fields Campos Basin. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF THE BRAZILIAN GEOPHYSICAL SOCIETY, 6, 1999, Rio de Janeiro. *Anais...* Rio de Janeiro: SBGf, 1999.

JONES, C. M. A Disseminação e o Aumento da Aceitação dos Conceitos da Bio-Aumentação. In: ENCONTRO TÉCNICO-CIENTÍFICO DA ECOLATINA, 6, 2006, Belo Horizonte, MG, Brasil. *Anais...* Belo Horizonte: Ecolatina, 2006.

JONES, C. M. Aplicação do conceito de área exaurida à região de águas rasas da bacia petrolífera de Campos. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Geologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2009a. Disponível em: <http://oatd.org/oatd/record?record=oai%5C:www.btd.uerj.br%5C:505>. Acesso em: 01 out. 2013.

JONES, C. M. Gas Hydrates and Microbiological Processes, In: INTERNATIONAL COURSE PETROLEUM AND BIOTECHNOLOGY, 2, 2009, Caracas, Venezuela. *Memórias del II International Course Petroleum and Biotechnology*, Caracas: IDEA, 2009b.

JONES, C. M.; BRUNO, F. S.; COELHO, J. M.; NICHIOKA, J. M.; MIYASHITA, R.; CORNER, V.; FAUSTINO, A. L.; DI BELLO, B.; LEONE, C. C.; ANDRADE, G. N.; PINHEIRO, J.; PARREIRAS, V. M. *Monitoramento Seletivo da Informação em Segurança, Meio Ambiente e Saúde*. Apresentação de pôster. In: SEMANA DE ENGENHARIA DA UERJ, 2003, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

JONES, C. M.; BRUNO, F. S.; COELHO, J. M.; NICHIOKA, J. M.; MIYASHITA, R.; CORNER, V.; CALDAS, L. A. C. *Relatório Final do Projeto de MSI em SMS*, elaborado pelo NEPRO/UERJ, entregue à contratante do projeto em fevereiro de 2005.

JONES, C. M.; ANSELMO, A. L. F. *O Desenvolvimento, as Tendências e o Potencial Estratégico das Técnicas de MEOR (Microbial Enhanced Oil Recovery) na Indústria do Petróleo*. Monografia (Pós-Graduação em Engenharia de Petróleo e Gás Natural), Faculdade de Engenharia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2007.

JONES, C. M.; CHAVES, H. A. F. Assessment of Yet-To-Find oil in the Brazilian Pre-Salt Region. SPE-143911-PP. In: CONFERÊNCIA BRASIL OFFSHORE, 2011, Macaé, RJ, Brasil. *Anais...Macaé: SPE*, 2011. Disponível em: <http://www.spe.org/events/boec/2011/en/pages/schedule/tech_prog/documents/spe1439111.pdf>. Acesso em: 01 out. 2013.

JONES, C. M.; CHAVES, H. A. F.; DOURADO, J. D. A. A Disseminação de BEOR (Biological Enhanced Oil Recovery) e Suas Técnicas. In: BRAZILIAN SYMPOSIUM ON PETROLEUM BIOTECHNOLOGY, 2, 2006. *Anais...Natal: BSPB*, 2006.

JONES, C. M.; CHAVES, H. A. F.; DOURADO, J. D. A. New Discoveries in the Shallow Waters of the Campos Basin Fit Predictions of an Exploration Process Model. IBP3267. In: RIO OIL & GAS CONFERENCE AND EXHIBITION, 2010, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. *Anais...Rio de Janeiro: SPE*, 2010.

JONES, C. M.; DOURADO, J. D. A. Aumento da Produtividade da Carcinicultura e Redução de Lançamentos de Resíduos. In: CONGRESSO SOBRE PLANEJAMENTO E GESTÃO DA ZONA COSTEIRA DOS PAÍSES DE EXPRESSÃO PORTUGUESA, 2, 2003, Recife. *Anais... Recife*, 2003.

JONES, C. M.; DOURADO, J. D. A.; CHAVES, H. A. F. Gas Hydrates and Microbiological Processes, In: AAPG INTERNATIONAL CONGRESS AND EXHIBITION, 2009, Rio de Janeiro, Brasil. *Anais...Rio de Janeiro: AAPG*, 2009. Disponível em: <<http://www.searchanddiscovery.com/abstracts/html/2009/intl/abstracts/jones2.htm>>. Acesso em: 01 dez. 2013.

JONES, D. M.; HEAD, I. M.; GRAY, N. D.; ADAMS, J. J.; ROWAN, A. K.; AITKEN, C. M.; BENNET, B.; HUANG, H.; BROWN, A.; BOWLER, B. F. J.; OLDENBURG, T.; ERDMANN, M.; LARTER, S. R. Crude-oil biodegradation via methanogenesis in subsurface petroleum reservoirs. *Nature*, v. 451, p. 176-180, 10 Jan. 2008. Disponível em <<http://www.nature.com/nature/journal/v451/n7175/extref/nature06484-s1.pdf>>. Acesso em: 30 dez. 2012.

JØRGENSEN, L. W.; ANDERSEN, H.; SØGAARD, E.; SCHMIDT, P.; ROSENØRN, T.; HOLM-NIELSEN, J. B.; THOMSEN, J. P.; RUDYK, S. *Possibilities of Microbial Enhanced Oil Recovery implementation in the Danish chalk rocks*. 2007.

Apresentação da Aalborg University Esbjerg, Oil&Gas Technologies. Disponível em: <<http://www.docstoc.com/docs/45975709/Possibilities-of-Microbial-Enhanced-Oil-Recovery-implementation-in-the>>. Acesso em: 01 out. 2013.

JUDZIS, A.; PODDAR, A. Reviewing the Five R&D Grand Challenges Plus One. *Journal of Petroleum Technology*, Sep. 2012, p. 69-72. Disponível em <http://www.mydigitalpublication.com/display_article.php?id=1151582>. Acesso em: 30 dez. 2012.

KAEBERLEIN, T.; LEWIS, K.; EPSTEIN, S. S. Isolating "uncultivable" microorganisms in pure culture in a simulated natural environment. *Science*, v. 10, n. 296, 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12004133>>. Acesso em: 13 out. 2012.

KALLMEYER, J.; POCKALNY, R.; ADHIKARI, R. R.; SMITH, D. C.; D'HONDT, S. Global distribution of microbial abundance and biomass in subseafloor sediment. *PNAS Early Edition*, Aug. 14, 2012. Disponível em: <<http://www.pnas.org/content/early/2012/08/14/1203849109.full.pdf>>. Acesso em: 13 out. 2012.

KARANIKAS, J. M. R&D Grand Challenges • Unconventional Resources: Cracking the Hydrocarbon Molecules In Situ. *Journal of Petroleum Technology*, May 2012. Disponível em: <http://www.bluetoad.com/display_article.php?id=1043300>. Acesso em: 13 out. 2012.

KARANTH, N. G. K.; DEO, P. G. *Microbial production of biosurfactants and their importance*. 2010. Pesticide Residue Abatement Lab, Food Protectants and Infestation Control Department, Central Food Technological Research Institute, Mysore, India. Disponível em: www.iisc.ernet.in/currsci/jul10/articles19.htm>. Acesso em: 13 out. 2012.

KEASLER, V. Real-Time Field Monitoring To Optimize Microbe Control. *Journal of Petroleum Technology*, Apr. 2012. Disponível em: <<http://www.spe.org/jpt/article/200-technology-update-2012-04/>>. Acesso em: 01 out. 2013.

KELLEHER, B. Gasification may turn coal into 'clean' fuel. *MPR News*, 20 Sep. 2006. Disponível em: <<http://www.mprnews.org/story/2006/08/30/energygasification>>. Acesso em: 01 dez. 2013.

KIRSCHNER, C.; MAQUELIN, K.; PINA, P.; NGO THI, N. A.; CHOO-SMITH, L.-P.; SOCKALINGUM, G. D.; SANDT, C.; AMI, D.; ORSINI, F.; DOGLIA, S. M.; ALLOUCH, P.; MAINFAIT, M.; PUPPELS, G. J.; NAUMANN, D. Classification and Identification of Enterococci: a Comparative Phenotypic, Genotypic, and Vibrational Spectroscopic Study. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 39, n. 5, p. 1763-1770, 2001. Disponível em: <<http://jcm.asm.org/content/39/5/1763.short>>. Acesso em: 01 out. 2013.

KIWI WEB. *Surfactants: Surface Active Agents*. Chemistry and New Zeland website. 2011. Disponível em: <<http://www.chemistry.co.nz/surfactants.htm>>. Acesso em: 01 out. 2013.

KLEIN, A.; MIZUSAKI, A. M. P. Cimentação Carbonática em Reservatórios Siliciclásticos – O Papel da Dolomita. *Revista Pesquisas em Geociências*, v. 34, n. 1, p. 91-108, 2007. Disponível em: <<http://seer.ufrgs.br/PesquisasemGeociencias/article/view/19465>>. Acesso em: 01 out. 2013.

KNAW - ROYAL NETHERLANDS ACADEMY OF ARTS AND SCIENCES. *NCCB – Netherlands Culture Collection of Bacteria*. 2013. Formerly LMD and Phabagen. Fungal Biodiversity Centre, Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences. Disponível em: <<http://www.cbs.knaw.nl/index.php/the-netherlands-culture-collection-of-bacteria-nccb-formerly-lmd-and-phabagen>>. Acesso em: 01 out. 2013.

KOBAYASHI, H.; KAWAGUCHI, H.; ENDO, K.; MAYUMI, D.; SAKATA, S.; IKARASHI, M.; MIYAGAWA, Y.; MAEDA, H.; SATO, K. Analysis of methane production by microorganisms indigenous to a depleted oil reservoir for application in Microbial Enhanced Oil Recovery. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v. 113, n. 1, Jan. 2012, p. 84–87. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1389172311003768>>. Acesso em: 01 out. 2013.

KOKAL, S., AL-KAABI, A. *Enhanced Oil Recovery: Challenges & Opportunities*. World Petroleum Council: Official Publication, 2010. Disponível em: <http://www.world-petroleum.org/docs/docs/publications/2010yearbook/P64-69_Kokal-Al_Kaabi.pdf>. Acesso em: 13 out. 2012.

KOWALEWSKI, E.; RUESLÄTTEN, I.; GILJE, E.; SUNDE, E.; BØDTKER, G.; LILLEBØ, P. B.-L.; TORSVIK, T.; STENSEN, J. Å.; BJØRKVIK, B.; STRAND, K. A. Interpretation of microbial oil recovery from laboratory experiments. In: European Symposium on Improved Oil Recovery, 13, 2005, Budapest, Hungary. *Proceedings...* Budapest, 2005a. Disponível em: <<http://toc.proceedings.com/17324webtoc.pdf>>. Acesso em: 01 out. 2013.

KOWALEWSKI, E.; RUESLÄTTEN, I.; BOASSEN, T.; SUNDE, E.; SUNDE, E.; STENSEN, J. Å.; LILLEBØ, B. L. P.; BØDTKER, G.; TORSVIK, T. *Analyzing Microbial Improved Oil Recovery Processes from Core Floods*. In: INTERNATIONAL PETROLEUM TECHNOLOGY CONFERENCE, 2005b, Doha, Qatar. Disponível em: <<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=IPTC-10924-MS>>. Acesso em: 01 out. 2013.

KUNITSKY, C., OSTERHOUT, G., SASSER, M. *Identification of microorganisms using fatty acid methyl ester (FAME) analysis and the MIDI Sherlock® microbial identification system*. 2013. MIDI, Inc., Newark, DE, EUA. Disponível em: <https://store.pda.org/TableOfContents/ERMM_V3_Ch01.pdf>. Acesso em: 14 abr. 2013.

KUZNETSOVA, A. M., KHOKHLOVA, O. S. Submicromorphology of pedogenic carbonate accumulations as a proxy of modern and paleoenvironmental conditions (Submicromorfología de acumulaciones pedogénicas de carbonatos como representante de condiciones modernas y paleoambientales). *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, versión On-line, v. 64, n. 2, ago. 2012.

KUUSKRAA, V. A. *Maximizing oil recovery efficiency and sequestration of CO₂ with "Game Changer" CO₂-EOR technology*. 2010. Site de Next Big Future. Disponível em: <<http://nextbigfuture.com/2010/01/singularity-technology-is-not-needed-to.html>>. Acesso em: 13 out. 2012.

KYAW, C. M. *Biofilmes Microbianos*. [2010?]. Apostila de aula - Microbiologia, Centro de Estudos Norma Gill, São Paulo, SP. Disponível em <<http://cenormagill.com.br/artigos/Biofilmes%20Microbianos.pdf>>. Acesso em 13 out. 2013.

LABEM - LABORATÓRIO DE BIOTECNOLOGIA E ECOLOGIA DE MICRORGANISMOS. *Site institucional do LABEM – UFBA*. 2013. Disponível em: <<http://www.microbiologia.ufba.br/extens%E3o.htm>>. Acesso em: 01 out. 2013.

LABORATORY NEWS. *History of the Agar Plate*. 2012. Disponível em: <<http://www.labnews.co.uk/features/history-of-the-agar-plate/>>. Acesso em: 13 out. 2012.

LABVIRTUAL. *Portal Laboratórios Virtuais de Processos Químicos*. 2012. Dept. de Engenharia Química, Polo II, Universidade de Coimbra. Disponível em: <http://labvirtual.eq.uc.pt/siteJoomla/index.php?option=com_content&task=view&id=150&Itemid=303>. Acesso em: 13 out. 2012.

LAHERRÈRE, J. *World 2P discoveries & modeling 3 cycles*. The Oil Drum, postado 08-11-2011. Disponível em: <http://www.theoil Drum.com/tag/jean_laherr_re>. Acesso em: 13 out. 2012.

LAKE, L. W.; SCHMIDT, R. L.; VENUTO, P. B. A Niche for enhanced oil recovery in the 1990s. *Oilfield Review*, Jan. 1992, p. 55-61.

LAZAR, I.; VOICU, A.; NICOLESCU, C.; MUCENICA, D.; DOBROTA, S.; PETRISOR, A. I. G.; STEFANESCU, M.; SANDULESCU, L. The use of naturally occurring selectively isolated bacteria for inhibiting paraffin deposition. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, v. 22, n. 1-3, p. 161-169, Jan. 1999. Disponível em: <<https://www.sciencebase.gov/catalog/file/get/505361d6e4b097cd4fcd6ca9>>. Acesso em: 01 out. 2013.

LAZAR, I.; PETRISOR, I. G.; YEN, T. F. Microbial Enhanced Oil Recovery (MEOR). *Petroleum Science and Technology*, v. 25, p. 1353-1366, 2007. Disponível em: <http://www.che.ncsu.edu/ILEET/CHE596web_Fall2011/resources/petroleum/EOR-Microbial.pdf>. Acesso em: 15-04-2013.

LAZAR, I. I.; STEFANESCU, M. M.; DOBROTA, S. C. MEOR, the Suitable Bacterial Inoculum According to the Kind of Technology Used: Results from Romania's Last 20 Years' Experience. In: SPE/DOE ENHANCED OIL RECOVERY SYMPOSIUM, 1994, Tulsa, Oklahoma, EUA. *Anais...*Tulsa: SPE, 1994. Disponível em: <<http://www.onepetro.org/mslib/app/Preview.do?paperNumber=00024207&societyCode=SPE>>. Acesso em: 01 out. 2013.

LE BORGNE, S; QUINTERO, R. Biotechnological processes for the refining of petroleum. *Fuel Processing Technology*, n. 81, p. 155-169, 2003. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378382003000079>>. Acesso em: 01 out. 2013.

LEFERINK, R. G. I., HUIJBREGTS, W. M. M. Nitrate stress corrosion cracking in waste heat recovery boilers. *Anti-Corrosion Methods and Materials*, v. 49, n.2, pp.118-126, 2002. Disponível em: <<http://www.emeraldinsight.com/journals.htm?articleid=876735&show=abstract>>. Acesso em: 01 out. 2013.

LEIBNIZ INSTITUTE. *DSMZ - German Collection of Microorganisms and Cell Cultures*. 2013, Disponível em: <<http://www.dsmz.de/about-us.html>>. Acesso em: 01 out. 2013.

LEIS, J.; McCREERY, J.; GAY, J. C. *National oil companies reshape the playing field*. Bain & Company Insights, Oct. 10, 2012. Disponível em: <http://www.bain.com/Images/BAIN_BRIEF_National_oil_companies_reshape_the_playing_field.pdf>. Acesso em: 01 out. 2013.

LI, Q.; KANG, C.; ZHANG, C., WANG, H., LIU, C., ZHANG, C. Application of microbial enhanced oil recovery technique to Daqing Oilfield. *Biochemical Engineering Journal*, v. 11, p. 197–199, 2002. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369703X02000256>>. Acesso em: 01 out. 2013.

LI, Q.; KANG, C.; ZHANG, C. Wastewater produced from an oilfield and continuous treatment with an oil-degrading bacterium. *Process Biochemistry*, v. 40, n. 2, p. 873-877, 2005.

LICCARDO, A. *Geologia da Bacia do Paraná*. Apresentação no site da Geoturismobrasil.com. 2009. Disponível em: <<http://www.geoturismobrasil.com/Material%20didatico/1%20-%20Geologia%20Bacia%20do%20Paran%C3%A1.pdf>>. Acesso em: 01 out. 2013.

LIMA, H. P. *A Sucessão Siliciclástica-Carbonática Neocarbonífera da Bacia do Amazonas, Regiões de Monte Alegre e Itaituba (PA)*. Dissertação (Mestrado), UFPA, Belém, 2010. Disponível em: <<http://www.repositorio.ufpa.br/jspui/handle/2011/2608>>. Acesso em: 01 out. 2013.

LIN, J.; BALLIM, R. Biocorrosion control: Current strategies and promising alternatives. *African Journal of Biotechnology*, v. 11, n. 91, p. 15736-15747, 13 Nov. 2012. Disponível em: <<http://www.academicjournals.org/ajb/PDF/pdf2012/13Nov/Lin%20and%20Ballim.pdf>>. Acesso em: 09 dez. 2012.

LINDQUIST, J. *An Introduction to Bacterial Identification: Genotypic Identification*. 2012. John's Bacteriology Pages. Disponível em: <<http://www.jlindquist.net/generalmicro/102bactid3.html>>. Acesso em: 13 out. 2012.

LOBO, L. Q.; FERREIRA, A. G. M. *Termodinâmica e Propriedades Termofísicas, Volume I*, Termodinâmica das Fases. Imprensa da Universidade de Coimbra: Coimbra, 2006. Disponível em: <http://www.uc.pt/imprensa_uc/catalogo/ensino/termodinamica1>. Acesso em: 13 out. 2012.

LODISH, H.; BERK, A.; ZIPURSKY, S. L. *Molecular Cell Biology*, 4th Ed.; New York: W. H. Freeman, 2000.

LOPES, F. M. V., MONTEIRO, A. M. R. *Como se constroem e destroem as rochas carbonatadas?* 2010. Site do Modelo Cársico no Conselho de Loulé, Disponível em: <http://sapiens.no.sapo.pt/m-carsico/docs/rochas_carbonatadas.pdf>. Acesso em: 01 out. 2013.

LOUREIRO, E. *Sergipe-Alagoas Basin*. 2013. Apresentação para o roadshow da ANP para a 11ª Rodada de Licitações. Disponível em: <http://www.brasil-rounds.gov.br/arquivos/Seminarios_r11/tec_ambiental/ingles/Sergipe-Alagoas_Basin.pdf>, em 01 dez. 2013.

LUCCHESI, C. F. Petróleo. *Estudos Avançados*, v. 12, n. 33, 1998. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-40141998000200003>. Acesso em: 01 out. 2013.

LUNGWITZ, B.; HATHCOCK, R.; KOERNER, K.; BYRD, D.; GRESKO, M.; SKOPEC, R.; MARTIN, W.; FREDD, C. CAVAZZOLI, G. Optimization of Acid Stimulation for a Loosely Consolidated Brazilian Carbonate Formation - Multi-Disciplinary Laboratory Assessment and Field Implementation. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM AND EXHIBITION ON FORMATION DAMAGE CONTROL, 2006, Lafayette, Louisiana, EUA. *Anais...*Lafayette: SPE, 2006. Disponível em: <<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetroreview?id=SPE-98357-MS>>. Acesso em: 01 out. 2013.

