



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
CAMPUS IZTACALA**

**CONTROL MICROBIOLOGICO EN SISTEMAS DE  
RECUPERACION SECUNDARIA (COSTA AFUERA)  
UTILIZANDO EL BIOCIDA COMERCIAL BASE THPS**  
*(Tetrakishydroxymethyl phosphonium sulphate)*

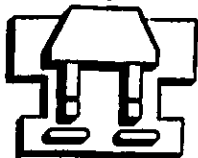
**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**B I O L O G A**

P R E S E N T A :

**MARIA DE JESUS PULIDO CRISTOBAL**



*2000*



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## AGRADECIMIENTOS

A la UNAM Campus Iztacala por todo lo que me ha brindado y por permitirme ser parte de ella.

Al Instituto Mexicano del Petróleo por permitirme realizar el presente trabajo y por el apoyo económico otorgado. Agradezco especialmente al laboratorio del área de corrosión por todas las facilidades otorgadas para desarrollar la parte experimental.

Al Ing. Victor Manuel García Arriaga por haber aceptado dirigir este trabajo y por todo el apoyo brindado durante la realización del mismo.

Agradezco al Ing José Fidel Guadarrama Muñoz por sus consejos y comentarios que sirvieron para mejorar la calidad del presente trabajo.

A la Dra. Gloria Vilaclara Fatjó por haberse tomado la molestia de revisar este trabajo, el cual se vió enriquecido con sus críticas y sugerencias.

Al Biól. Mario Chávez Arteaga ya que sus observaciones y correcciones sirvieron para mejorar este documento.

Al M. en C. Jonathan Franco López por aceptar ser revisor de esta tesis y por todos sus comentarios.

Al M. en C. Adolfo Cruz Gómez por sus observaciones y sugerencias durante la revisión de ésta.

Al M. en C. Horacio Vázquez López por todos sus comentarios y críticas que sirvieron para enriquecer este documento, quién además, siempre estuvo dispuesto a ayudarme en las correcciones del mismo.

Al Ing. Ernesto Ibarra, jefe del área de corrosión por todas las facilidades y apoyo brindado durante la realización de la parte experimental.

# ÍNDICE

	Página
Resumen .....	M
Introducción .....	1
Factores que influyen en el proceso de corrosión microbiológica .....	4
Microorganismos asociados con el proceso de la corrosión .....	5
Mecanismo de corrosión microbiológica .....	6
Antecedentes .....	8
Objetivos .....	10
Área de estudio .....	11
Descripción del Proceso de Inyección de Agua .....	11
Material y Métodos .....	15
Resultados .....	18
Análisis y Discusión .....	40
Conclusiones .....	44
Recomendaciones .....	45
Literatura citada .....	46
Apéndice .....	52

## RESUMEN

Mediante la técnica de estría cruzada se aislaron y purificaron las cepas bacterianas encontradas en los puntos de salida de planta y ABK- P y utilizando las pruebas bioquímicas correspondientes se lograron identificar los siguientes géneros; *Pseudomonas sp*, *Serratia sp*, *Alcaligenes sp*, y *Vibrio sp*. La evaluación de la eficiencia del biocida comercial de base THPS (tetrakis(hydroxymethyl) Phosphonium Sulphate) se realizó con la mezcla de bacterias aerobias facultativas mencionadas anteriormente en un volumen de 500 ml de agua de mar artificial, empleando para su recuento la técnica de cuenta total en placa. Las evaluaciones se realizaron en dos etapas; una etapa preliminar y otra confirmativa, en ésta última se incluyeron las evaluaciones: a) en presencia de  $O_2$  (5-6 mg/l) y b) en condiciones anóxicas, utilizando  $NaHSO_3$  y  $H_2SO_3$  como secuestrantes de  $O_2$ ; estos dos últimos se evaluaron a partir de 0.8 mg/l de oxígeno, a los que también se les adicionó  $N_2$  gaseoso para mantener una atmósfera anóxica. Asimismo, se midieron los parámetros fisicoquímicos de temperatura, pH y  $O_2$  residual. Adjunto a esto, se midieron los residuales del producto biocida y del  $NaHSO_3$ . Para estimar la existencia de diferencias significativas entre las concentraciones empleadas del biocida base THPS, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) para un diseño experimental con un factor en bloques. Los resultados obtenidos durante las evaluaciones realizadas indican que el producto biocida de base THPS controla eficientemente la población bacteriana empleada. Los resultados indican una mayor eficiencia del producto biocida en presencia de oxígeno registrándose eficiencias del 99 al 100%, y eficiencias del 98 al 100%, cuando el biocida se encuentra mezclado con los dos secuestrantes de oxígeno durante las 6 horas de contacto. De la ANOVA aplicada no se encontraron diferencias significativas entre las medias de las concentraciones (50, 100, 200, 300 y 500 mg/l de THPS) del biocida utilizadas, a excepción de los controles que no recibieron tratamiento, lo cual indica que aun bajas concentraciones ejercen efecto biocida.