LUVIELMO, M. M.; SCAMPARINI, A. R. P. Goma xantana: produção, recuperação, propriedades e aplicação. *Estudos tecnológicos* – v. 5, n. 1, p. 50-67, jan./abr. 2009. Disponível em: <<http://www.estudostecnologicos.unisinos.br/pdfs/105.pdf>>. Acesso em: 30 dez. 2012.

LYNCH, R. C.; KING, A. J.; FARIAS, M. E.; SOWELL, P.; VITRY, C.; SCHMIDT, S. K. The potential for microbial life in the highest elevation (>6000 m.a.s.l.) mineral soils of the Atacama region, *Journal of Geophysical Research*, v. 117, G02028, 2012. Disponível em: <<http://www.agu.org/pubs/crossref/2012/2012JG001961.shtml>>. Acesso em: 13 out. 2012.

MAIA, P. *Análise das Séries Históricas da Produção e Reservas de Óleo e Gás: Auto-Suficiência por Quanto Tempo?* Monografia (Graduação), Faculdade de Geologia, UERJ, 2009. Disponível em: <<http://www.fgel.uerj.br/depa/prh17/trabalho%20final%20patricia.pdf>>. Acesso em: 01 out. 2013.

MAGNAVITA, L. P.; SILVA, R. R.; SANCHES, C. P. Guia de Campo da Bacia do Recôncavo, NE do Brasil. *Boletim de Geociências da Petrobras*, Rio de Janeiro, v. 13, n. 2, p. 301-334, mai/nov 2005.

MANCINI, E. A. *Improved Oil Recovery from Upper Jurassic Smackover Carbonates through the Application of Advanced Technologies at Womack Hill Oil Field, Choctaw and Clarke Counties, Eastern Gulf Coastal Plain*. Report dated Apr 30, 2003, US DOE Award Number DE-FC26-00BC15129. Disponível em: <<http://www.osti.gov/scitech/biblio/922531>>. Acesso em: 01 out. 2013.

MANCINI, E. A.; LLINAS, J. C.; PARCELL, W. C.; AURELL, M.; BADENAS, B.; LEINFELDER, R. R.; BENSON, D. J. Upper Jurassic thrombolite reservoir play, Northeastern Gulf of Mexico. *AAPG Bulletin*, v. 88, n. 11, p. 1573-1602, Nov. 2004. Disponível em: <<http://archives.datapages.com/data/bulletns/2004/11nov/1573/1573.HTM?q=%2BtitleStrip%3Aupper+titleStrip%3Ajurassic+titleStrip%3Athrombolite>>. Acesso em: 01 out. 2013.

MANRIQUE, E., GURFINKEL, M., MUCI, V. *Enhanced Oil Recovery Field Experiences in Carbonate Reservoirs in the United States*. In: International Energy Agency Annual Workshop and Symposium, Collaborative Project on Enhanced Oil Recovery, 25, 2004, Stavanger, Norway. Disponível em: <http://www.netl.doe.gov/KMD/cds/disk44/F-General/IEA_report.pdf>. Acesso em: 28-07-2013.

MAUDGALYA, S.; KNAPP, R. M.; McINERNEY, M. J. Microbially Enhanced Oil Recovery Technologies. A Review of the Past, Present and Future (Paper Number 106978-MS). In: SPE PRODUCTION AND OPERATIONS SYMPOSIUM, 2007, Oklahoma City, OK, EUA. *Anais...Oklahoma City: SPE*, 2007. Disponível em: <<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=SPE-106978-MS>>. Acesso em: 30 ago. 2008.

MAURE, A.; DIETRICH, F.; GOMEZ, U.; VALLESI, J.; IRUSTA, M. Waterflooding Optimization Using Biotechnology: 2-Year Field Test, La Ventana Field, Argentina. In: SPE LATIN AMERICAN AND CARIBBEAN PETROLEUM ENGINEERING CONFERENCE, 2001, Buenos Aires, Argentina. *Anais...Buenos Aires: SPE*, 2001.

Disponível em:

<<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=00069652>>. Acesso em: 01 out. 2013.

MAURE, A.; SALDAÑA, A. A.; JUAREZ, A. R. Biotechnology Applications to EOR in Talara Offshore Oil Fields, Northwest Peru. In: SPE LATIN AMERICAN AND CARIBBEAN PETROLEUM ENGINEERING CONFERENCE, 2005, Rio de Janeiro, Brasil. *Anais...* Rio de Janeiro: SPE, 2005. Disponível em:

<<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=SPE-94934-MS>>. Acesso em: 01 out. 2013.

MCCARTHY, K.; WALKER, L.; VIGOREN, L.; BARTEL, J. Remediation of spilled petroleum hydrocarbons by in situ landfarming at an arctic site. *Cold Regions Science and Technology*, n. 40, p. 31-39, 2004.

McGEE, T. *Constructal Theory: Introduction to the Inverse of Biomimicry*. 2006.

Treehugger. Disponível em: <<http://www.treehugger.com/natural-sciences/constructal-theory-introduction-to-the-inverse-of-biomimicry.html>>. Acesso em: 10 set. 2012.

MDE INC. *Frequently Asked Questions About Microbiologically Influenced Corrosion (MIC)*. 2013. Disponível em: <http://www.mde.com/publications/MIC_QA.pdf>.

Acesso em: 01 out. 2013.

MEOR – MICROBIAL ENHANCED OIL RECOVERY LLC. *Paraffin Eliminator*. 2013.

Disponível em: <<http://www.petro-genesis.com/TSTMPamphlet.doc>>. Acesso em: 01 out. 2013.

MENN, F. M.; EASTER, J. P.; SAYLER, G. S. Genetically engineered microorganisms and bioremediation. In: REHM, H. J.; REED, G. (Eds). *Biotechnology: Environmental Processes II*, p. 442–463, 2000.

MEZZOMO, R. F. *Introdução à Engenharia de Petróleo: Aula No. 8*. Rio de Janeiro: Faculdade de Engenharia, UERJ, 2006a. Apostila do curso de Pós-Graduação em Engenharia de Petróleo e Gás Natural.

MEZZOMO, R. F. *Introdução à Engenharia de Petróleo, Aula No. 23*. Rio de Janeiro: Faculdade de Engenharia, UERJ, 2006b. Apostila do curso de Pós-Graduação em Engenharia de Petróleo e Gás Natural.

MEZZOMO, R. F. *Introdução à Engenharia de Petróleo, Aula No. 12*. Rio de Janeiro: Faculdade de Engenharia, UERJ, 2006c. Apostila do curso de Pós-Graduação em Engenharia de Petróleo e Gás Natural.

MEZZOMO, R. F. *Introdução à Engenharia de Petróleo, Aula No. 21*. Rio de Janeiro: Faculdade de Engenharia, UERJ, 2006d. Apostila do curso de Pós-Graduação em Engenharia de Petróleo e Gás Natural.

MICRO-BAC - MICRO-BAC INTERNATIONAL INC. *Site corporativo*. 2013. Disponível em: <<http://www.micro-bac.com>>. Acesso em: 01 out. 2013.

MICROBES ORG. *Microbes*. 2012. Disponível em: <<http://microbes.org/>>. Acesso em: 13 out. 2012.

MIERZWA, J. C. *Equilíbrio de carbonatos – conceitos e cálculos*. São Paulo: Escola Politécnica da USP – Departamento de Engenharia Hidráulica e Sanitária, 2008. PHA5744 – Projeto de sistemas de tratamento de água, Aula 10. Disponível em: <http://200.144.189.97/phd/default.aspx?id=82&link_uc=disciplina>. Acesso em: 28 jul. 2013.

MILANI, E. J.; BRANDÃO, J. A. S. L.; ZALÁN, P. V.; GAMBOA, L. A. P. Petróleo na margem continental brasileira: geologia, exploração, resultados e perspectivas. *Revista Brasileira de Geofísica*, v.18, n.3, São Paulo, 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-261X2000000300012&script=sci_arttext>. Acesso em: 01 out. 2013.

MILANI, J.; ARAÚJO, L. M. Recursos Minerais Energéticos: Petróleo. In: BIZZI, L. A.; SCHOBENHAUS, C.; VIDOTTI, R. M.; GONÇALVES, J. H. (Ed.). *Geologia, Tectônica e Recursos Minerais do Brasil*. Brasília, DF: CPRM, 2003a. Capítulo X, p. 541-552. Disponível em: <http://www.cprm.gov.br/publique/media/capX_a.pdf>. Acesso em: 30 set. 2013.

MILANI, J.; ARAÚJO, L. M. Recursos Minerais Energéticos: Petróleo – Capítulo X-b, p. 553-564. In: BIZZI, L. A.; SCHOBENHAUS, C.; VIDOTTI, R. M.; GONÇALVES, E. J. H. (Eds.). *Geologia, Tectônica e Recursos Minerais do Brasil*. Brasília: CPRM, 2003b. Disponível em: <http://www.cprm.gov.br/publique/media/capX_b.pdf>. Acesso em: 30 set. 2013.

MILANI, J.; ARAÚJO, L. M. Recursos Minerais Energéticos: Petróleo – Capítulo X-c, p. 565-576. In: BIZZI, L. A.; SCHOBENHAUS, C.; VIDOTTI, R. M.; GONÇALVES, E. J. H. (Eds.). *Geologia, Tectônica e Recursos Minerais do Brasil*. Brasília: CPRM, 2003c. Disponível em: <http://www.cprm.gov.br/publique/media/capX_c.pdf>. Acesso em: 30 set. 2013.

MINEROPAR – SERVIÇO GEOLÓGICO DO PARANÁ. *Royalties e Compensação Financeira pela Exploração Mineral no Paraná – 2004 a 2009*. 2010. Disponível em: <http://www.mineropar.pr.gov.br/arquivos/File/publicacoes/Royalties_e_CFEM_2004_2009.pdf>. Acesso em: 01 dez. 2013.

MITCHELL ENERGY. *Microbial Coal Conversion – Bioconversion*. 2013. Disponível em: <<http://www.mitchellenergy.com.au/services/environment-efficiency/>>. Acesso em: 01 out. 2013.

MOHEBALI, G.; BALL, A. S. Biocatalytic desulfurization (BDS) of petrodiesel fuels. *Microbiology*. V. 154(Pt 8), p. 2169-83, Aug. 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18667551>>. Acesso em: 01 out. 2013.

MOHRIAK, W. U. Bacias Sedimentares da Margem Continental Brasileira – Capítulo III-a. In: BIZZI, L. A.; SCHOBENHAUS, C.; VIDOTTI, R. M.; GONÇALVES, E. J. H. (Eds.). *Geologia, Tectônica e Recursos Minerais do Brasil*. Brasília: CPRM, 2003. Disponível em: <<http://www.cprm.gov.br/publique/media/capIII-a.pdf>>. Acesso em: 13 set. 2013.

MOKHATAB, S.; GIANGIACOMO, L. A. Microbial enhanced oil recovery techniques improve production. *World Oil*, v. 227, n. 10, Oct. 2006. Disponível em: <<http://www.worldoil.com/October-2006-Microbial-enhanced-oil-recovery-techniques-improve-production.html>>. Acesso em: 01 out. 2013.

MONTICELLO, D. J. *Biodesulfurization and the upgrading of petroleum distillates*. 2000. Disponível em: <http://sites.petrobras.com.br/minisite/premiotecnologia/pdf/refino_petroleum-upgrading.pdf>. Acesso em: 01 out. 2013.

MORRISON, C. *A Microbe That Could Keep Coal in the Ground*. CBS MoneyWatch, 29 Jun. 2009, 7:47 PM EDT. Disponível em: <<http://www.cbsnews.com/news/a-microbe-that-could-keep-coal-in-the-ground/>>. Acesso em: 01 out. 2013.

MORSY, S.; SHENG, J. J.; GOMAA, A. M.; SOLIMAN, M. Y. Potential of Improved Waterflooding in Acid-Hydraulically-Fractured Shale Formations (SPE 166403). In: SPE ANNUAL TECHNICAL CONFERENCE AND EXHIBITION, 2013, New Orleans, Louisiana, EUA. *Anais...New Orleans*: SPE, 2013. Disponível em: <http://www.spe.org/atce/2013/pages/schedule/tech_program/documents/spe166403-page1.pdf>. Acesso em: 01 out. 2013.

MSU – MISSISSIPPI STATE UNIVERSITY. *Bacteria and Oil Production*. College of Arts and Sciences. 2013. Disponível em: <<http://geosciences.msstate.edu/people/lynch/MEOR.htm>>. Acesso em: 01 out. 2013.

MTCC – MICROBIAL TYPE CULTURE COLLECTION AND GENE BANK. *Site institucional*. 2013. Disponível em: <<http://mtcc.imtech.res.in/index.php>>. Acesso em: 24-01-2013.

MTI - METALLURGICAL TECHNOLOGIES INC. *Biological Corrosion of Metals*. Failure Analysis site, posted 02 June 2010. Disponível em: <<http://failure-analysis.info/2010/06/biological-corrosion-of-metals/>>. Acesso em: 01 out. 2013.

MURICY, A. *Décima Rodada de Licitações - Bacia do Recôncavo*. 2008. Apresentação para o roadshow da ANP para a 10ª Rodada de Licitações. Disponível em: <http://www.brasil-rounds.gov.br/round10/arquivos/seminarios/STA_9_Bacia_do_Reconcavo_portugues.pdf>. Acesso em: 01 out. 2013.

MURNAGHAN, I. *PCR Analysis - Polymerase Chain Reaction*. 2010. Site da Explore DNA. Disponível em: <<http://www.exploredna.co.uk/pcr-analysis.html>>. Acesso em: 13 out. 2012.

MURRELL, J. C. Molecular genetics of methane oxidation. *Biodegradation*, v. 5, n. 3-4, p. 145-159, 1994. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007%2F00696456>>. Acesso em: 01 dez. 2013.

MUYZER, G. DGGE/TGGE a method for identifying genes from natural ecosystems. *Current Opinion in Microbiology*, v. 02, p. 317-322, 1999.

NADARAJAH, N.; SINGH, A.; WARD, O. P. De-emulsification of petroleum oil emulsion by a mixed bacterial culture. *Process Biochemistry*, v. 37, p. 1135-1141, 2002. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032959201003259>>. Acesso em: 01 out. 2013.

NAGASE, K.; ZHANG, S. T.; ASAMI, H.; YAZAWA, N.; FUJIWARA, K.; ENOMOTO, H.; HONG, C. X.; LIANG, C. X. Improvement of Sweep Efficiency by Microbial EOR Process in Fuyu Oilfield, China, SPE 68720-MS. In: SPE ASIA PACIFIC OIL AND GAS CONFERENCE AND EXHIBITION, 2001, Jakarta, Indonesia. *Anais...Jakarta: SPE*, 2001. Disponível em: <<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=00068720>>. Acesso em: 01 out. 2013.

NATURE. *Number of Species on Earth Tagged at 8.7 Million*. 24 Aug. 2011. Disponível em: <<http://www.nature.com/news/2011/110823/full/news.2011.498.html>>. Acesso em: 13 out. 2012.

NELSON, L.; SCHNEIDER, D. R. Six Years of Paraffin Control and Enhanced Oil Recovery with the Microbial Product, Para-Bac™. *Developments in Petroleum Science*, v. 39, p. 355-362, 1993. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037673610970072X>>. Acesso em: 01 out. 2013.

NEMATI, M., JENNEMAN, G. E., VOORDUOW, G. Impact of Nitrate-Mediated Microbial Control of Souring in Oil Reservoirs on the Extent of Corrosion. *Biotechnology Progress*, v. 17, n. 5, p. 852-859, 2001. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1021/bp010084v/abstract>>. Acesso em: 01 out. 2013.

NEPOMUCENO, F. Experiências da Petrobras no Caminho do Pré-Sal. In: RIO OIL & GAS EXPO AND CONFERENCE, 2008, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. *Anais...Rio de Janeiro: IBP*, 2008. Disponível em: <<http://pt.slideshare.net/petrobrasri/18-092008-francisco-nepomuceno-filho-na-rio-oil-and-gas-expo-conference-no-rio-de-janeiro>>. Acesso em: 01 dez. 2013.

NETL - NATIONAL ENERGY TECHNOLOGY LABORATORY. *CO₂ EOR Technology – Technology for Tomorrow's E&P Paradigms*. 2006. Disponível em: <<http://www.netl.doe.gov/technologies/oil-gas/publications/brochures/CO2brochure.pdf>>. Acesso em: 13 out. 2012.

NETL - NATIONAL ENERGY TECHNOLOGY LABORATORY. *Comprehensive Investigation of the Biogeochemical Factors Enhancing Microbially Generated Methane in Coal Beds*. 2008. Disponível em: <<http://www.netl.doe.gov/technologies/oil-gas/EPAAct2005/Projects/UNC/0712214-CSM.html>>. Acesso em: 01 out. 2013.

NETL - NATIONAL ENERGY TECHNOLOGY LABORATORY. *Improvement of Carbon Dioxide Sweep Efficiency by Utilization of Microbial Permeability Modification to Reduce the Amount of Oil Bypassed during Carbon Dioxide Flood*. Oil & Natural Gas Projects, Exploration and Production Technologies, Reviewed 20 Oct. 2011. Disponível em: <<http://www.netl.doe.gov/technologies/oil-gas/Petroleum/projects/EP/ImprovedRec/15458CO2Sweep.html>>. Acesso em: 13 out. 2012.

NETL - NATIONAL ENERGY TECHNOLOGY LABORATORY. *Exploration Technologies - EOR Process Drawings*. 2012. Disponível em: <<http://www.netl.doe.gov/technologies/oil-gas/eor/eordraw.html>>. Acesso em: 13 out. 2012.

NETL - NATIONAL ENERGY TECHNOLOGY LABORATORY. Electron Transfer Dynamics in Photocatalytic CO₂ Conversion. *NewsRoom, Lab Notes*, Mar 2013. 2013a. Disponível em: <http://www.netl.doe.gov/newsroom/labnotes/2013/03_2013/03-2013.html>. Acesso em: 01 out. 2013.

NETL - NATIONAL ENERGY TECHNOLOGY LABORATORY. BOEM Releases Assessment of In-Place Gas Hydrate Resources of the Lower 48 United States Outer Continental Shelf. *Fire in the Ice, Methane Hydrate Newsletter*, v. 13, n. 1, 2013b. Disponível em: <http://www.netl.doe.gov/technologies/oil-gas/publications/Hydrates/Newsletter/MHNews_2013_March.pdf>. Acesso em: 01 dez. 2013.

NETL - NATIONAL ENERGY TECHNOLOGY LABORATORY. Japan Completes First Offshore Methane Hydrate Production Test—Methane Successfully Produced from Deepwater Hydrate Layers. *Fire in the Ice, Methane Hydrate Newsletter*, v. 13, n. 2, 2013c. Disponível em: <http://www.netl.doe.gov/technologies/oil-gas/publications/Hydrates/Newsletter/MHNews_2013_October.pdf>. Acesso em: 01 dez. 2013.

NETZ, P. A.; ORTEGA, G. G. *Fundamentos de Físico-Química: uma abordagem conceitual para as ciências farmacêuticas*. Porto Alegre: Artmed, 2008. Disponível em: <<http://books.google.com.br>>. Acesso em: 30 dez. 2012.

NEUMANN, V. H.; VALENÇA, L. M. M. *Rochas Carbonáticas: Petrografia, Diagênese e Porosidade*. 2012. Disponível em: <<http://www.slideshare.net/dimexdg/carbonatos>>. Acesso em: 01 out. 2013.

NEVES, S. M. N.; GUEDES, R. M. C. Hibridização *in situ* fluorescente: princípios básicos e perspectivas para o diagnóstico de doenças infecciosas em medicina veterinária, Artigo de Revisão. *Arquivos do Instituto Biológico*, Secretaria de Agricultura e Abastecimento, SP, v. 79, n. 4, p. 627-632, out.-dez. 2012. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v79_4/neves.pdf>. Acesso em: 01 out. 2013.

NIH - NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. *Fluorescence In Situ Hybridization (FISH), Fact Sheets*. 2011. National Human Genome Research Institute. Disponível em: <<http://www.genome.gov/10000206>>. Acesso em: 01 out. 2013.

NMT – NEW MEXICO TECH. *Potential for Polymer Flooding Reservoirs with Viscous Oils*. 2012. New Mexico Petroleum Recovery and Research Center. Disponível em: <http://baervan.nmt.edu/research_groups/reservoir_sweep_improvement/pages/PolymerPotentialWeb/PolymerPotentialWeb.html>. Acesso em: 30 dez. 2012.

NORDYKE, M. D. The Soviet Program for Peaceful Uses of Nuclear Explosions. *Science & Global Security*, v. 7, pp. 1-117, 1998. Disponível em: <http://www.princeton.edu/sgs/publications/sgs/pdf/7_1nordyke.pdf>. Acesso em: 30 dez. 2012.

NTNU – NORGES TEKNISK-NATURVITENSKAPELIGE UNIVERSITET. *Biological polymers: Mesoscale structure formation and interactions*. 2012. NTNU Biopolymer Group. Disponível em: <<http://home.phys.ntnu.no/brukdef/prosjekter/biopolymerphysics/index.html>>. Acesso em: 30 dez. 2012.

O GLOBO. *Caldeira da Vida*. 2004. Globo Repórter. Disponível em: <<http://www.redeglobo6.globo.com/TVGlobo/Jornalismo/Semanal/globoreporter>>. Acesso em: 29 abr. 2004.

OCHIENG, A.; ODIYO, J. O.; MUTSAGO, M. Biological treatment of mixed industrial wastewaters in fluidized bed reactor, *Journal of Hazardous Materials*, v. B96, p. 79-90, 2002.

OFFSHORE MAGAZINE. Norway: Statoil introduces bacteria method for boosting Norne recovery. *Offshore Magazine Online*, 1 Apr. 2006. Disponível em: <<http://www.offshore-mag.com/articles/print/volume-61/issue-4/news/norway-statoil-introduces-bacteria-method-for-boosting-norne-recovery.html>>. Acesso em: 05 set. 2006.

OGX. *Campo de Tubarão Azul - OGX define nível de produção por poço no campo de Tubarão Azul*. 2012. Disponível em: <<http://www.ogx.com.br/pt/nossos->

negocios/producao/bacia-de-campos/tubaraoazul/Paginas/noticia-detalhe.aspx?news=208>. Acesso em: 13 out. 2012.

OH, S.; YODER-HIMES, D. R.; TIEDJE, J.; PARK, J.; KONSTANTINIDIS, K. T. Evaluating the Performance of Oligonucleotide Microarrays for Bacterial Strains with Increasing Genetic Divergence from the Reference Strain. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 76, n. 9, p. 2980-2988, May 2010. Disponível em: <<http://aem.asm.org/content/76/9/2980.full>>. Acesso em: 01 out. 2013.

O&GJ - OIL & GAS JOURNAL. *Producing CO2, Other Gas, and Chemical EOR in US*. 2012 Worldwide EOR Survey. 04 Feb. 2012. Disponível em: <<http://www.ogj.com/articles/print/vol-110/issue-4/general-interest/special-report-eor-heavy-oil-survey/2012-worldwide-eor-survey.html>>. Acesso em: 13 out. 2012.

OIL CHEM TECHNOLOGIES. *Enhanced Oil Recovery - Alkali Surfactant Polymer Flood (ASP)*. 2012. Disponível em: <<http://www.oil-chem.com/asp.htm>>. Acesso em: 13 out. 2012.

OIL SANDS TRUTH. *Tar Sands 101*. 2012. Disponível em: <<http://oilsandstruth.org/>>. Acesso em: 30-12-2012.

OKLAHOMA UNIVERSITY. *Microbially Enhanced Oil Recovery Research Laboratory Report*. 2005. Disponível em: <<http://bomi.ou.edu/mcinerney/meor1.htm>>. Acesso em: 19 jan. 2005.

OSDG – OIL SANDS DEVELOPERS GROUP. *Responsible Oil Sands Development - Steam Assisted Gravity Drainage (SAGD)*. 2012. Disponível em: <<http://www.oilsandsdevelopers.ca>>. Acesso em: 13 out. 2012.

OTC – OFFSHORE TECHNOLOGY CONFERENCE. *Corporate Awards - OTC Distinguished Achievement Awards for Companies, Organizations, and Institutions*. 2013. Disponível em: <http://www.otcnet.org/pages/awards/awards_corp.php>. Acesso em: 01 out. 2013.

PAULSEN, J. E. et al. *Biologically Controlled Water Diversion Demonstrated by New Visual Experimental Technique*. In: EUROPEAN PETROLEUM CONFERENCE, 1994, London, UK. Disponível em: <<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=00028830>>. Acesso em: 01 out. 2013.

PAULSEN, J. E.; OPPEN, E.; VATLAND, A.; HANSSEN, J. E. Creating near-zero discharge in Norway: A novel environmental solution. *WorldOil.com Magazine*, v. 223, n. 12, Dec. 2002. Disponível em: <http://www.worldoil.com/magazine/magazine_detail.asp?ART_ID=1902>. Acesso em: 13 out. 2012.

PEMBINA INSTITUTE. *Oil Sands*. 2012. Disponível em: <<http://www.pembina.org/oil-sands>>. Acesso em: 30-12-2012.

PEREIRA, G. C. R. *Avaliação de Recursos de Petróleo Não Descobertos (Yet-To-Find-Oil) na Bacia de Sergipe/Alagoas*. Monografia (Conclusão de Curso de Graduação), Faculdade de Geologia, UERJ, 2012.

PERFUMO, A.; SMYTH, T. J. P.; MARCHANT, R.; BANAT, I. M. *Production and Roles of Biosurfactants and Bioemulsifiers in Accessing Hydrophobic Substrates*. K. N. Timmis (ed.), *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology*, DOI 10.1007/978-3-540-77587-4_103. Berlin-Heidelberg: Springer-Verlag, 2010. Disponível em: www.eprints.ulster.ac.uk/4078/1/Biosurfactant_%26_Bioemulsifiers.pdf>. Acesso em: 30-12-2012.

PETERSOHN, E. *Nona Rodada de Licitações - Bacia do Espírito Santo*. 2007. Apresentação para o *roadshow* da ANP para a 9ª Rodada de Licitações. Disponível em: <[http://www.brazil-rounds.gov.br/arquivos/Seminario_Tecnico_R9/Espirito_Santo\(portugues\).pdf](http://www.brazil-rounds.gov.br/arquivos/Seminario_Tecnico_R9/Espirito_Santo(portugues).pdf)>. Acesso em: 01 out. 2013.

PETERSOHN, E. *Décima Rodada de Licitações - Bacia do Paraná*. 2008. Apresentação para o *roadshow* da ANP para a 10ª Rodada de Licitações. Disponível em: <http://www.brazil-rounds.gov.br/arquivos/seminarios/STA_6_Bacia_do_Parana_portugues.pdf>. Acesso em: 01 out. 2013.

PETERSOHN, E. *Áreas em Oferta na 12ª Rodada de Licitações*. 2013. Apresentação para o *roadshow* da ANP para a 12ª Rodada de Licitações. Disponível em: <http://www.brazil-rounds.gov.br/arquivos/Seminarios_R12/apresentacao/r12_01_areas_em_oferta.pdf>. Acesso em: 01 dez. 2013.

PETROBRAS. *Criado o Programa Tecnológico de Óleos Pesados – Propes. Memória Petrobras – 2002*. 2002. Depoimento de Roberto de Oliveira Goulart. Disponível em: <<http://memoria.petrobras.com.br/depoentes/roberto-de-oliveira-goulart/criado-o-programa-tecnologico-de-oleos-pesados-propes>>. Acesso em: 13 out. 2012.

PETROBRAS. *PRAVAP – Advanced Oil Recovery Program*. 2004. Technology, Strategic Projects, Well Treatment. Disponível em: <<http://www2.petrobras.com.br/portal/ingles/tecnologia.htm>>. Acesso em: 16 fev. 2004.

PETROBRAS. *A Origem do Petróleo*. 2005. Apostila Petrobras. Disponível em: <<http://www.petrobras.com.br>, acessado em 06 fev. 2005.

PETROBRAS. *PRAVAP – Advanced Oil Recovery Program*. 2006a. Petrobras Technology. Disponível em:

<<http://www2.petrobras.com.br/portal/ingles/tecnologia.htm>>. Acesso em: 30 jun. 2006.

PETROBRAS. *O Petróleo de Sergipe*. 2006b. Agência Petrobras. Publicada em 20 abr. 2006. Disponível em:

<http://www.agenciapetrobras.com.br/pop_imprimir.asp?id_noticia=1316&id_editoria=8>. Acesso em: 30 dez. 2012.

PETROBRAS. *Projeto Piloto de Lula comprova alta produtividade do pré-sal*. Matéria publicada em 07 jul. 2011. Disponível em:

<http://www.agenciapetrobras.com.br/materia.asp?id_editoria=8&id_noticia=10280>. Acesso em: 13 out. 2012.

PETROBRAS. *Discussões confidenciais*. 2012. Contatos entre o autor e os responsáveis pelo projeto de MEOR do CENPES. Detalhes não disponíveis.

PETROBRAS. *Autossuficiência em petróleo: respostas ao Globo*. Fatos e Dados, Respostas à Imprensa, 18 de abril de 2013a / 13:19. Disponível em:

<<http://fatosedados.blogspetrobras.com.br/2013/04/18/autossuficiencia-em-petroleo-respostas-ao-globo/>>. Acesso em: 01 out. 2013.

PETROBRAS. *Prêmio Petrobras Tecnologia*. 2013b. Disponível em:

<<http://sites.petrobras.com.br/minisite/premiotecnologia/apresentacao/apresentacao.asp>>. Acesso em: 26 nov. 2013.

PETROBRAS. *Descoberta do Campo de Carmópolis Completa 50 Anos*. 2013c. Site de Fatos e Dados. Disponível em:

<<http://fatosedados.blogspetrobras.com.br/2013/08/17/descoberta-do-campo-de-carmopolis-completa-50-anos/>>. Acesso em: 01 dez. 2013.

PETROBRAS. *Informações gerais sobre as reservas do pré-sal*. 2013d. Disponível em:

<http://www.agenciapetrobras.com.br/upload/apresentacoes/apresentacao_Ck3NxnM8bF.pdf>. Acesso em: 01 dez. 2013.

PETROGENESIS DISTRIBUTION. *Site corporativo*. 2013. Disponível em:

<<http://www.petro-genesis.com/index.html>>. Acesso em: 01 out. 2013.

PETRÓLEO E ENERGIA. *Recuperação Avançada - Campos maduros ganham vida nova com tecnologia*. Matéria de dez./Jan. 2012. Disponível em:

<<http://www.petroleoenergia.com.br/reportagem.php?rrid=835&rppagina=3>>. Acesso em: 13 out. 2012.

PODELLA, C. W.; RADICE, P. J.; HAUPTMANN, N. Reducción de Uso de Energía para Aeración y Producción de Lodos en una Planta Municipal de Tratamiento de Agua. *Agua Latinoamérica*, mar./abr. 2004.

PLANET FOR LIFE. *Current World Oil Situation – The Growing Gap*. 2008.

Disponível em: <<http://planetforlife.com/oilcrisis/oilsituation.html>>. Acesso em: 01 dez. 2013.

POL, A.; HEIJMANS, K.; HARHANGI, H. R.; TEDESCO, D.; JETTEN, M. S. M.; OP DEN CAMP, H. J. M. Methanotrophy below pH 1 by a new Verrucomicrobia species. *Nature*, v. 6, n. 450, p. 874-878, 2007. Disponível em:

<<http://www.nature.com/nature/journal/v450/n7171/full/nature06222.html?free=2>>.

Acesso em: 01 dez. 2013.

POLLACK, A. *Custom Made Microbes, at your service*. New York Times. 2006.

Disponível em:

<<http://www.nytimes.com/2006/01/17/science/17synt.html?th=&emc=th&pagewanted=all>>. Acesso em: 18-01-2006.

PORTAL MARÍTIMO. *FPSO Cidade de Anchieta inicia operações*. Publicado em 11 set. 2012. Disponível em: <<http://portalmaritimo.com/2012/09/11/fpso-cidade-de-anchieta-inicia-operacoes/#more-23989>>. Acesso em: 13 out. 2012.

PORTILLO, M. C.; SRIRIN, V.; KANOKSILAPATHAM, W.; GONZALEZ, J. M.

Differential microbial communities in hot spring mats from Western Thailand.

Extremophiles, v. 13, n. 2, p. 321-31, Mar. 2009. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19109691>>. Acesso em: 13 out. 2012.

PORTO ALEGRE, H. K. *Oil Shale in Irati Formation – Brazil*. In: AAPG GTW UNCONVENTIONAL RESOURCES: NEW IDEAS FOR FUTURE CHALLENGES IN BRAZIL, 2012, Rio de Janeiro.

PORTWOOD, J. T. A Commercial Microbial Enhanced Oil Recovery Technology: Evaluation of 322 Projects. In: SPE PRODUCTION OPERATIONS SYMPOSIUM, 1995, Oklahoma City, Oklahoma, EUA. *Anais...Oklahoma City*: SPE, 1995.

Disponível em:

<<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=00029518>>. Acesso em: 01 out. 2013.

PORTWOOD, J. T.; HIEBERT, F. K. Mixed Culture Microbial Enhanced Waterflood: Tertiary MEOR Case Study. In: SPE ANNUAL TECHNICAL CONFERENCE AND EXHIBITION, 1992, Washington, D.C. *Anais...Washington, D.C.*: SPE, 1992.

Disponível em:

<<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=00024820>>. Acesso em: 01 out. 2013.

PRADELLA, J. G. C. *Biopolímeros e Intermediários Químicos*. 2006. Relatório Técnico n. 84396-205. Centro de Tecnologia de Processos e Produtos. Laboratório de Biotecnologia Industrial – LBI/CTPP. São Paulo. Disponível em:

<<http://pt.scribd.com/doc/100878313/Pradella-2006-biopolimeros-Mercado>>. Acesso em: 01 out. 2013.

PRATES, J. P. *Campos Marginais e Produtores Independentes de Petróleo e Gás - Aspectos Técnicos, Econômicos, Regulatórios, Políticos e Comparativos*. Apresentação da Expetro Consultoria Internacional em Petróleo e Gás Ltda. In: FÓRUM CONTINUADO DE ENERGIA, 2, 2004, Rio de Janeiro, RJ.

PREMUZIC, E. T.; LIN, M. S. Induced biochemical conversions of heavy crude oils. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, v. 22, p. 171-180, 1999. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0920410598000667>>. Acesso em: 01 out. 2013.

PTTC – PETROLEUM TECHNOLOGY TRANSFER COUNCIL. *Produced Water – Technology Overview – Improved Oil Recovery*. Solutions from the Field, relatório baseado em workshop realizado pelo PTTC em 4-5 dez. 2002, em Farmington, NM, EUA.

PTTC – PETROLEUM TECHNOLOGY TRANSFER COUNCIL. *Enhanced Oil Recovery White Paper*. 2012. Disponível em: <http://www.pttc.org/tech_centers/eor/eor_wp.pdf>. Acesso em: 13 out. 2012.

PUCRS – PONTÍFICA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL. Bacia de Sergipe-Alagoas, *GeoPetróleo*. 15 jan. 2007. Disponível em: <http://www.inf.pucrs.br/~linatural/corporas/geologia/txt/GeoPetroleo_07_JAN15.txt>. Acesso em: 01 dez. 2013.

QUANTAS BIOTECNOLOGIA S.A. *Site corporativo*. 2013. Disponível em: <http://www.quantas.ind.br/?page_id=5>. Acesso em: 01 out. 2013.

QGEP - QUEIROZ GALVÃO EXPLORAÇÃO e PRODUÇÃO. *Relatório de Certificação de Reservas de Manati, Referente a 31 de Dez de 2012*. 2013. Disponível em: <http://ri.qgep.com.br/queirozgalvao/web/download_arquivos.asp?id_arquivo=AEEA29C8-1831-45A6-8678-378F694CB7E2>. Acesso em: 01 out. 2013.

QUESNEL, D.; NAKHLA, G. Utilization of an Activated Sludge for the Improvement of an Existing Thermophilic Wastewater Treatment System. *Journal of Environmental Engineering*, v. 131, n. 4, p. 570-578, Apr. 2005.

QURESHI, S.; RICHARDS, B. K.; STEENHUIS, T. S.; McBRIDE, M. B.; BAVEY, P.; STENHUIS, S. D. Microbial acidification and pH effects on trace element release from sewage sludge. *Environmental Pollution*, v. 132, p. 67-71, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15276274>>. Acesso em: 01 out. 2013.

QURESHI, N.; ANNOUS, B. A.; EZEJI, T. C.; KARCHER, P.; MADDOX, I. S. Biofilm reactors for industrial bioconversion processes: employing potential of enhanced reaction rates. *Microbial Cell Factories*, Aug. 2005. Disponível em: <<http://www.microbialcellfactories.com/content/4/1/24>>. Acesso em: 25/10/05.

RABELLO, C. O contexto atual da indústria do petróleo no Brasil – O marco regulatório: perspectivas, oportunidades e desafios. *Revista TN Petróleo*, v. 14, n. 85, p. 34-40, set./out. 2012.

RAMKRISHNA, S. Biotechnology in petroleum recovery: The microbial EOR. *Progress in Energy and Combustion Science*, v. 34, n. 6, p. 714-724, Dec. 2008. Disponível em: <<https://discover.tudelft.nl/recordview/view?recordId=Elsevier%3Aelsevier%3ACXT0269A%3A03601285%3A00340006%3A08000233>>. Acesso em: 01 out. 2013.

RAMOS, B. F.; SOUZA, L. C.; QUINTELLA, C. M.; JONES, C. M.; ALMEIDA, P. F. *Sustainable Production of Xanthan Gum in Wastes of the Energy Industry*. 2013. No prelo.

RASHEDI, H.; YAZDIAN, F.; NAGHIZADEH, S. Microbial Enhanced Oil Recovery. In: ROMERO-ZERÓN, Laura. *Introduction to Enhanced Oil Recovery (EOR) Processes and Bioremediation of Oil-Contaminated Sites*. Croácia: InTech Publishers, 2012. Disponível em: <http://cdn.intechopen.com/pdfs/37038/InTech-Microbial_enhanced_oil_recovery.pdf>. Acesso em: 01 out. 2013.

REQUEJO, A. G.; SCHIEFELBEIN, C. F.; JAMIESON, G. *Practical Basin Modeling: Case Studies from the Greater Campos Basin, Brazil Focused on Exploration Risking and Decision Support*. In: IV ALAGO WORKSHOP - BASIN MODELING, 2005, Buenos Aires, Argentina. Disponível em: CD-ROM.

REVISTA PIAUÍ. *Petróleo encalacrado no pré-sal*. Ed. 28, jan. 2009. Disponível em: <<http://revistapiaui.estadao.com.br/edicao-28/questoes-energeticas/petroleo-encalacrado-no-pre-sal>>. Acesso em: 13 out. 2012.

REUTERS. *Brazil gears up for big oil auction amid heavy security*. Reuters online service, Mon Oct. 21, 2013 1:53pm BST Disponível em: <<http://uk.reuters.com/article/2013/10/21/brazil-oil-auction-idUKL1N0IA0J320131021?feedType=RSS&feedName=mergersNews>>. Acesso em: 21 out. 2013.

RF – ROGALAND RESEARCH. *Site institucional*. 2004. Disponível em: <<http://www.rogalandresearch.com>>. Acesso em: 21/10/04. Pesquisa realizada às 11h46m, com palavras chave “BEOR” e “MEOR”.

RICARDO, A.; SZOSTAK, J. W. The Origin of Life on Earth. *Scientific American*, Aug. 19, 2009. Disponível em: <<http://www.scientificamerican.com/article.cfm?id=origin-of-life-on-earth>>. Acesso em: 13 out. 2012.

RICE, G. *Fluorescent In Situ Hybridization: (FISH)*. 2013. Microbial Life Educational Resources, Science Education Resource Center, Carleton University. Disponível em <http://serc.carleton.edu/microbelife/research_methods/microscopy/fish.html>. Acesso em: 01 out. 2013.

ROCKHOLD, M. L.; YARWOOD, R. R.; NIEMET, M. R.; BOTTOMLEY, P. J.; SELKER, J. S. Considerations for modeling bacterial-induced changes in hydraulic properties of variably saturated porous media. *Advances in Water Resources*, v. 25, p. 477-495, 2002.

RODRIGUES, R.; CHAVES, H. A. F.; JONES, C. M. *Where may we find shale gas in Brazil?* In: AAPG GTW UNCONVENTIONAL RESOURCES: NEW IDEAS FOR FUTURE CHALLENGES IN BRAZIL, 2012. Rio de Janeiro, Brasil.

RSC – ROYAL SOCIETY OF CANADA. *Environmental and Health Impacts of Canada's Oil Sands Industry*. Executive Summary of The Royal Society of Canada Expert Panel, Dec. 2010. Disponível em: <http://www.rsc.ca/exp_executivesummary_eng_dec14_10_final/>. Acesso em: 30 dez. 2012.

RUDYK, S.; ANDERSEN, H.; JORGENSEN, L. W.; AWASI, I. B.; ENAS, J.; JIMOH, A. Possibilities of Microbial Enhanced Oil Recovery in Danish chalk rocks. *Book of Abstracts, European Congress of Chemical Engineering (ECCE-6)*, Copenhagen, 16-20 Sep. 2007. Disponível em: <http://www.nt.ntnu.no/users/skoge/prost/proceedings/ecce6_sep07/upload/extra-abstracts-volume1/1894-t3-3a.pdf>. Acesso em: 01 out. 2013.

SANTOS NETO, E. V. Geoquímica de gases: uma nova tecnologia em avaliação de sistemas petrolíferos. In: *B. Geoci, Petrobras*, Rio de Janeiro, v.12, n. 2, p. 357-383, May/Nov. 2004.

SAUER, M.; PORRO, D.; MATTANOVICH, D.; BRANDUARDI, P. Microbial production of organic acids: expanding the markets. *Trends in Biotechnology*, v. 100, n. 8, Feb. 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18191255>>. Acesso em: 01 out. 2013.

SAXMAN, D. B. Biotechnology and Enhanced Petroleum Production. In: SPE ANNUAL TECHNICAL CONFERENCE AND EXHIBITION, 1984, Houston, Texas, EUA. *Anais...*Houston: SPE, 1984. Disponível em: <<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=00013146>>. Acesso em: 01 out. 2013.

SAYYOUH, M. H. Microbial Enhanced Oil Recovery: Research Studies in the Arabic Area During the Last Ten Years, SPE 75218-MS. SPE/DOE IMPROVED OIL RECOVERY SYMPOSIUM, 2002, Tulsa, OK, EUA. *Anais...*Tulsa: SPE, 2002. Disponível em: <<http://www.onepetro.org/mslib/app/Preview.do?paperNumber=00075218&societyCode=SPE>>. Acesso em: 01 out. 2013.

SAYYOUH, M. H.; AL-BLEHED, M. S. Using Bacteria to Improve Oil Recovery from Arabian Fields. *Developments in Petroleum Science*, v. 39, p. 397–416, 1993. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0376736109700779>>. Acesso em: 01 out. 2013.

SCHLUMBERGER. *Technical Paper: Use of Novel Acid System Improves Zonal Coverage of Stimulation Treatments in Tengiz Field*. 2006. Paper Nr. 98221.

Disponível em:

<http://www.slb.com/resources/technical_papers/stimulation/98221.aspx>. Acesso em: 01 out. 2013.

SCHLUMBERGER. *Technical Paper: Matrix Acid Systems for Formations With High Clay Content*. 2010. Paper Nr. 126719. Disponível em:

<http://www.slb.com/resources/technical_papers/stimulation/126719.aspx>. Acesso em: 01 out. 2013.

SCHLUMBERGER. *EOR Full-Field Implementation – EOR Pilot Projects*. 2012.

Disponível em:

<http://www.slb.com/services/technical_challenges/enhanced_oil_recovery/pilot_projects.aspx>. Acesso em: 13-10-2012.

SCHLUMBERGER. *Oilfield Glossary*. 2013a. Disponível em:

<<http://www.glossary.oilfield.slb.com/>>. Acesso em: 01 dez. 2013.

SCHLUMBERGER. *Carbonate Reservoirs*. 2013b. Página corporativa, Services & Products, Technical Challenges. Disponível em:

<http://www.slb.com/services/technical_challenges/carbonates.aspx>. Acesso em: 01 out. 2013.

SCHMITZ, D.; BROWN, L. R.; LYNCH, F. L.; KIRKLAND, B. L.; COLLINS, K.; FUNDERBURK, W. *Improvement of carbon dioxide sweep efficiency by utilization of microbial permeability profile modification to reduce the amount of oil bypassed during carbon dioxide flood*. Fifth Semi –Annual Progress Report, DOE Award Number DEFC2605NT15458 05090806, 31 Mar. 2008. Disponível em: <<http://www.netl.doe.gov/kmd/cds/disk44/D-CO2%20Injection/NT15458-SA033108.pdf>>. Acesso em: 01 out. 2013.

SCHNEEGURT, M. A.; KULPA, C. F. The application of molecular techniques in environmental biotechnology for monitoring microbial systems. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, v. 27, p. 73–79, 1998.

SCIENCE.GOV ALLIANCE. *Site institucional*. 2013. Disponível em:

<<http://www.science.gov/scigov/result-list/fullRecord:bioacidification/>>. Acesso em: 28-07-2013. Pesquisa realizada com palavra chave “bioacidification treatment”.

SCOTT, A. R. *Sequestration and Bioconversion of CO₂ to Methane*. 2002.

SBIRSource Projects. Disponível em: <<http://sbirsource.com/sbir/awards/130203-sequestration-and-bioconversion-of-co2-to-methane#>>. Acesso em: 01 out. 2013.

SEGHEZZO, L.; ZEEMAN, G.; VAN LIER, J. B.; HAMELERS, H. V. M.; LETTINGA, G. A review: The anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors. *Bioresource Technology*, v. 65, n. 3, p. 175-190, Sep. 1998. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852498000467>>. Acesso em: 01 out. 2013.

SEIXAS, M. G.; GUIMARÃES, L. J. N.; HOROWITZ, B. *Otimização Automática Aplicada a Métodos de Recuperação Avançada*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO EM PETRÓLEO E GÁS, 6, 2011, Florianópolis, SC, Brasil. Disponível em: <<http://www.portalabpg.org.br/PDPetro/6/publicacoes/repositorio/trabalhos/34300119052011573.pdf>>. Acesso em: 01 out. 2013.

SELVARATNAM, S.; SCHOEDEL, B. A.; McFARLAND, B. L.; KULPA, C. F. Application of the polymerase chain reaction (PCR) and reverse transcriptase/PCR for determining the fate of phenol- degrading *Pseudomonas putida* ATCC 11172 in a bioaugmented sequencing batch reactor. *Biotechnology*, p. 236-240, 1997. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs002530050919>>. Acesso em: 01 out. 2013.

SEN, R. Biotechnology in petroleum recovery: The microbial EOR. *Progress in Energy and Combustion Science*, v. 34, n. 6, Dec. 2008, p. 714–724. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.pecs.2008.05.001>>. Acesso em: 13 out. 2012.

SHECAIRA, F. S.; BRANCO, C. C. M.; SOUZA, A. L. S.; PINTO, A. C. C.; HOLLLEBEN, C. R. C.; JOHANN, P. R. S. IOR: The Brazilian Perspective. SPE 75170. In: SPE IMPROVED OIL RECOVERY SYMPOSIUM, 2002, Tulsa, OK, EUA. *Anais...Tulsa: SPE, 2002*. Disponível em: <<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=00075170>>. Acesso em: 01 out. 2013.

SHEEHY, A. (1992). *Oil recovery using microorganisms*. Patent WO9201780, US Patent Office, 06-02-1992. Disponível em: <<https://www.google.com/patents/WO1992001780A1?cl=en&dq=ininventor:%22Alan+Sheehy%22&hl=en&sa=X&ei=idYpU5SkF4fQkQey64GwAg&ved=0CEQQ6AEwAg>>. Acesso em: 01 out. 2013.

SHELL (2012). *Enhanced oil recovery (EOR)*. 2012. Site do tema “Unlocking energy with advanced technologies”, Disponível em: <[http://www.shell.com/home/content/future_energy/meeting_demand/unlocking_resources/eur/](http://www.shell.com/home/content/future_energy/meeting_demand/unlocking_resources/eor/)>. Acesso em: 13 out. 2012.

SHEPHERD, M. Carbonate reservoirs. In: M. Shepherd, Oil field production geology: *AAPG Memoir 91*, p. 301-309, 2009. Disponível em: <<http://archives.datapages.com/data/specpubs/memoir91/CHAPTER38/CHAPTER38.HTM>>. Acesso em: 01 out. 2013.

SHI, M.; LI, W.; LIAO, G.; HAN, P.; HOU, Z.; CHEN, X.; WANG, Y. Laboratory Study on MEOR After Polymer Flooding. In: SPE INTERNATIONAL IMPROVED OIL RECOVERY CONFERENCE IN ASIA PACIFIC, 2003, Kuala Lumpur, Malaysia. *Anais...* Kuala Lumpur: SPE, 2003. Disponível em:

<<http://www.onepetro.org/mslib/app/Preview.do?paperNumber=00084865>>. Acesso em: 01 out. 2013.

SHORT, N. M. *Nature and Origin of Life on Planetary Objects*. 2005. Disponível em: <<http://www.rsol.gsfc.nasa.gov/RSTutorial/Sect20/A12a.html>>. Acesso em: 20 nov. 2005.

SIERRA CLUB. *Background: Environmental Impacts of Tar Sands Development*. 2012. Disponível em: <<http://www.sierraclub.org/energy/factsheets/tarsands.asp>>. Acesso em: 30 dez. 2012.

SILVA, D. G.; ARAGÃO, M. F.; SILVA, T. P.; SILVA, T. C. *Petróleo no Brasil*. 1999. Disponível em: <<http://www.cepa.if.usp.br/energia/energia1999/Grupo1A/petroleonobrasil.html>>. Acesso em: 01 out. 2013. Parte do Programa Combustíveis Fósseis/Aquecimento, do Curso Energia 1999, do CEPA – Centro de Ensino e Pesquisa Aplicada, da USP.

SKOVHUS, T. L.; HØJRIS, B.; SAUNDERS, A. M.; THOMSEN, T. R.; AGERBÆK, M.; LARSEN, J. Practical Use of New Microbiology Tools in Oil Production. *SPE Production & Operations*, v. 24, n. 1, p. 180-186, Feb. 2009. Disponível em: <<http://www.spe.org/ejournals/jsp/journalapp.jsp?pageType=Preview&jid=EPF&mid=SPE-109104-PA>>. Acesso em: 01 out. 2013.

SOLA, M. C. *Manutenção de Microrganismos: Conservação e Viabilidade*. In: SEMINÁRIO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL DA ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA, 2011, Universidade Federal de Goiás. Disponível em: <http://ppgca.vet.ufg.br/uploads/67/original_semi2011_Marilia_Cristina_2.pdf>. Acesso em: 01 out. 2013.

SOUZA, N. N. S.; SANTANA, A. P. S. C. *Identificação de Mecanismo de Produção em Reservatórios de Petróleo*. 2010. Disponível em: <<http://pt.scribd.com/doc/46073171/Mecanismos-de-producao-29-05-10>>. Acesso em: 13 out. 2012.

SPE – SOCIETY OF PETROLEUM ENGINEERS. *The New Paradigm - Transferring Technologies and Field Experiences for Successful EOR Applications – ATW*. In: CONGRESSO SPE, 2006, Xian, China.

SPE – SOCIETY OF PETROLEUM ENGINEERS. In Situ molecular Manipulation. White Paper. *SPE Technology Updates*, 23 Aug. 2011. Disponível em: <<http://www.spe.org/industry/docs/insitumolecular.pdf>>. Acesso em: 01 out. 2013.

STEPHENS, J. O.; BROWN, L. R.; VADIE, A. A. *MEOR – A low cost solution for enhanced waterflood performance*. 1999. DOE Contract DE-FC22-94BC14962, 1999.

STEPHENS, J. O., BROWN, L. R., VADIE, A. A. Microbial permeability profile modification extends life of field. *Petroleum Technology. WorldOil Online Magazine*, Supl. May 2000. Disponível em: <<http://www.worldoil.com/May-2000-Microbial-permeability-profile-modification-extends-life-of-oil-field.html>>. Acesso em: 16 fev. 2004.

STRAPPA, L. A.; DE LUCIA, J. P.; MAURE, M. A.; LOPEZ-LLOPIZ, M. L. A Novel and Successful MEOR Pilot Project in a Strong Water-Drive Reservoir Vizcacheras Field, Argentina. In: SPE/DOE SYMPOSIUM ON IMPROVED OIL RECOVERY, 2004, Tulsa, OK. *Anais...*Tulsa: SPE, 2004. Disponível em: <<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=00089456>>. Acesso em: 01 out. 2013.

SUFLITA, J. M.; DAVIDOVA, I. A.; GIEG, L. M.; NANNY, M.; PRINCE, R. C. Chapter 10 Anaerobic hydrocarbon biodegradation and the prospects for microbial enhanced energy production. *Studies in Surface Science and Catalysis*, v. 151, p. 283–305, 2004. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167299104801514>>. Acesso em: 01 out. 2013.

SUGAI, Y.; KISHITA, A.; HONG, C-X.; ENOMOTO, H.; CHIDA, T.; ZHOU, S-C. Laboratory Investigation of Polymer Producer TU-15A for MEOR Field Tests. In: SPE ASIA PACIFIC OIL AND GAS CONFERENCE AND EXHIBITION, 1999, Jakarta, Indonesia. *Anais...*Jakarta: SPE, 1999. Disponível em: <<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=00054381>>. Acesso em: 01 out. 2013.

SUNDE, E.; BEEDER, J.; NILSEN, R. K.; TORSVIK, T. Aerobic Microbial Enhanced Oil Recovery for Offshore Use. In: SPE/DOE ENHANCED OIL RECOVERY SYMPOSIUM, TULSA, 1992, Oklahoma. *Anais...*Tulsa: SPE, 1992. Disponível em: <<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=00024204>>. Acesso em: 01 out. 2013.

SUNDE, E.; LILLEBØ, P. B.-L.; BØDTKER, G.; TORSVIK, T.; THORSTENSON, T. *H₂S inhibition by nitrate injection on the Gullfaks field*. 2004 (Paper 04760). In: NACE CORROSION. Disponível em: <<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=NACE-04760>>. Acesso em: 01 out. 2013.

SURTEK INC. *Alkali-Surfactant-Polymer*. 2012. Disponível em: <<http://www.surtek.com/technologies/alkalisurfactantpolymer.html>>. Acesso em: 13 out. 2012.

TANAHASHI, M. Messoyakha gas field – first commercial hydrate deposits? *Advanced Industrial Science and Technology*, 2007, Japan. Disponível em: <http://physics.oregonstate.edu/~hetheriw/projects/energy/topics/doc/fuels/fossil/methane_hydrate/methane_hydrate_japan_geo_survey/Messoyakha.html>. Acesso em: 14 mar. 2008.

TANNER, R. S.; UDEGBUNAM, E. O.; ADKINS, J. P.; MCINERNEY, M. J.; KNAPP, R. M. The Potential for MEOR from Carbonate Reservoirs: Literature Review and Recent Research. *Developments in Petroleum Science*, v. 39, p. 391–396, 1993. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0376736109700767>>. Acesso em: 01 out. 2013.

TECNOIL. *Projetos - Primeira FPSO Piloto de Tupi*. 2012. Disponível em: <<http://tecnoil.com.br/pt/projetos>>. Acesso em: 13 out. 2012.

TEIXEIRA, W.; TOLEDO, M. C. M.; FAIRCHILD, T. R.; TAIOLI, F. *Decifrando a Terra*. 2. ed. São Paulo: IBEP, 2008. Disponível em: <<http://www.ibep-nacional.com.br/ibep2010/htdocs/script/catalogo.asp?isbn=9788504014396>>. Acesso em 07 jan. 2009.

TELEDYNE ISCO CORP. *Enhanced Oil Recovery (EOR)*. 2012. Disponível em: <<http://www.isco.com/>>. Acesso em: 13 out. 2012.

TERRAPIN. *Enhanced Oil Recovery World Congress 2012 - Program*. In: CONFERÊNCIA TERRAPIN, 2012a, Abu Dhabi. Disponível em: <<http://www.terrapinn.com/2012/eor-and-heavy-oil-world-mena/>>. Acesso em: 01 out. 2013.

TERRAPIN. *Enhanced Oil Recovery World Congress 2012 - Survey Report*. Relatório fornecido aos participantes pela gerente da conferência, Chloe Higman. In: CONFERÊNCIA TERRAPIN. 2012b. Site da conferência: <<http://www.terrapinn.com/2012/enhanced-oil-recovery/index.stm>>.

THE NATIONAL ACADEMIES. *What is Metagenomics?* 2012. Disponível em: <<http://dels-old.nas.edu/metagenomics/overview.shtml#process>>. Acesso em: 13 out. 2012.

THE OPEN UNIVERSITY. *Earth's physical resources: Petroleum*. 2012. Disponível em: <<http://openlearn.open.ac.uk/mod/oucontent/view.php?id=399434§ion=4.3>>. Acesso em: 13 out. 2012.

TIORCO. *Fully Integrated, Enhanced Oil Recovery*. 2012. Disponível em: <<http://www.tiorco.com/>>. Acesso em: 13 out. 2012.

TN PETRÓLEO. *Petrobras retoma exploração de gás na Bacia do Solimões*. Reportagem de 04 set. 2007 00h00. Disponível em:

<<http://tnpetroleo.com.br/noticia/petrobras-retoma-exploracao-de-gas-na-bacia-do-solimoes/>>. Acesso em: 01 dez. 2013.

TN PETRÓLEO. *Revitalização de campos maduros pode se igualar a novas descobertas*. Reportagem de 19 set. 2012 10h01. Disponível em: <<http://tnpetroleo.com.br/noticia/revitalizacao-de-campos-maduros-pode-se-igualar-a-novas-decobertas/>>. Acesso em: 01 out. 2013.

TOTAL SA. *EOR Maximizing Recovery Factors*. 2008. The Know-How Series. Disponível em: <<http://ebookbrowse.com/total-eorbis-gb2-pdf-d146511211>>. Acesso em: 13 out. 2012.

TYSON, G. W.; BANFIELD, J. F. Cultivating the uncultivated: a community genomics perspective. *Trends in Microbiology*, v. 13, n. 9, p. 411-4, Sep. 13, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16043355>>. Acesso em: 01 out. 2013.

UFPE – UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO; UNIFACS – UNIVERSIDADE SALVADOR; ÚNICA – UNIVERSIDADE CATÓLICA DE PERNAMBUCO; ITEP – FUNDAÇÃO INSTITUTO TECNOLÓGICO DO ESTADO DE PERNAMBUCO. *Garantia de Escoamento dos Óleos Parafínicos da Bacia do Recôncavo*. 2006. Documento disponibilizado ao autor.

UFPR – UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. *Fluidos do Reservatório*. 2008. Disponível em: <http://www.tecnicodepetroleo.ufpr.br/apoio_didatico.htm>. Acesso em: 01 out. 2013. Apostila Reservatórios de Petróleo (Apostilas de Conhecimentos Específicos para o Técnico de Petróleo), do Curso Técnico de Petróleo, 2008.

UFS – UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE; UFBA – UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA. *Inibição da Precipitação de Parafinas em Poços de Petróleo do Recôncavo Baiano*. 2004. Projeto RECAM 06/03. Documento disponibilizado ao autor.

UFSC – UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA. *Projeto ReIP*. 2012. Disponível em: <<http://www.sinmec.ufsc.br/relp/index.html>>. Acesso em: 30 dez. 2012.

US DOE - US DEPARTMENT OF ENERGY. *Implementing Agreement No. XIII to the Agreement between Department of Energy of the United States of America and the Ministry of Energy and Mines of the Republic of Venezuela in the area of Microbial Enhanced Oil Recovery*, dated 28 Feb. 1988. Disponível em: <<http://energy.gov/node/406657>>. Acesso em: 13 out. 2012.

U.S. DOE – US DEPARTMENT OF ENERGY. DOE Selects New Projects to Enhance Oil and Gas Production. *DOE Techline*, Dec. 8, 2004.

US DOE - US DEPARTMENT OF ENERGY. *Microbial improved oil recovery, Technology Solutions for Independent Petroleum Operators*. 2005. Disponível em: <<http://www.netl.doe.gov/technologies/oil-gas/>>, acessado em 24 jan. 2005.

VADIE, A. A.; STEPHENS, J. O.; BROWN, L. R. Utilization of Indigenous Microflora in Permeability Profile Modification of Oil Bearing Formations. In: SPE/DOE IMPROVED OIL RECOVERY SYMPOSIUM, 1996, Tulsa, Oklahoma. *Anais...Tulsa: SPE*, 1996. Disponível em: <<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=00035448>>. Acesso em: 01 out. 2013.

VEJA. *Governo anuncia nova rodada de licitação de petróleo*. Notícia online 18 set. 2012. Disponível em: <<http://veja.abril.com.br/noticia/economia/governo-anuncia-nova-rodada-de-licitacao-de-petroleo>>. Acesso em: 08 out. 2012.

VENOSA, A. D.; ZHU, X. Biodegradation of crude oil contaminating marine shorelines and freshwater wetlands. *Spill Science and Technology Bulletin*, v. 8, n. 2, p. 163-178, 2003.

VIGLIANO, R. Microorganismos Pró e Contra – Pesquisas desenvolvem conhecimento de como as bactérias jogam contra e a favor na produção de petróleo e biodiesel. *Brasil Energia*, n. 364, mar. 2011. Disponível em: <http://brasilenergia.editorabrasilenergia.com/cadun/login?url_retorno=/news/2011/02/427162.html>. Acesso em: 01 out. 2013.

VIK, E. A.; JANBU, A. O.; GARSHOL, F.; HENNINGE, L. B.; ENGBRETSSEN, S.; KUIJVENHOVEN, C.; OLIPHANT, D.; HENDRIKS, W. P. *Nitrate-Based Souring Mitigation of Produced Water—Side Effects and Challenges from the Draugen Produced-Water Reinjection Pilot*. Paper Number 106178-MS. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON OILFIELD CHEMISTRY, 2007, Houston, Texas, EUA. Disponível em: <<https://getinfo.de/app/Nitrate-Based-Souring-Mitigation-of-Produced-Water/id/BLCP%3ACN065192207>>. Acesso em: 01 dez. 2013.

VOGELAAR, J. C. T.; BOUWHUIS, E.; KLAPWIJK, A.; SPANJERS, H.; VAN LIER, J. B. Mesophilic and thermophilic activated sludge post-treatment of paper mill process water. *Water Research*, v. 36, n. 7, p. 1869-1879, Apr. 2002. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135401003979>>. Acesso em: 01 out. 2013.

WEATHERFORD LABORATORIES. *Services - Routine Core Analysis*. 2013. Disponível em: <<http://www.humble-inc.com/services/routine-core-analysis>>. Acesso em: 01 out. 2013.

WEBER, A. C. *Evolução Petrolífera: Impactos no Atual Modelo Brasileiro*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE P&D EM PETRÓLEO E GÁS, 3, 2005, Salvador, Bahia. Disponível em: <http://www.portalabpg.org.br/PDPetro/3/trabalhos/IBP0379_05.pdf>. Acesso em: 29 mar. 2008.

WHITE, M. *Comparative Assessment of Advanced Gas Hydrate Production Methods*. NETL Hydrate Program Peer Review, Pacific Northwest National Laboratory, Aug. 2008. Disponível em: <http://www.netl.doe.gov/technologies/oil-gas/FutureSupply/MethaneHydrates/projects/DOEProjects/MH_42666AssessProdMethods.html>. Acesso em: 01 dez. 2013.

WHITMAN, W. B.; COLEMAN, D. C.; WIEBE, W. J. Prokaryotes: The unseen majority. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 95, p. 6578–6583, Jun. 1998. Disponível em: <<http://www.pnas.org/content/95/12/6578.full.pdf>>. Acesso em: 13 out. 2012.

WILDENSCHILD, D. *Research could improve oil recovery, aid environmental cleanup*. Oregon State University, News & Research Communications, 08 fev. 2012. Disponível em: <<http://oregonstate.edu/ua/ncs/archives/2012/aug/research-could-lead-improved-oil-recovery-better-environmental-cleanup>>. Acesso em: 01 out. 2013.

WOOD, R.; VAN DER LAND, C.; WU, K.; VAN DIJKE, R.; BRITO, D. D.; PERRETTI, A.; BOGADO, R.; CORBETT, P. *Diagenetic Tipping Points in the Permeability Evolution of Carbonates*. Search and Discovery Article #120096 (2013), Posted 13 Mar. 2013. Disponível em: <http://www.searchanddiscovery.com/documents/2013/120096wood/ndx_wood.pdf>. Acesso em: 28 jul. 2013.

WORLD NUCLEAR ASSOCIATION. *PNE – Peaceful Nuclear Explosions. Updated Jul 2010*. 2010. Disponível em: <<http://www.world-nuclear.org/info/pne-peaceful-nuclear-explosions-inf126.html>>. Acesso em: 30 dez. 2012.

YAKIMOV, M. M.; AMRO, M. M.; BOCK, M.; BOSEKER, K.; FREDRICKSON, H. L.; KESSEL, D. G.; TIMMIS, K. N. The potential of *Bacillus licheniformis* strains for in situ enhanced oil recovery. *Journal of Petroleum Science & Engineering*, n. 18, p. 147-160, 1997. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0920410597000156>>. Acesso em: 01 out. 2013.

YAN, T.; ZHOU, Y. Q.; ZHANG, C. L. Diversity of functional genes for methanotrophs in sediments associated with gas hydrates and hydrocarbon seeps in the Gulf of Mexico. *FEMS Microbiol. Ecol.*, v. 57, n. 2, p. 251-259, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16867143>>. Acesso em: 01 dez. 2013.

YOUSSEF, N., ELSHAHED, M. S.; McINERNEY, M. J. Microbial Processes in Oil Fields: Culprits, Problems and Opportunities. In: ALLEN, I.; LASKIN, S. S.; GADD, G. M. (Eds): *Advancers in Applied Microbiology*, v. 66. Burlington Academic Press, 2009.

YOUSSEF, N. H.; DUNCAN, K. E.; NAGLE, D. P.; SAVAGE, K. N.; KNAPP, R. M.; McINERNEY, M. J. Comparison of methods to detect biosurfactant production by diverse microorganisms. *Journal of Microbiological Methods*, n. 56, p. 339-347, 2004. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167701203003105>>. Acesso em: 01 out. 2013.

ZALÁN, P. V. *O potencial petrolífero brasileiro além do pré-sal*. Portal Geofísica Brasil. 2013. Disponível em: <<http://www.geofisicabrasil.com/artigos/41-opiniao/4274-o-potencial-petrolifero-brasileiro-alem-do-pre-sal.html?showall=1&limitstart=>>>. Acesso em: 01 dez. 2013.

ZANCAN, F. L. *Carvão Mineral: Ações de Mitigação das Mudanças Climáticas*. 2007. ABCM – Associação Brasileira de Carvão Mineral. Disponível em: <http://www.satc.edu.br/abcm/cd_seminario/17_fernando_zancan.pdf>. Acesso em: 01 dez. 2013.

ZHAO, H.; LI, Z.; ZHAO, P.; WU, Y. Field Pilots of Microbial Flooding in High-Temperature and High-Salt Reservoirs (SPE 95360-MS). In: SPE ANNUAL TECHNICAL CONFERENCE AND EXHIBITION, 2005, Dallas, Texas, EUA. *Anais...*Dallas: SPE, 2005. Disponível em: <<http://www.onepetro.org/mslib/servlet/onepetropreview?id=SPE-95360-MS>>. Acesso em: 01 out. 2013.

ZRAFI-NOUIRA, I.; SAIDANE-MOSBAHI, D.; ABDELGHANI, S.; BAKHROUF, A.; ROUABHIA, M. Crude Oil Metagenomics for Better Bioremediation of Contaminated Environments. In: ROMERO-ZERÓN, L. (Ed.). *Introduction to Enhanced Oil Recovery (EOR) Processes and Bioremediation of Oil-Contaminated Sites*. Croácia: InTech Publishers, 2012. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/introductionto-enhanced-oil-recovery-eor-processes-and-bioremediation-of-oil-contaminated-sites/crude-oilmetagenomics-for-better-bioremediation-of-contaminated-environments>>. Acesso em: 01 out. 2013.

APÊNDICE A - Algumas empresas e instituições de biotecnologia aplicada com atividades na área de MEOR

Entidade	País de Origem	Site
Aalborg University	Dinamarca	http://vbn.aau.dk
BASF	Alemanha	http://www.basf.com/group/corporate/pt
BGR - Geomikrobiologie	Alemanha	http://www.bgr.bund.de
Brookhaven National Laboratory	Stony Brook, NY, EUA	http://www.stonybrook.edu
Cairo University	Egito	http://cu.edu.eg/Search
Champion Technologies, Inc.	Houston, EUA	http://www.champ-tech.com/
Chemiphase Advanced Chemistry	Reino Unido	http://www.chemiphase.co.uk/
CIPR - Norwegian Centre of Excellence	Noruega	http://www.cipr.uni.no
Danish Technological Institute	Dinamarca	http://www.dti.dk
Daqing Petroleum Institute	Daqing, China	http://www.dqpi.edu.cn/default.html
DuPont MATRx Clean Technologies	Wilmington, EUA	http://www2.dupont.com
Enhanced Oil Recovery Inc.	Austin, EUA	http://www.microbialeor.com/
Enhanced Oil Recovery Institute	Lramie, EUA	http://www.uwyo.edu/eori/
Environmental BioTechnologies, Inc.	Califomia, EUA	http://www.e-b-t.com/meor.htm
Glori Energy	Houston, EUA	http://glorienergy.com/
Gulf Energy LLC	Omã	http://www.gulfenergy-int.com
Institute of Biology, The Romanian Academy	Romênia	http://www.ibiol.ro/
Intertek Capcis (ex Capcis)	Reino Unido	http://www.capcis.com/index.html
King Saud University	Arábia Saudita	http://coebio.ksu.edu.sa/
LabMET	Bélgica	http://www.labmet.ugent.be/
Lata Group	Oklahoma, EUA	http://www.latagroup.com/
Maersk Oil	Dinamarca	http://www.maerskoil.com
Micro-Bac International, Inc.	EUA	http://micro-bac.com/
Mississippi State University	EUA	http://www.msstate.edu/
Morningstar Oil Company	San Clemente, EUA	http://msothailand.com/technology.html
MRI Global	Kansas City, EUA	http://www.mriglobal.org
O N G C Teri Biotech Limited	Nova Delhi, Índia	http://www.indiamart.com/otbl/products.html
Oregon State University	EUA	http://oregonstate.edu
Pacific Northwest National Laboratory	Richland, EUA	http://www.pnnl.gov/
Peking University	China	http://english.pku.edu.cn/
PetroGenesis Distribution	Phoenix, EUA	http://www.petro-genesis.com/
Quantas Biotecnologia Ltda.	Salvador, Brasil	http://www.quantas.ind.br/
RAM Biochemicals Inc.	Durham, EUA	http://www.rambiochemicals.com/
Shandong University, Laboratory of Microbial Technology	China	http://www.sdu.edu.cn
Statoil	Noruega	http://www.statoil.com/en
Sultan Qaboos University	Omã	http://www.squ.edu.om
Tel Aviv University	Israel	http://www.tau.ac
Titan Oil Recovery Inc.	EUA	http://www.titanoilrecovery.com/
UAE University	Emirados Árabes	https://www.uaeu.ac.ae/
Univ. of Bergen	Noruega	http://www.uib.no/en/
Univ. of Oklahoma, Mewborne College of Earth & Energy	EUA	http://www.ou.edu/mcee.html
Univ. of Oklahoma, Microbially Enhanced Oil Recovery Laboratory	EUA	http://www.ou.edu/engineering/

APÊNDICE B - Micro-organismos empregados em MEOR

Inclui micro-organismos, função, características, e referências bibliográficas para cada um.

Microorganismo	Função	Características	Referência
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Produção de biossurfatantes	Emulsificação, redução da tensão interfacial, redução da viscosidade	#1
<i>Acinetobacter</i> sp.	Produção de biossurfatantes poliméricos, Emulsan		#1
<i>Acinetobacter</i> sp.	Sintetizar lipopolissacarídeos, Emulsan		#2
<i>Arthrobacter</i>	Produção de glicolipídeos trealose (surfatantes)	Surfatantes das paredes celulares de micobactérias	#3
<i>Arthrobacter paraffineus</i>	Produção de biossurfatantes	Emulsificação, redução da tensão interfacial, redução da viscosidade	#1
<i>Arthrobacter</i> sp.	Produção de fosfolipídeos		#1
<i>Arthrobacter</i> sp.	Sintetizar corinomicolatos trealose não iônicos		#2
<i>B licheniformis</i>	Produção de glicolipídeos "Lychenysin"		#1
<i>B subtilis</i>	Lipopeptídeos, Surfactin		#1
<i>B. subtilis</i>	Biossurfatantes extracelulares, degradação de n-alcenos de cadeia longa	Tolerância a altas temperaturas (121 °C), anaeróbico	#4
<i>Bacillus</i>	Levan (biopolímero)		#1
<i>Bacillus</i>	pode produzir bioprodutos úteis para MEOR	Podem formar endosporos dormentes e resistentes, que podem sobreviver sob condições ambientais adversas	#1
<i>Bacillus cereus</i>	Degradação de compostos pesados de HC, e processos bio-oxidativos		#1
<i>Bacillus licheniformis</i>	Produção de biossurfatantes		#1
<i>Bacillus licheniformis</i>	Produção de biomassa	MPPM, entupimento seletivo, redução da viscosidade, degradação de óleo, modificação da molhabilidade	#1
<i>Bacillus mojavensis</i> JF-2	Produção de biossurfatante e biofilme		#5
<i>Bacillus polymyxa</i>	Produção de biopolímeros	MPPM, controle da mobilidade do óleo, modificação da viscosidade	#1
<i>Bacillus</i> sp.	Produção de biossurfatantes	Emulsificação, redução da tensão interfacial, redução da viscosidade	#1
<i>Bacillus</i> sp.	Produção anaeróbica de biossurfatante		#3
<i>Bacillus subtilis</i>	Produzir lipoproteínas ou lipopeptídeos, Surfactin e Subtilisin		#2
<i>Bacillus pumilus</i> A1	Produção de Surfactin (surfatante)		#6
<i>Betacoccus dextranicus</i>	MFD?		#3
<i>Brevibacillus brevis</i>	Degradação de compostos pesados de HC, e processos bio-oxidativos		#1
<i>Brevibacterium viscogenes</i>	Produção de biopolímeros	MPPM, controle da mobilidade do óleo, modificação da viscosidade	#1
<i>C. tropicalis</i>	Produzir lipopolissacarídeos ligados à parede celular, quando crescem em n-alcenos		#2
<i>Candida</i>	Produção de glicolipídeos		#1
<i>Candida antarctica</i>	Produção de "mannosylerythritol" (lipídeo)		#6
<i>Candida lipolytica</i>	Produzir lipopolissacarídeos ligados à parede celular, quando crescem em n-alcenos		#2
<i>Clostridium</i>	pode produzir bioprodutos úteis para MEOR	Podem formar endosporos dormentes e resistentes, que podem sobreviver sob condições ambientais adversas	#1
<i>Clostridium</i>	Produção de hidrogenase	Usa a enzima hidrogenase e como um catalista para produzir ácido acético, ácido butírico, e hidróxido de amônia, a partir de CO ₂ , água, e nitrato no reservatório	#3
<i>Clostridium</i>	Produção de gases: CO ₂ , H ₂ S e metano		#1
<i>Clostridium acetobutylicum</i>	Produção de produtos da fermentação (ácidos graxos de cadeia curta, CO ₂ , e traços de etanol, 1-butanol, e acetona) e açúcares, 80-90 dias após o início da injeção		#3
<i>Clostridium acetobutylicum</i>	Produção de biossolventes	Emulsificação, redução da viscosidade	#1
<i>Clostridium pasteurianum</i>	Produção de biossolventes	Emulsificação, redução da viscosidade	#1
<i>Clostridium pasteurianum</i>	Produção de lipídeos surfatantes neutros		#3
<i>Clostridium roseum</i> spores			#3
<i>Clostridium</i> sp.	Pode produzir 0,0034 mol de ácido por quilo de melação		#1
<i>Clostridium</i> sp.	Produção de biossurfatantes	Emulsificação, redução da tensão interfacial, redução da viscosidade	#1
<i>Clostridium</i> sp.	Produção de bio-ácidos		#1
<i>Clostridium</i> sp.	Produção de biogases	Aumento da pressão, inchamento do óleo, redução da tensão interfacial, redução da viscosidade, aumento da permeabilidade	#1

Apêndice B - Continuação

Microrganismo	Função	Características	Referência
<i>Corynebacteria</i> sp.	Produção de micolatos e corinomicolatos		#2
<i>Desulfovibrio</i>	Produção de hidrogenase	Usa a enzima hidrogenase e como um catalista para produzir ácido acético, ácido butírico, e hidróxido de amônia, a partir de CO ₂ , água, e nitratos no reservatório	#3
<i>Desulfovibrio</i>	Produção de gases: CO ₂ , H ₂ S e metano		#1
<i>Desulfovibrio</i>	Produção de H ₂ S		#3
diversos microrganismos metanogênicos	Produção de gases: CO ₂ , H ₂ S e metano		#1
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Produção de bio-ácidos		#1
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Produção de biogases	Aumento da pressão, inchamento do óleo, redução da tensão interfacial, redução da viscosidade, aumento da permeabilidade	#1
<i>Enterobacter</i> sp.	Produção de biopolímeros	MPPM, controle da mobilidade do óleo, modificação da viscosidade	#1
<i>Enterobacter</i> sp.	Produção de biopolímeros insolúveis		#1
fungus <i>Sclerotium</i>	Produção de Scleroglucan (biopolímero)		#3
<i>Gluconobacter cerinus</i>	Produção de omitinolipídeos		#2
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Produção de biomassa	MPPM, entupimento seletivo, redução da viscosidade, degradação de óleo, modificação da molhabilidade	#1
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Produção de biopolímeros	MPPM, controle da mobilidade do óleo, modificação da viscosidade	#1
<i>Methanobacterium</i> sp.	Produção de biogases	Aumento da pressão, inchamento do óleo, redução da tensão interfacial, redução da viscosidade, aumento da permeabilidade	#1
<i>Mycobacteria</i> sp.	Produção de micolatos e corinomicolatos		#2
<i>Mycobacterium</i>	Produção de glicolipídeos trealose (surfatantes)	Surfatantes das paredes celulares de micobactérias	#3
<i>Mycobacterium</i> sp.	Produção de fosfolipídeos		#1
<i>Mycobacterium</i> sp.	Sintetizar corinomicolatos trealose não iônicos		#2
<i>Nocardia</i>	Produção de glicolipídeos trealose (surfatantes)	Surfatantes das paredes celulares de micobactérias	#3
<i>Nocardia erythropolis</i>	Produção de lipídeos neutros		#6
<i>Nocardia</i> sp.	Produção de micolatos e corinomicolatos		#2
<i>Ochrobactrum anthropii</i>	Produção de proteínas		#6
<i>Penicillium spiculisporum</i>	Produção de ácido spiculospórico (surfatante)		#6
<i>Phaffia rhodozyma</i>	Produção de lipídeos de carboidratos		#6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Reduzir a viscosidade do óleo		#1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Produção de rhamnolipídeos		#1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Biossurfatantes extracelulares, degradação de n-alcenos de cadeia longa	Tolerância a altas temperaturas (121 °C), anaeróbica	#4
<i>Pseudomonas</i>	Produção de gases: CO ₂ , H ₂ S e metano		#1
<i>Pseudomonas</i>	Produção de glicolipídeos		#1
<i>Pseudomonas rubescens</i>	Produção de omitinolipídeos		#2
<i>Pseudomonas</i> sp.	Produção de glicolipídeos trealose (surfatantes)		#1
<i>Pseudomonas</i> sp.	Produção de omitinolipídeos		#2
<i>Pseudomonas</i> sp.	Produção de biossurfatantes	Emulsificação, redução da tensão interfacial, redução da viscosidade	#1
<i>R. erythropolis</i>	Produção de glicolipídeos trealose (surfatantes)		#1
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	Sintetizar corinomicolatos trealose não iônicos		#2
<i>Rhodococcus</i> sp.	Produção de micolatos e corinomicolatos		#2
<i>Sclerotium</i> sp.	Produção de Scleroglucan (biopolímero)		#1
<i>Shewanella oneidensis</i> MR-1	Produção de biofilme		#5
<i>T. thiooxidans</i>	Produção de biossurfatantes poliméricos, Emulsan		#1
<i>Thiobacillus ferroxidans</i>	Produção de omitinolipídeos		#2
<i>Thiobacillus thiooxidans</i>	Produção de fosfolipídeos		#1
<i>Torulopsis bombicola</i>	Produção de lipídeos soforosos		#6
<i>Torulopsis</i> sp.	Produção de omitinolipídeos		#2
<i>Xanthomonas campestris</i>	Produção de biomassa	MPPM, entupimento seletivo, redução da viscosidade, degradação de óleo, modificação da molhabilidade	#1
<i>Xanthomonas campestris</i>	Produção de biopolímeros	MPPM, controle da mobilidade do óleo, modificação da viscosidade	#1
<i>Xanthomonas</i> sp.	Fermentar glicose e produzir um heteropolissacarídeo termicamente estável		#3
<i>Xanthomonas</i> sp.	Produção de goma xantana (biopolímero)		#1
<i>Zymomonas mobilis</i>	Produção de biossolventes	Emulsificação, redução da viscosidade	#1
#1: AL-SULAIMANI et al, 2011			
#2: KARANTH, DEO & VEENANADIG, 2010			
#3: BRYANT, R. S., 1987			
#4: GUDIÑA, E. J. et al, 2012			
#5: DOLAN et al, 2012.			
#6: BANAT, 1994			

APÊNDICE C - Pôster apresentado no ISMOS4

ISMOS4 (International Symposium on Applied Microbiology and Molecular Biology in Oil Systems), ocorrido no Rio de Janeiro, RJ, de 25 a 28 de agosto de 2013, no Centro de Pesquisas e Desenvolvimento Leopoldo Américo Miguez de Mello (CENPES), da Petrobras.

Site da página de resumos de pôsteres: <http://www.ismos-4.org/poster-format/>





Photo: Pedro Kirilos|Riotur

Dear Colleague,

We hope you are planning to join ISMOS-4: The 4th International Symposium on Applied Microbiology and Molecular Biology in Oil Systems.

ISMOS-4 will take place in Rio de Janeiro on August 25-28th, 2013.



Photo: Ricardo Zetrenner|Riotur

This conference explores the application of emerging microbial and molecular biology tools to a wide range of hydrocarbon resource environments.

Come and experience the largest molecular biology event for the oil and gas industry in Rio de Janeiro, Brazil's dynamic petroleum capital.

Trabalho aceito para apresentação em forma de pôster:

Título: Development and Application of the Biocompetitive Exclusion Technology in the Control of Biogenic Sulfide in the Oil Industry

Autores: A. Carvalho, D. Jesus, E. Ramos-de-Souza, F. Chinalia, C. Jones, P.F. Almeida

Resumo: The aim of this research was to identify and evaluate the main variables involved with the microbial biocompetitive exclusion technology (BET) approach for controlling the activity of sulfate reducing bacteria (SRB) at offshore oil fields.

Biogenic sulfide generation may be controlled by the activity of physiologically competing strains, which are collectively identified as petrobiotic bacteria. Produced water and injected water samples were obtained from four distinct PETROBRAS fields located at Bahia, Brazil. The following SRB were identified (16S rRNA): *Desulfovibrio vulgaris*, *Desulfovibrio alaskensis*, *Desulfovibrio capillatus*, *Desulfovibrio* sp., *Desulfobacter* sp., *Desulfosarcina* and *Desulfotomaculum* spp. The following petrobiotic bacteria were identified: *Halomonas salina*, *H. aquamarina*, *H. meridiana*, *Halomonas* sp., *Marinobacter aquaeolei*, *M. hydrocarbonoclasticus* and *Marinobacter* sp. BET approach was stimulated by the addition of sulfate analogs, such as: nitrate, sodium molybdate, tungstate, metavanadate and, SRB inhibiting agents, such as nitrite. The effects of three distinct matrices were also evaluated in combination with the former substances. The goal was to improve BET process efficiency. Statistical analyses confirmed that, in average, sulfide production was reduced in about 200 folds ($\sim 0.82 \pm 0.11 \text{ mg L}^{-1}$) when compared to the averaged values obtained with the controls without BET treatment ($\sim 200 \pm 23.5 \text{ mg L}^{-1}$). Although *Marinobacter* and *Halomonas* species were the most predominant petrobiotic organisms detected by molecular and culture methods, it seems to be that helicoidal-type forms of bacteria were the organisms involved in BET as showed by fluorescent microscopic analysis.

APÊNDICE D - Pôster apresentado no ISMOS4

ISMOS4 (International Symposium on Applied Microbiology and Molecular Biology in Oil Systems), ocorrido no Rio de Janeiro, RJ, de 25 a 28 de agosto de 2013, no Centro de Pesquisas e Desenvolvimento Leopoldo Américo Miguez de Mello (CENPES), da Petrobras.

Site da página de resumos de pôsteres: <http://www.ismos-4.org/poster-format/>



ISMOS4 International Symposium on Applied Microbiology and Molecular Biology in Oil Systems **RIO DE JANEIRO**

Save the date | **August 25-28, 2013**

There will be simultaneous translation:
English / Portuguese

www.ismos-4.org



Photo: Pedro Kirilos|Riotur

Dear Colleague,

We hope you are planning to join ISMOS-4: The 4th International Symposium on Applied Microbiology and Molecular Biology in Oil Systems.

ISMOS-4 will take place in Rio de Janeiro on August 25-28th, 2013.



Photo: Ricardo Zetrenner|Riotur

This conference explores the application of emerging microbial and molecular biology tools to a wide range of hydrocarbon resource environments.

Come and experience the largest molecular biology event for the oil and gas industry in Rio de Janeiro, Brazil's dynamic petroleum capital.

Trabalho aceito para apresentação em forma de pôster:

Título: Production of biosurfactant utilizing raw glycerin, a sustainable biotechnological alternative

Autores: A. Damião, C. Quintella, M. Roque, J. Cleveland*, J. Lima, P.F. Almeida

Resumo: Biosurfactants have been the object of studies in various biotechnology areas, since they have properties applicable in many industries especially in oil industries. Among the glycolipids, the most studied are the rhamnolipids produced by bacteria of the *Pseudomonas* genera. Alternatives to improve their large scale

production and lower costs would be to use recycled carbon sources, such as raw glycerin, which is a byproduct of biofuels manufacturing, and whose market price is ever more depressed. The use of glycerin was tested as an alternative carbon source (CS) for growing two strains of *Pseudomonas aeruginosa*. They were grown in a saline mineral medium (SM) with commercial (CG) and raw glycerin (RG) at 2% as the CS. Analysis of the surface tension (ST) and stability of the Biosurfactants produced were performed. The results showed that for strain CCMICS 106 there were no significant differences among production media, but for strain CCMICS 109 there was a higher production of rhamnolipids (RL) in the 2% CG SM. In the 2% RG SM, the CCMICS 106 and 109 strains produced 2.87 g/L and 2.31 g/L, respectively, while in the 2% CG SM, they produced 2.47 g/L and 3.96 g/L. Chromatographic analysis suggests that a type of mono-rhamnolipid was produced. RL achieved a reduction in ST from 60.02mN/m to 26-30mN/m, and also exhibited good stability in relation to temperature, salinity and pressure. The results demonstrate the viability of using raw glycerin as a substrate and low cost alternative CS.

* Autor listado incorretamente (J. Cleveland, em vez de C. Jones)

APÊNDICE E - Trabalho submetido para publicação em periódico da área de biotecnologia (no prelo)

DEVELOPMENT AND APPLICATION OF THE BIOCOMPETITIVE EXCLUSION TECHNOLOGY IN THE CONTROL OF BIOGENIC SULFIDE IN THE OIL INDUSTRY

Alexandra S. Carvalho¹, Djane S. Jesus², Elias Ramos de Souza³, Fabio A. Chinalia⁴, Cleveland M. Jones⁵ and Paulo F. Almeida⁶

1-Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Bahiano-IFBaiano, R. Barão de Camaçari, Catu, BA, Brazil. ascvida@yahoo.com Tel. 71-88096910

2- Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia-IFBA, R. Emídio dos Santos, Barbalho, Salvador, BA, Brazil. djane@ifba.edu.br Tel. 7188055390

3- Laboratório de Biologia Computacional, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia-IFBA, R. Emídio dos Santos, Barbalho, Salvador, BA, Brazil. ersouza@anp.gov.br Tel. 21-21128100

4- Laboratório de Biotecnologia e Ecologia de Microrganismos, ICS, Universidade Federal da Bahia, Av. Reitor Miguel Calmon, 27, Salvador, BA, Brazil. chinalia@hotmail.com Tel. 7191786220

5. Faculty of Geology, Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Rua São Francisco Xavier, 524, Rio de Janeiro, RJ, Brazil. cmjones@uerj.br Tel. 2493011174

6- Laboratório de Biotecnologia e Ecologia de Microrganismos, ICS, Universidade Federal da Bahia, Av. Reitor Miguel Calmon, 27, Salvador, BA, Brazil. pfatk@yahoo.com.br Tel. 7199696938

ABSTRACT

This work optimized the methodologies used to develop and apply the Biocompetitive Exclusion Technology (BET) and evaluate its efficiency in controlling biogenic sulfide generation. Samples of produced water and injected water were collected from oilfields, for evaluating the population dynamics of sulfate reducing bacteria (SRB), as well as of bacteria collectively called Petrobiotic bacteria (those which reduce analog sulfate compounds, and sulfur oxidizing bacteria). The ideal critical concentration was determined for sulfate analogs, such as nitrate, sodium molybdate, tungstenate, and metavanadate, and for SRB inhibiting agents, such as nitrite. The effect of three complexing matrices in combination with these compounds was also evaluated, in order to increase process efficiency. With BET and the use of the complexing matrices, the average percentage reduction of sulfide concentration was 99.9%. Thus, BET was effective and may be considered an alternative to current solutions to sulfide generation in the oil industry.

Key words: sulfide, sulfate reducing bacteria, Petrobiotic bacteria; petroleum; complexing matrices

INTRODUCTION

The generation of hydrogen sulfide (H₂S) by sulfate reducing bacteria (SRB) is a worldwide problem of the oil and gas industry, known as biogenic sulfide generation (souring). It affects oilfields around the world, with high economic, as well as health and environmental costs. The oil industry has for a long time been applying treatments with biocides without satisfactory results, since they give rise to microorganisms resistant to these compounds, besides the high costs. SRB are found in the injected water used for oil recovery methods, whether salty or not, or produced water from oil wells. The injection of water for

conventional recovery of oil has been a standard method for many years (CURBELO, 2002). The costs from metallic corrosion problems, according to an assessment done in the United States by the U.S. Federal Highway Administration (FHWA) (2002), represent approximately 2% of the GDP, which corresponds to about US\$276 billion per year. In Brazil, according to an assessment done by the Brazilian Corrosion Association (Associação Brasileira de Corrosão), the costs related to corrosion are approximately US\$15 billion per year, or 3% of GDP (PRESTRELO, 2006). Thus, the oil industry needs to find alternatives to resolve the problem of biogenic sulfide generation (ALMEIDA et al., 2006). Studies show that souring can be controlled by the addition of nitrite, nitrate and/or molybdate, with the last two being metabolic inhibitors of SRB. Various studies show that souring control can be achieved with Biocompetitive Exclusion Technology (BET) (ALMEIDA et al., 2006). BET consists of adding sulfate analogs to the injection water, which in turn favors the growth of denitrifying bacteria, bacteria which reduce sulfate analogs, or sulfur oxidizing bacteria, collectively called Petrobiotic bacteria, in detriment of SRB growth.

In this context, the present proposal sought to develop and evaluate biotechnological alternatives, such as BET, for souring control, by conducting laboratory tests to verify whether Petrobiotic bacteria modulate SRB. Since biocide use is common in oil field souring treatments, SRB resistant to biocides were used. Also investigated was the use of products made up of polymeric and surfactant matrices, such as polyvinylpyrrolidone (PVP), polyoxyethylene (TWEEN 80) and polyethylene glycol (PEG), in association with the chemical compounds nitrate, molybdate, tungstenate, metavanadate and nitrite, to see whether they would result in stable structures that would gradually release the inhibitor, or if they would stimulate the growth of bacteria beneficial to the oil fields. Such effect could result in more prolonged control of biogenic sulfide generation and reduced costs, in comparison with the direct application of these compounds.

MATERIALS AND METHODS

Tests for the development and evaluation of BET in the control of biogenic sulfide generation were conducted at the Laboratório de Biotecnologia e Ecologia de Microrganismos (LABEM), of the Instituto de Ciências da Saúde ICS), at Universidade Federal da Bahia (UFBA). The BET tests were carried out by developing conventional and sophisticated laboratory analyses, involving research on SRB, as well as on Petrobiotic bacteria, employing standard microbiological techniques for the detection and counting of SRB and Petrobiotic bacteria, besides chemical and instrument methods, such as chromatography and spectrometry, used to assess the compounds involved in BET. A

statistical description was achieved by using the software SPSS Statistics, version 17.0. The experimental development was organized as follows:

- Step 1. Selection of four existing oil fields in the Exploration and Production Business Unit of PETROBRAS in Bahia, Brazil (UN-BA - Unidade de Negócio de Exploração e Produção da Bahia), and collection of water samples from oil production sites. These fields were chosen due to long-running souring problems. The samples were collected between June of 2007 and April of 2009.
- Step 2. Isolation, counting and identification of the microbial cultures involved in BET. The microbial cultures utilized in the tests were isolated from injection water and produced water from the four fields. Culture media were used for SRB (POSTGATE, 1984), and for Petrobiotic bacteria the CSB medium was used (KJELLERUP, 2005), both modified in our laboratory by the addition of sodium citrate. Biocide resistant SRB species and Petrobiotic species were identified and monitored by the fluorescent in situ hybridization technique (FISH) (Santos et al., 2010). For isolation of bacterial DNA, the DNA extraction from SRB and Petrobiotic colonies followed the adapted protocol of Reysenbach et al. (2000). The 16SrDNA region was amplified (RT-PCR from Applied Biosystem 7500) by Polymerase Chain Reaction (PCR), using the universal primers 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'), and one specific for the 27F Eubacteria domain (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'). The amplicons were purified (GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kit), cloned (TOPO TA Cloning Kit for sequencing, from Invitrogen), subjected to purification (PureLink Quick Plasmid Miniprep Kit) according to the recommendation of the manufacturers, and sequenced in a ABI 3100, from AB. The genetic sequences were subjected to a similarity analysis of nucleotides with the GenBank data bank through the site of the NCBI (National Center for Biotechnology Information), and the tool utilized for this consultation was the BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). The microbial population of SRB and Petrobiotic bacteria was quantified using the technique of most probable number (MPN), according to APHA (1989).
- Step 3. Evaluation of the behavior of sulfide producing microorganisms and their susceptibility to antimicrobial agents, such as sodium molybdate, sodium azide, phenol, glutaraldehyde, methionine, Tetrakis(hydroxymethyl)phosphonium sulfate (THPS), and organic chlorine. The concentrations of the antimicrobial agents varied from 50 to 2500 mg.L⁻¹. For evaluation of the efficacy, the technique of dilution of use was utilized (AOAC, 1990).
- Step 4. Addition of sulfate analogs and metabolic inhibitors for the control of biogenic sulfide generation, in applying BET. Sodium molybdate, sodium tungstenate, and

sodium metavanadate were used in concentrations of 247, 65 and 28 mg.L⁻¹, respectively; sodium nitrate in concentrations between 50 and 1000 mg.L⁻¹; and nitrite at 69 mg.L⁻¹. Tests were applied in samples of injected water and produced water from the oil wells. The population of the microbial species utilized was 10⁵ MPN.mL⁻¹.

- Step 5. Utilization of the sulfate analogs, sodium molybdate, sodium tungstenate, and sodium metavanadate, in association with complexing matrices. Three complexing matrices were utilized (PVP - Matrix I, TWEEN 80 - Matrix II and PEG - Matrix III) in various combinations with concentrations varying from 100 to 10.000 mg.L⁻¹.
- Step 6. The statistical description was evaluated through the analysis of the comparison between the average values obtained for sulfide, sulfate, and other chemical compounds involved in BET. For the analysis of the variability of the data and significance of the variables studied, analysis of variance (ANOVA) was applied, and the averages were compared with the Tukey range test at 5% probability. All data were described utilizing the software SPSS Statistics, version 17.0.

For all steps, seven tests were conducted in triplicate. Sulfate was evaluated quantitatively with the methylene blue staining method (Carvalho, A.S., 2007). Nitrate was measured in the form of nitrite and determined with the colorimetric method proposed by Vogel (1997). The measurements were made with the multi-spectrophotometric reader Victor 3, from Perkin Elmer. All other organic and inorganic compounds were monitored by ion chromatography, using the ICS 3000 Dionex ion chromatograph. The readings were made at 24h intervals during the first week and on the 15th and 30th day. The positive control was prepared by adding the same SRB population, without the chemical compounds, to the sample waters. For the negative control, all the components were added without the presence of the bacteria.

RESULTS AND DISCUSSION

The average microbial population found for the microorganisms involved in BET was approximately 10⁸ MPN mL⁻¹. The microbial species of SRB isolated and identified in the majority of the samples were: *Desulfovibrio*, *Desulfobacter sp.*, *Desulfosarcina* and *Desulfotomaculum sp.* For the Petrobiotic bacteria, *Halomonas*, *Marinobacter* and *Thiomicrospira* were found. Sousa (2009) found initial populations on the order of 10¹ to 10⁴ and 10⁷ MPN mL⁻¹ of SRB and Petrobiotic bacteria, in serial dilutions of previously activated cultures during 96h. The metabolic activity of the microorganisms is dependent on the concentrations of the main substrates present in the medium, which are a limiting factor for their growth. The total SRB population is related to the species that utilize lactate as the main

source of carbon in the medium. The antimicrobial activities of the agents utilized for the susceptibility test are presented in Table 1, below:

Table 1. Antimicrobial activity of some chemical compounds at different concentrations, in relation to a consortium of non-sporulated (*Desulfovibrio* and others) and sporulated (*Desulfotomaculum acetoxidans*) SRB isolated at the LABEM, sourced from oil fields in the Recôncavo Basin. Results are shown as number of tubes that show sulfide generation over the 60 tubes tested, using the dilution of use technique.

Compounds	Concentration (mg.L ⁻¹)					
	50	100	200	300	400	500 a 2500
Sodium molybdate	15/60	8/60	5/60	3/60	2/60	0/60
Sodium azide	10/60	6/60	3/60	1/60	ND	0/60
THPS	ND	10/60	8/60	4/60	2/60	ND
Methionine 38°C	32/60	22/60	18/60	12/60	8/60	6/60
Methionine 45°C	25/60	12/60	8/60	2/60	ND	0/60
Phenol	ND	ND	24/60	15/60	ND	8/60
Glutaraldehyde	28/60	18/60	12/60	8/60	ND	ND
Organic chlorine	0/60	0/60	0/60	ND	ND	ND

ND: not determined.

The results show that the following have satisfactory antimicrobial activity: sodium azide at a concentration of 300 mg.L⁻¹, which acts on the respiratory chain of SRB, but which, at this concentration, is inappropriate for environmental use, according to various works; and sodium molybdate at a concentration of 400 mg.L⁻¹. This last compound, even at this concentration, is economically unfeasible for application in the oil industry. An interesting observation is that this compound can be used in anaerobic conditions by SRB as well as by Petrobiotic bacteria, resulting in molybdenite, which is itself a corrosion inhibitor. Thus, there could be two mechanisms for molybdate effect, one by being transformed into molybdenite, a known corrosion inhibitor, and another by being complexed with the ATP enzyme sulfurylase, impeding the generation of H₂S. Methionine was effective at concentrations over 300 mg.L⁻¹ at 45°C in a closed system, but as the injected water will be constantly contaminated when transformed into produced water, other microorganisms will utilize it for the generation of sulfide by desulfurization, polluting the environment. As to the antimicrobial activity of organic chlorine, treatment at a concentration of 50 mg.L⁻¹ is effective for the inhibition of the growth of the SRB species utilized. Thus, chlorine solution at 50 mg.L⁻¹ concentration was the most effective agent for microbial control, and the least expensive, but it is a biocide that also affects microorganisms beneficial to oil fields (Petrobiotic bacteria). The THPS compound showed efficacy when tested at a concentration of 400 mg.L⁻¹, but is considered too toxic to the environment. Glutaraldehyde and phenol were effective in controlling SRB even at concentrations of 300 ppm.

In this work, in evaluating BET with direct application of nitrate at concentrations of 50 to 200 ppm, the results were extremely variable, whether in samples of injection water or

produced water, and in samples from the same field at different times as well as from different fields. At various opportunities in which the application of nitrate was insufficient to control biogenic sulfide generation, SRB were isolated that showed nitrate reducing capability. Since nitrate is considered by various researchers as being effective in the control of biogenic sulfide generation, BET was tested with the direct application of nitrate, utilizing two species of SRB, nitrate reducing (SRB1), and nitrite reducing (SRB2), isolated from injected water samples of the above mentioned fields. When nitrate was utilized in the presence of each SRB species separately, there was over 60% reduction in the concentration of sulfide, in relation to the control. But when the consortium of both SRB species was used with nitrate, only a much smaller reduction of sulfide was observed, in some cases as low as under 10%. Figure 1 shows the comparative effect of the control of biogenic sulfide generation utilizing nitrate in the presence of the two nitrate and nitrite reduction species of SRB.

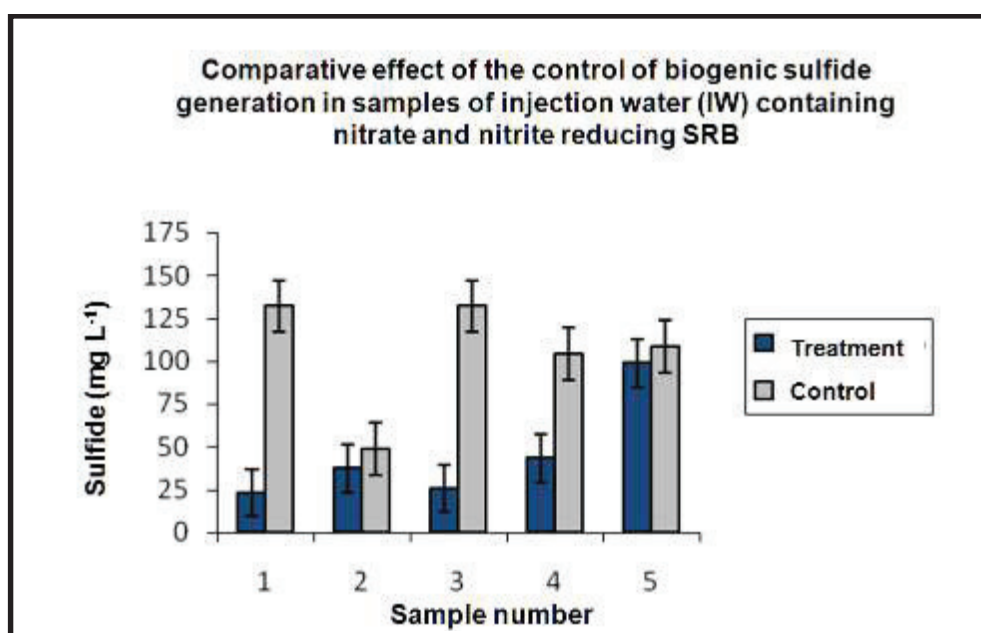


Figure 1. Comparative effect of the control of biogenic sulfide generation in samples of injection water (IW) containing nitrate in the presence of nitrate and nitrite reducing SRB: Sample 1 - IW + SRB; Sample 2 - IW + control; Sample 3 - IW + SRB1; Sample 4 - IW + SRB2; Sample 5 - IW + SRB1 + SRB2. Standard error shown for the 95% confidence interval.

The presence of nitrate and nitrite reducing SRB increases the population of nitrate reducing species, thus increasing the competition for nitrate. The lower ability to control biogenic sulfide generation can be explained due to the presence of a larger population of SRB in detriment of the population of nitrate reducing bacteria, or due to the formation of compounds, such as molecular nitrogen, which would reduce the inhibiting effect characterized by a higher redox potential. For this reason,

besides the references that show higher corrosivity of compounds such as nitrogen oxide, when compared with sulfide, it was decided to abandon the use of nitrate.

For the nitrite and molybdate concentrations used in this work, the sulfide reduction was approximately 90% at a 95% confidence level, in relation to samples without the inhibitors. But the sulfide control was only effective up to the seventh day of incubation, since the direct addition of inhibitors was a limiting factor. The addition of 0.1 mmol L^{-1} (6.9 mg.L^{-1}) of nitrite and $0.024 \text{ mmol L}^{-1}$ (5.8 mg.L^{-1}) of molybdate in the lag phase of growth prevented the generation of sulfide when isolated species were utilized, but in the exponential growth phase it was necessary to add higher concentrations of inhibitors, 0.25 mmol L^{-1} (17.24 mg.L^{-1}) of nitrite and $0.095 \text{ mmol L}^{-1}$ (23 mg.L^{-1}) of molybdate, in order to achieve full control (Nemati et. al, 2001). But other researchers were only able to achieve good results with much higher concentrations of that complexing compound (KJELLERUP et al., 2005).

All combinations of polymeric matrices with the chemical compounds utilized, achieved significant reductions of the sulfide concentration, in relation to the positive control. Average values of $150.00 \pm 10.92 \text{ mg.L}^{-1}$ were achieved for the positive control, and below 10.0 mg.L^{-1} for the samples containing the BET compounds used in this work (molybdate, vanadate and tungstenate). For the combinations utilizing Matrix III, a high efficacy of over 93.3% was achieved in the control of biogenic sulfide generation, since values below 1.0 mg.L^{-1} were obtained. The results were satisfactory, since the utilization of Matrix III reduced the generation of sulfide to within a significant deviation, using smaller concentrations of the matrix. The viability of the use of Matrix III instead of the other matrices allowed the costs of BET to be reduced.

In order to statistically verify the viability of the use of the inhibitors molybdate and nitrite, in association with the three polymeric matrices, when applying BET, the significant variables for the model were evaluated. An analysis of the variability of the data was performed, using analysis of variance, where the averages were compared with the Tukey range test at 5% probability (Table 2).

Table 2. Multiple regression analysis of the influence of the variables evaluated in the model, on the response (sulfide reduction).

Factors	Regression Coefficient	t-Student	p-value	Interval of 95%	
				LI	LS

Constant	-1.010	-0.926	0.356	-3.163	1.143
Molybdate	0.001	5.471	0.000	0.001	0.002
Nitrite	-0.002	-5.792	0.000	-0.003	-0.001
Matrix I	0.000	-0.556	0.579	-0.001	0.000
Matrix II	0.000	1.501	0.135	0.000	0.001
Matrix III	-0.001	-0.860	0.391	-0.004	0.002
Days	0.591	4.301	0.000	0.320	0.863
R ² = 0.7001					

In the multiple regression analysis carried out, it can be seen that the molybdate, nitrite and average sulfide concentrations on different days, influence and are significant for the model, with a p-value of 0.000 for these three factors. Matrix I, II and III used do not directly influence the reduction of sulfide when applying molybdate and nitrite, since the p-value > 0.05, but the application of these matrices is important to ensure the efficacy of the inhibitors until the last day of incubation. They prolong the effect and reduce the quantities of inhibitors used, consequently reducing costs. The value of the coefficient of determination was quite significant for the model (R²= 0.7001).

CONCLUSIONS

Souring mitigation studies using biocide resistant SRB and nitrate treatments showed that the utilization of sulfate analogs and nitrite, in association with polymeric matrices, reduced the required concentrations of these inhibitors, in relation to the concentrations required under direct application. This made use of the inhibitors viable in field applications. The best results in souring mitigation were achieved with the combination of molybdate (247 mg.L⁻¹) and nitrite (69 mg.L⁻¹) associated with the PEG matrix, which reduced the sulfide concentration to below 1 mg.L⁻¹ even using seawater. The use of polymeric matrices allowed the development of new products with improved efficacy.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the LABEM/UFBA for the use of their infrastructure, and PETROBRAS and FAPESB for their financial support.

REFERENCES

- ALMEIDA, P.F.; ALMEIDA, R.C.C.; CARVALHO, E.B.; SOUZA, E.R.; CARVALHO, A.S.; SILVA, C.H.T.P.; CARLTON, A.T. Overview of sulfate-reducing bacteria and strategies to control biosulfide generation. *Modern Biotechnology in Medicinal Chemistry and Industry. Research Signpost: India*, p. 183-197, 2006.
- AOAC. Official Methods of Analysis. Use-Dilution Test Method for Disinfectants. Association of Official Analytical Chemists. 15th ed. Arlington, 1990
- APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th edn. Washington, DC., 1989.
- CARVALHO, A.S. Otimização e validação de métodos analíticos para avaliação e controle de sulfeto em efluentes salinos do processo de extração do petróleo. Dissertação de Mestrado, UFBA, Programa de Pós-graduação em Química. Salvador, BA, janeiro 2007.
- CURBELO, F.D.S. Estudo da remoção de óleo em águas produzidas na indústria de petróleo, por adsorção em coluna utilizando a vermiculita expandida e hidrofobizada. Dissertação de Mestrado, UFRN, Programa de Pós-graduação em Engenharia Química. Natal-RN, mar. 2002.
- KJELLERUP, B.V. et al. Monitoring of microbial souring in chemically treated, produced-water biofilm systems using molecular techniques. *J Ind Microbiol Biotechnol.* p. 163–170, 2005.
- NEMATI, M. et al. Control of biogenic H₂S production with nitrite and molybdate. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology.* v.26, p.350 -355, 2001.
- POSTGATE, J.R. The sulphate-reducing bacteria. 2^aed. Cambridge University Press, New York, 1984.
- PRESTRELO, R.C. Aplicação do conceito de produção mais limpa no gerenciamento do uso da água em atividades terrestres de exploração e produção de petróleo. Dissertação (Mestrado profissional em gerenciamento e tecnologias ambientais no processo produtivo), Escola Politécnica, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2006.
- REYSENBACH, A.L., LONGNECKER, K., KIRSHTEIN, J. Novel Bacterial and Archaeal Lineages from an In Situ Growth Chamber Deployed at a Mid-Atlantic Ridge Hydrothermal Vent. *Appl Environ Microbiol.* 66(9): 3798–3806), 2000
- SOUZA, K.A, CAMMAROTA, M.C., SÉRVULO, E.F.C. Efeito da aplicação de nitrato na redução biogênica de sulfeto sob diferentes concentrações iniciais de bactérias redutoras de nitrato e sulfato. *Química Nova*, v.33, n.2, p.273-278, 2010.
- VOGEL, A.I. Química Analítica Qualitativa, 7^a ed. Campinas: Unicamp, 1997.

APÊNDICE F - Trabalho submetido para publicação em periódico da área de biotecnologia (no prelo)

***Pseudomonas aeruginosa* Rhamnolipid Expression Genes in Saline Mineral Glycerin Media**

Aldinéia O Damião¹, Cristina M Quintella², Josilene L Matos¹, Brena M. Moitinho³, Milton A Roque¹, Cleveland M Jones⁴, Paulo F Almeida¹⁶

¹ Biointeraction Sciences Department of the Federal University of Bahia, Salvador, Brazil

² Inorganic and Physical-Chemistry Department of the Federal University of Bahia, Salvador, Brazil

³ Faculty Ruy Barbosa, Salvador, Brazil

⁴ Faculty of Geology of the University of the State of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

Abstract

This work investigated the production of rhamnolipids by two strains of *Pseudomonas aeruginosa*, by observing the genetic expression of both strains grown in two production media, at different time intervals. Rhamnolipid was quantified with the orcinol-sulfuric acid method, and the real time PCR technique was used to analyze the expression of genes that codify for enzymes responsible for the production of rhamnolipids. The results demonstrated that with the 2% Raw Glycerin in saline mineral medium the *Pseudomonas aeruginosa* CCMICS 106 strain exhibited a greater production and higher expression of the *rhlAB* gene, which constitutes the operon responsible for rhamnolipid production. In the 2% Commercial Glycerin saline mineral medium the *Pseudomonas aeruginosa* CCMICS 109 strain exhibited a greater production, but in this production medium the *rhlAB* gene expression was lower, suggesting that even a minimum expression of this gene can result in a large production of rhamnolipid.

Key Words: Biosurfactant, Rhamnolipid, *Pseudomonas*, Glycerin, real time PCR, genetic expression.

Introduction

Biosurfactants are metabolites produced by different microorganisms, especially bacteria, and have amphipathic molecules, with hydrophilic and hydrophobic portions [1]. They are of great industrial interest due to their wide application and their major advantages over chemical surfactants. Some of those advantages are: high biodegradability, low toxicity; and biocompatibility and digestibility, which allow their application in cosmetics, pharmaceutical products and as food additives. Their production can be economical, depending on the biosurfactant, and they may be produced with industrial residues and byproducts, and are of particular interest for large scale production for applications in the oil industry [2,3] Biosurfactants can also

⁶ Author to whom correspondence should be addressed, e-mail: pfatk@yahoo.com.br, Instituto de Ciências da Saúde, Av. Reitor Miguel Calmon, 27, Vale do Canela, 40110-100 - Salvador, Bahia, Brasil

be used in the control of oil spills, detoxification of industrial effluents, and in bioremediation of contaminated soils [4,5].

In relation to their disadvantages, one of the main problems is the cost, which can be too high for large scale production. Large quantities are necessary for applications in the oil industry and for environmental applications. In order to optimize the microbial production of biosurfactants and other polymers, it is necessary to obtain high performance and productivity in the production process, which can be achieved by using an appropriate formulation for the culture medium, more efficient production processes, by using agroindustrial residues as substrates [3], and by genetic engineering of microbial strains. The use of residues as substrates, besides lowering overall costs, has the potential to combat the pollution effects of such residues [5, 3, 6].

The rhamnolipid surfactants belonging to the class of glycolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* are the most studied. They are capable of reducing the surface tension of water from 72 mN/m to 25-30 mN/m, and the interfacial tension of oil/water from 43 mN/m to less than 1 mN/m, and have a critical micelle concentration (CMC) of 10-200 mg/L. The CMC is defined as the minimum surfactant concentration with tensoactive properties, at which micelle formation begins, which will confer detergent and solubilization properties to the compound [1,7, 8].

Rhamnolipids can be produced by *Pseudomonas* from different substrates, such as glycerol, mannitol, fructose, glucose, n-paraffins, vegetable oils and molasses [9]. Their structure has one or two rhamnose molecules bound to molecules of β hydroxydecanoic acid. The two main molecules of rhamnolipids produced by *P. aeruginosa* are mono-rhamnolipid and di-rhamnolipid. The synthesis of these compounds involves sequential transfer reactions of rhamnosyl groups, each one catalyzed by the action of rhamnosyl transferase 1 (Rt1), with deoxythymidine-diphosphate-L-rhamnose (TDP-L-rhamnose) acting as the rhamnosyl donor, and β - hydroxydecanoyl - β - hydroxydecanoate acting as the receptor. The di-rhamnolipids are synthesized by rhamnosyl transferase 2 (Rt2), with TDP-L-rhamnose acting as the donor, and mono-rhamnolipids acting as the receptors. The expression of the genes involved in the production of mono- and di-rhamnolipid is regulated at the transcriptional level, by two quorum sensing systems, the *las* and the *rhl* systems [10, 11, 12].

The *las* system consists of a transcription regulator, *LasR*, and its signaling molecule, N-(3-oxododecanoyl homoserine lactone (3O-C12-HSL), synthesized by an acyl homoserine lactone (AHL synthase), codified by the gene *lasI* [13].

The *LasRI* system regulates the expression of the *LasA* elastase, *LasB* elastase, exotoxin A, and alkaline protease [14]. The *rhl* system, located right after the *rhlAB* genes, is composed of the *rhlR* and *rhlI* genes. *RhlR* belongs to the family of proteins that function as transcriptional activators, activated by N-butyryl-homoserine lactone (C4-HSL) produced by *RhlI*, a self-inducing synthetase. This self-inductor promotes the activation of *RhlR*, which will activate the expression of *rhlAB*. The *rhlA* and *rhlB* genes are transcribed together by a promoter which precedes *rhlA*, thus constituting the operon that codifies a rhamnosyl transferase (Rt1) necessary for the production of mono-rhamnolipids. Activated *RhlR* can also activate the transcription of *rpoS* (the gene that codifies the sigma factor RNA polymerase), involved in the expression of genes of the stationary phase of bacterial growth. The *RhlR* depends on the response of the quorum sensing, including for the production of rhamnolipid, and is mainly expressed under conditions of nutrient limitation [14, 13, 12].

The *rhlC* gene codifies the rhamnosyl transferase 2, involved in the production of the di-rhamnolipid, produced from the mono-rhamnolipid. This gene is organized in another operon. Some of the mono-rhamnolipids produced are secreted directly from the cell, while others are transformed by the cells into di-rhamnolipid, by the transfer of a rhamnosyl portion, using TDP-l-rhamnose as a donor. Mono- and di-rhamnolipid are synthesized at the cytoplasmic face of the internal membrane, before being transported to the extracellular medium [15].

The analysis of the expression of the genes responsible for the production of rhamnolipids includes a precise quantification of the RNAm expressed in different situations. The Real Time PCR (RT-PCR) technique is a powerful tool to quantify nucleic acids, since it allows their quantification from even minimal sample quantities, and is also precise, [16] fast and low cost [17], making it advantageous for quantification.

This work sought to investigate the production of rhamnolipids by two strains of *Pseudomonas*, observing the similarity of genetic expression between two production media, with raw glycerin and commercial glycerin, at different time intervals.

Materials and Methods

Genetic Induction and Rhamnolipid Production

The *Pseudomonas* strains tested were CCMICS 106 and CCMICS 109, belonging to the microorganism culture collection of the Laboratório de Biotecnologia e Ecologia de Microrganismos, do Instituto de Ciências da Saúde- ICS/UFBA. The inoculation of the strains for the production of rhamnolipid was done in Saline Mineral Medium (SMM) adapted from Bodour and Miller-Maier (1998) [18], utilizing commercial glycerin (CG) and raw glycerin (RG) at 2% (v/v) as the carbon source. The samples inoculated in the production medium remained for 120h, at 30°C and 180rpm. The quantification of the rhamnolipid produced was analyzed at 120h, and the extraction of RNA for genetic expression analysis was done at three time intervals (0h, 48h, 120h) during production.

Extraction and Quantification of Rhamnolipid

The rhamnolipid was extracted by separating the cell from the supernatant by centrifuging (8000 rpm). The extraction was carried out with chloroform:ethanol, adding 0.5mL of the supernatant to 1mL of chloroform:ethanol (2:1 v/v). The organic phase (supernatant) was evaporated and dried and then resuspended in 0.5mL of distilled water. After extraction, quantification was done with orcinol-sulfuric acid. The method consists in adding 0.9mL of this solution to an aliquot of 0.1mL of the sample, followed by heating at 80°C during 30 minutes. After 15 minutes, the absorbance was determined in a Genesys Spectronic® 20 spectrophotometer at 421 nm. The standard curve was obtained with rhamnose solutions with known concentrations between 5 and 50 mg/L [19]. The statistical analysis was carried out by the program SPSS version 19 license UFBA: 2013-99876-21, utilizing analysis of variance (Anova) by the Tukey test at the 5% confidence level of random occurrence.

Analysis of Genetic Expression

The RNA samples were extracted and treated with DNase (DNA-free) for the removal of DNA contaminants, and observed with gel electrophoresis. Besides the electrophoresis, the absence of genomic DNA in the RNA extracts was checked by comparing the samples of cDNA with RNA that had not suffered reverse transcription. Observing the amplification curves in qPCR, the negative control must not be detected, or if detected, must appear with a difference of at least five cycles of amplification [20]. Then, the synthesis of cDNA was carried out following the protocol of the Superscript Kit (Invitrogen).

Bazire and collaborators (2005) [21] identified primers that are capable of amplifying the genes responsible for the production of rhamnolipid. Primers were used that amplify the gene regions *rhlA*, *rhlB* and *rhlC*. The table below (Table 1) shows the sequence of primers identified for the genes responsible for the production of rhamnolipid, which were used in the RT-PCR reaction.

The primers were tested by conventional PCR to observe the amplification of the oligonucleotides, before the quantitative RT-PCR tests were started. As an endogenous reference, the genes *acpP* and *proC* for *Pseudomonas*, previously identified by Lenz and collaborators (2008) [22] and Savli and collaborators (2003) [23], were used.

A control experiment of the primers for the quantitative RT-PCR reaction was carried out in order to examine the linearity of the amplification during a dynamic variation, so as to determine their amplification efficiency. The efficiency of the primers was considered satisfactory (85%-115%), likewise evaluating the stability [24]. The endogenous control genes must show a high stability in order to be used as a normalizer for each sample. The geNorm program was used, which determines if the reference gene is stable, and based on the geometric average of the tested gene, calculates a normalization factor that can be incorporated in the expression of the gene in each sample. The stability of the gene is represented by a value M, which is inversely proportional to the variation of the expression of the gene being evaluated. A gene with a high stability among the biologic repetitions and treatments must have a value of the geNorm $M \leq 0.5$ [24, 25, 26].

The expression of the three genes involved with the production of rhamnolipids was analyzed in triplicate ($n=3$) for each biological repetition ($n=2$). The amplification profile was presented as a relation of each gene fragment at 48h and 120h after inoculation, in comparison with the expression of the calibrating gene fragments (0h). The program for the amplification run consisted of a first pass at 50°C for 2 min, then 40 cycles alternating between 15 sec at 95°C and 1 min at 60°C. Finally, a melting curve was traced in order to detect primer dimers, DNA contaminants, and unspecific PCR product, thus generating a confirmation of the correct amplification of the fragments of interest. Amplicon dissociation temperatures between 78°C and 85°C indicate amplification of the specific (target) product; temperatures below this indicate contamination or the formation of primer dimers in the reaction.

The gene expression data were calculated by relative quantification, which needs, besides the reference gene, a sample as a reference, that is, as a control treatment or calibrator, for determination of the expression [27]. As an internal control of the expression, the Ct (cycle threshold) value obtained at time 0h of the experiment was used, defining it as a calibrating sample, since they were samples that came from the pre-inoculum (LB medium), that is, they were not subjected to the production media with raw glycerin or commercial glycerin. The relative expression of

the samples in 2% RG SMM and 2% CG SMM were then compared at 48h and 120h.

For each treatment the Ct value was detected for the target gene as well as for the reference gene. This value represents the point at which the amplification signal is detected. The relative quantification was carried out following the mathematical model proposed by PffafI (2001) [27], in which we have the ratio of the relative expression (R), which is given by the equation:

$$R = \frac{(E_{target})^{\Delta Ct_{target} (control-sample)}}{(E_{reference})^{\Delta Ct_{reference} (control-sample)}}$$

Where ΔCt shows the variation in expression of a gene of the sample group in relation to the control group. With the values of ΔCt calculated for the target and reference genes, and with the efficiencies of gene amplification (E), we can obtain the relative expression (R'), given by the equation $R' = E^{-\Delta Ct}$, which measures the effect of the experimental treatment on the expression of each gene. The ratio between the values of R' of the target and reference genes normalizes the expression of the studied gene. When two or more reference genes are used, the values were applied as geometrical averages.

The RT-PCR results are non-linear data, and normally exhibit heterogeneity of variance among biological repetitions within treatments and between treatments, so it is necessary to transform the Ct values of the analysis of the relative expression into logarithms of base two [28], in order to carry out a statistical analysis. The statistical analysis was carried out by the program SPSS version 19 license UFBA: 2013-99876-21, utilizing analysis of variance (Anova) by the Dunnett test.

Results

Quantification of the Rhamnolipid

Based on the quantification of rhamnolipid by the orcinol:sulfuric acid technique, it was observed that in the 2% RG SMM the CCMICS 106 strain produced 2.8g/L of biosurfactant, and the CCMICS 109 strain produced 2.3g/L, showing that there was no significant difference in the production between the strains in this medium.

Analyzing the production in the 2% CG SMM, based on the quantification there was a significant difference in production between the strains ($p < 0,05$), since the CCMICS 106 strain produced 2.4g/L and the CCMICS 109 strain produced 3.9g/L. It was observed that even without a significant difference in the 2% RG SMM, CCMICS 106 strain produced somewhat more, and in the 2% CG SMM the largest production was by the CCMICS 109 strain.

Analysis of the Gene Expression – CCMICS 106

With the CCMICS 106 strain and after 48 hours of production, the expression of the self-inducing *rhlI* gene was 0.8 times greater in the 2% RG SMM than in the 2% CG SMM, but after 120 hours of production the opposite was true, that is, the strain had an expression of the *rhlI* gene 0.6 times greater in the 2% CG SMM.

Analyzing the expression of the *rhIAB* gene, responsible for the production of mono-rhamnolipid, after 48 hours there was 6.8 times greater expression in the 2% RG SMM than in the 2% CG SMM, and after 120 hours of production the expression in the 2% RG SMM was also higher: 3.2 times greater than in the 2% CG SMM.

Comparing the gene expression between the intervals of time, the expression of the *rhIAB* gene was higher at 48 hours in both production media.

The *rhIC* gene, responsible for the production of di-rhamnolipid, showed the same gene expression at 48 and 120 hours of production in the 2% RG SMM. The gene expression in the 2% RG SMM, at 48 hours of production, was 3.4 times greater than in the 2% CG SMM, and at 120 hours of production it was two times greater.

The expression of the *rhIC* gene at 48 hours and 120 hours was the same in the 2% RG SMM, but in the 2% CG SMM there was an increase in the expression.

Based on a statistical analysis with the Dunnett test, there was a significant difference ($p < 0,05$) in the 2% RG SMM, between the expression of genes *rhIAB* and *rhIC*. Besides, with the 2% CG SMM there was no significant difference in relation to the calibrator (0h). Due to the sensitivity of the RT-qPCR technique used for the study of expression, the confidence interval may be too large, which may make it difficult to see the significance in the results.

Analysis of the Gene Expression – CCMICS 109

For the CCMICS 109 strain, the self-inducing *rhII* gene had a similar expression pattern in both production media, since at 48 hours of production the expression in the 2% RG SMM was only 0.3 times greater than in the 2% CG SMM, and at 120 hours of production the expression was only 0.1 times greater in the 2% RG SMM.

In relation to the expression of the *rhIAB* gene, at 48 hours of production, the expression in the 2% RG SMM was 1.3 times greater than in the 2% CG SMM, and at 120 hours of production the expression was one time greater.

The expression of the *rhIAB* gene at 48 hours and 120 hours was similar for both the 2% RG SMM and the 2% CG SMM.

Analyzing the expression of the *rhIC* gene, at 48 hours of production its expression in the 2% RG SMM was 2.1 times greater than in the 2% CG SMM. At 120 hours of production, the expression was 6 times greater in the 2% RG SMM than in the 2% CG SMM.

The expression of the *rhIC* gene in the 2% RG SMM at 120 hours was twice that at 48 hours of production, and in the 2% CG SMM it was three times more at 120 hours than at 48 hours.

Based on a statistical analysis with the Dunnett test, there was a significant difference ($p < 0.05$) in gene expression between both production media, but only for the *rhIC* gene.

Discussion

The *rhII* gene functions as an inductor, since it synthesizes N-butyryl-homoserine lactone, which activates the *rhIR*, which is responsible for the activation of the *rhIAB* operon, which in turn is responsible for the synthesis of rhamnolipid [12, 13]. In the gene expression results of the CCMICS 106 strain it was observed that at 48 hours of production the *rhII* gene exhibited an expression 0.8 times higher in the

2% RG SMM than in the 2% CG SMM, but despite exhibiting a higher expression of the self-inductor, there was no observable biosurfactant production, based on the results of the emulsification index – E24 (results not shown). But in the 2% CG SMM, which exhibited a lower expression, the formation of emulsion was observed at this time interval, thus suggesting two hypotheses: 1) the self-inductor gene started to express earlier in the 2% CG SMM, since production of biosurfactant also began earlier; 2) a minimal expression of the *rhII* gene in this medium was sufficient to activate the *rhIR* gene, responsible for the activation of the *rhIAB* operon, which did not occur in the 2% RG SMM. But at 120 hours of production the expression results are inverted, that is, the CCMICS 106 strain exhibits a higher (0.6 times greater) expression in the 2% CG SMM than in the 2% RG SMM. Based on these results, it is understood that after activating the genes which produce rhamnolipid, the self-inductor gene reduces its expression, since in the 2% RG SMM at 48 hours there was no rhamnolipid production, and the highest production was observed at 120 hours (63%), when the expression was lowest.

With the CCMICS 109 strain, the self-inductor *rhII* gene exhibited a similar pattern of expression in both production media, at 48 and 120 hours, demonstrating that this strain has the same behavior of the self-inductor gene in different production media. These results corroborate the production results, which show that with this strain the production of biosurfactant started at the same times in both production media (results not shown), thus explaining the similarity of the expression.

Analyzing the results of the expression of the *rhIAB* gene, responsible for the production of mono-rhamnolipid, it was observed that with the CCMICS 106 strain at 48 hours of production, the expression was 6.8 times greater in the 2% RG SMM than in the 2% CG SMM, but as mentioned earlier, no biosurfactant production was observed in the 2% RG SMM at 48 hours. Based on these results we can conclude that a minimal expression of the *rhIAB* gene in the 2% CG SMM was sufficient to allow a good production performance, but in the 2% RG SMM it was observed that a greater expression of this gene is necessary in order for the biosurfactant to be translated, since even with an expression 6.8 times greater, the production was only observed after 48 hours (results not shown). The same was observed at 120 hours, since the minimal expression of this gene in the 2% CG SMM was sufficient to produce 2.4g/L of biosurfactant, while an expression 3.2 times greater in the 2% RG SMM produced a similar quantity (2.8g/L). With the CCMICS 109 strain, the *rhIAB* gene expression was greater in the 2% RG SMM at both time intervals, but the production was greater in the 2% CG SMM (3.9g/L) versus the 2% RG SMM (2.3g/L). Based on these results we can conclude that a minimal expression of this gene in the 2% CG SMM was sufficient to produce a greater quantity of biosurfactant, as was observed with the CCMICS 106 strain.

Comparing the two strains, they exhibited a behavior as expected for the expression of the *rhIAB* gene in both production media, since the CCMICS 106 strain exhibited a greater expression at 120 hours in the 2% RG SMM, as well as a higher production. With the CCMICS 109 strain, a higher production occurred in the 2% CG SMM, and it exhibited a greater expression of the *rhIAB* gene, which at 120 hours was also slightly greater than in the 2% RG SMM.

The *rhIC* gene is responsible for codifying a rhamnosyl transferase 2 (Rt2) from deoxythymidine-diphosphate-L-rhamnose (TDP-L-rhamnose) acting as a donor, and mono-rhamnolipid acting as a receptor, thus producing di-rhamnolipid [15]. Based on the results from this work it was possible to observe the expression of this gene from the two strains and in the two production media tested. For both strains

the expression of this gene was greater in the 2% RG SMM at both time intervals, but with the CCMICS 109 strain the *rhIC* gene exhibited a greater expression in relation to the other genes (*rhIAB*, *rhII*), in both production media. This was also observed by Bazire and collaborators (2005) [21], who utilized the same primers and analyzed the expression under osmotic stress in *P. aeruginosa*, and observed that the *rhIC* gene also exhibited the greatest expression. But the fact that a greater expression of this gene was observed does not mean that a higher production of di-rhamnolipid will occur, since, as was mentioned before, a low gene expression in the 2% CG SMM was sufficient to promote a translation and produce practically the same quantity of biosurfactant. Another interesting fact is that the production of di-rhamnolipid depends on mono-rhamnolipid in order to be synthesized, since according to Rahim and collaborators (2001) [15], some of the mono-rhamnolipid produced is directly secreted from the cell, while another portion remains in the cytoplasmic face of the internal membrane of the cell, to be transformed by the *rhIC* into di-rhamnolipid. Thus, even with a large expression and high production of the Rt2, the synthesis of di-rhamnolipid will depend on the quantity of mono-rhamnolipid available in the cell.

Conclusions

In the 2% CG SMM, the *rhIAB* gene exhibited the greatest expression and production with the CCMICS 106 strain. In both production media, the *rhIC* gene exhibited the greatest expression with the CCMICS 109 strain, suggesting that this strain may be a good producer of di-rhamnolipid. Based on the *rhIAB* gene expression, mono-rhamnolipid was produced, which can act as a receptor, producing di-rhamnolipid. To assess the production of di-rhamnolipid it is necessary to evaluate the expression of both the *rhIC* and *rhIAB* genes, since di-rhamnolipid production also depends on the availability of mono-rhamnolipid. Depending on the source of carbon used, and on the type of bacterial strain, a minimal expression of a gene may be quite significant in determining production, since a low gene expression in the 2% CG SMM was sufficient to produce practically the same quantity of biosurfactant as in the 2% RG SMM.

Acknowledgements

This research was supported by the Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), Petróleo Brasileiro S.A. (PETROBRAS) and Agência Nacional Petróleo (ANP). Project numbers: FINEP 0.1.05.0974.00/PETROBRAS 0050.001843106.4/SAP, contract number 4600202295. We also thank the CNPQ for a graduate fellowship to Aldinéia Oliveira Damião.

References

- [1] DESAI, J.D.; BANAT, I. Microbial Production of Surfactants and Their Commercial Potential. **Microbiology and Molecular Biology**, 1997, 61, 47-64.
- [2] ALMEIDA, P.F., MOREIRA, R.S., ALMEIDA, R.C.C., GUIMARÃES, A.K., CARVALHO, A.S., QUINTELLA, C.M., ESPIRIDIÃO, M.C.A., TAFT, C.A. Selection and application of microorganisms to improve oil recovery. **Eng. Life Sciences**, 2004, 4, 319-325.

- [3] BANAT, P.I. Les biosurfactants, plus que jamais sollicités. **Biofutur**, 2000, 198, 44-47.
- [4] CAMEOTRA, S.S.; MAKKAR, R.S. Synthesis of biosurfactants in extreme conditions. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 1998, 50, 520-529.
- [5] KOSARIC, N. Biosurfactants in industry. **Pure and Applied Chemistry**, 1992, 64, 1731-1737.
- [6] SANTO, A. A.E.; RAMOS, B.F.; SOUZA, L.C. DE; SOUZA, M.E. DE; ROQUE, M. A.; RIBEIRO, J.A.; NOVAIS, D.O.; SOUZA, E.R. DE; ALMEIDA, P.F. Production of xanthan using sucrose, glycerin, vegetables leftovers in oil water effluent. **Current Opinion in Biotechnology**, 2011, 22S, S15–S152.
- [7] THOMAS, K.B.; BRAY, A.L.; BECKER, M.; TICKNER, J. Technology Innovation to Promote Alternative Chemical Technologies: Development and Testing of Biosurfactants in Aqueous Metal Cleaning Applications. **Toxics use Reduction Institute**, 1997, 1-101.
- [8] HABA, E.; PINAZO, A.; JAUREGUI, O.; ESPUNY, M.J.; INFANTE, M.R. MANRESA, A. Physicochemical Characterization and Antimicrobial Properties of Rhamnolipids Produced by *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 NCBIM 40044. **Biotechnology and Bioengineering**, 2003, 81, 316-322.
- [9] ABOUSEOUD, M.; MAACHI, R.; AMRANE, A.; BOUDERGUA, S.; NABI, A. Evaluation of different carbon and nitrogen sources in production of biosurfactant by *Pseudomonas fluorescens*. **Desalination**, 2008, 223, 143-151.
- [10] BURGER, M.M.; GLASER, L.; BURTON, R.M. The Enzymatic Synthesis of a Rhamnose-containing Glycolipid by Extracts of *Pseudomonas aeruginosa*. **The Journal of Biological Chemistry**, 1963, 238, 2595-2602.
- [11] CAMPOS-GARCÍA, J.; CARO, A.D.; NÁJERA, R.; MILLER-MAIER, R.M.; AL-TAHHAN, R.A.; SOBERÓN-CHÁVEZ, G. The *Pseudomonas aeruginosa* *rhlG* Gene Encodes an NADPH-Dependent β -Ketoacyl Reductase Which Is Specifically Involved in Rhamnolipid Synthesis. **Journal of Bacteriology**, 1998, 180, 4442-4451.
- [12] OCHSNER U.A.; FIECHTER, A.; REISER, J. Isolation and Characterization, and Expression in *Escherichia coli* of the *Pseudomonas aeruginosa* *rhlAB* gene Encoding a Ramnosyltransferase involved in Rhamnolipid Biosurfactant Synthesis. **The Journal of Biological Chemistry**, 1994, 269, 19787- 19795.
- [13] PEARSON, J.P.; GRAY, K.M.; PASSADOR, L.; TUCKER, K.D.; EBERHARD, A.; IGLEWSKI, B.H.; GREENBERG, E.P. Structure of the autoinducer required for expression of *Pseudomonas aeruginosa* virulence genes. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 1994, 91, 197–201.
- [14] MAIER, R.M.; CHAVÉS, G.S. *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipids: biosynthesis and potential applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 2000, 54, 625-633.

- [15] RAHIM, R.; OCHSNER, U.A.; OLVERA, C.; GRANINGER, M.; MESSNER, P.; LAM, J.; SOBERÓN-CHÁVEZ, G. Cloning and functional characterization of the *Pseudomonas aeruginosa* rhlC gene that encodes rhamnosyltransferase 2, and enzyme responsible for di-rhamnolipid biosynthesis. **Molecular Microbiology**, 2001, 40, 708-718.
- [16] HEID, C.A.; STEVENS, J.; LIVAK, K.; WILLIAMS P.M. Real time quantitative PCR. **Genome Research**, 1996, 6, 986-994.
- [17] BUSTIN, S.A. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. **Journal of Molecular Endocrinology**, 2000, 25, 169-193.
- [18] BODOUR, A.A.; MILLER-MAIER, R.M., 1998. Application of a modified drop-collapse technique for surfactant quantitation and screening of biosurfactant-producing microorganisms. **Journal of Microbiological Methods**, 32, 273–280.
- [19] WANG, Q.; FANG, X.; BAI, B.; LIANG, X.; SHULER, P. J.; GODDARD III, W.A.; TANG, Y. Engineering Bacteria for Production of Rhamnolipid as an Agent for Enhanced Oil Recovery. **Biotechnology and Bioengineering**, 2007, 98, 842-853.
- [20] NOLAN, T.; HANDS, R.E.; BUSTIN, S.A. Quantification of mRNA using real-time RT-PCR. **Nature Protocols**, 2006, 1, 1559-1582.
- [21] BAZIRE, A.; DHEILLY, A.; DIAB, F.; MORIN, D.; JEBBAR, M.; HARAS, D. DUFOUR, A. Osmotic stress and phosphate limitation alter production of cell-to-cell signal molecules and rhamnolipid biosurfactant by *Pseudomonas aeruginosa*. **FEMS Microbiology Letters**, 2005, 253, 125-131.
- [22] LENZ, A.P.; WILLIAMSON, K. S.; PITTS, B.; STEWART, P.S.; FRANKLIN, M. Localized Gene Expression in *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. **Applied and Environmental Microbiology**, 2008, 74, 4463-4471.
- [23] SAVLI, H.; KARADENIZLI, A.; KOLAYLI, F.; GUNDES, S.; OZBEK, U.; VAHABOGLU, H. Expression stability of six housekeeping genes: a proposal for resistance gene quantification studies of *Pseudomonas aeruginosa* by real-time quantitative RT-PCR. **Journal of Medical Microbiology**, 2003, 52, 403-408.
- [24] HELLEMANS, J.; MORTIER, G.; PAEPE, A. DE; SPELEMAN, F.; VANDESOMPELE, J. qBase relative quantification framework and software for management and automated analysis of real-time quantitative PCR data. **Genome Biology**, 2007, 8, R19.1 - R19.14.
- [25] HONG, S.; SEO, P.J.; YANG, M.; XIANG, F.; PARK, C. Exploring valid reference genes for gene expression studies in *Brachypodium distachyon* by real-time PCR. **BMC Plant Biology**, 2008, 8, 1-11.
- [26] VANDESOMPELE, J.; PRETER, K. DE; PATTYN, F. POPPE, B.; VAN ROY, N.; PAEPE, A. DE; SPELEMAN, F. Accurate normalization of real-time quantitative RT-

PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. **Genome Biology**, 2002, 3, 1-12.

[27] PFAFFL, M.W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. **Nucleic Acids Research**, 2001, 29, 2002-2007.

[28] RIEU, I.; POWERS, S.J. Real-Time Quantitative RT-PCR: Design, Calculations, and Statistics. **The Plant Cell**, 2009, 21, 1031–1033.