## INTRODUCCIÓN

En México existe una economía que se basa principalmente en la producción petrolera; debido a esto, es de vital importancia controlar uno de los problemas más graves que se presentan en los procesos de extracción, como es el caso de la corrosión inducida por microorganismos (Romero, 1986). El fenómeno de corrosión es el resultado del proceso metabólico tanto de microorganismos aerobios como anaerobios (Watkins, 1988; Arias y Liesa, 1992; Chávez, 1996). Los problemas de la corrosión inducida por microorganismos afectan generalmente a numerosas industrias, tales como la industria del papel, la industria de los alimentos, aeronáutica, naval, la extractiva del petróleo (en los procesos de recuperación secundaria costa afuera), y almacenamiento y transporte de hidrocarburos, entre otros (Videla y Salvarezza, 1984; Chatterjee y Banerjee, 1987).

Las bacterias son organismos unicelulares que crecen en asociaciones, en las cuales variedades diversas de microorganismos coexisten en una comunidad que usa eficientemente la energía, por lo que los efectos sinérgicos son comunes (Herro y Port, 1993), facilitando su supervivencia y su rápido crecimiento debido a la captación de una gran variedad de sustancias nutritivas. Asimismo, son capaces de eliminar productos de sus procesos metabólicos, que constituyen sustancias potencialmente peligrosas (sustancias poliméricas extracelulares) para los materiales metálicos y no metálicos (Miller, 1980; Caprari, 1987; Videla y Characklis, 1992; Hermiller, 1992; Chávez, 1996 y Smart, 1997).

En las operaciones petroleras al agotarse la energía propia de los yacimientos, disminuye la producción de los hidrocarburos hasta ser incosteable o poco atractiva su explotación. En estas circunstancias, es necesario inyectar al yacimiento un fluido líquido o gaseoso. En México, los métodos más utilizados son: a) la inyección de agua; b) la inyección de gas seco y nitrógeno, con el propósito de proporcionar energía adicional al yacimiento y, con esto, aumentar la producción y la recuperación final de hidrocarburos a través de dos o más pozos inyectoros. A esta forma de explotar los yacimientos se le conoce como recuperación secundaria (Informe técnico, 1982). De los dos métodos mencionados anteriormente en la recuperación secundaria; la inyección de agua es la más utilizada en nuestro país, por estar disponible en un volumen adecuado. Desafortunadamente, hay pocas aguas ideales y la mayoría requerirá algún tipo de procesamiento. Debido a que en la naturaleza el agua difiere que dependen del sitio en que se la extrae, ésta no presenta las características adecuadas que permitan su inyección directa al yacimiento, por lo que es necesario someterla a un proceso de tratamiento para proporcionarle ciertas características de calidad, sin las cuales en el seno de la matriz porosa y en las instalaciones superficiales resultaría indeseable. En un agua de inyección es conveniente detectar cualquier tipo de desarrollo biológico, debido a que un alto

Moreno *et al*, 1993 y Khattab, 1995). Por lo tanto, para el agua de inyección de alta calidad, un requerimiento importante es el control de los agentes corrosivos (composición de salmueras, pH, temperatura, presión y la presencia de gases disueltos como CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S y O<sub>2</sub>) y el control de la contaminación microbiológica (Endean y Sheldon, 1991).

La corrosión en éstos sistemas es debida a la presencia de oxígeno disuelto, cloruros y actividad bacteriana (Arias y Liesa, 1992). Por lo tanto la corrosión microbiológica raramente ocurre como un fenómeno aislado, ésta es acompañada por algún tipo de corrosión electroquímica (Sharpley, 1979; Videla y Salvarezza, 1984). Los microorganismos contribuyen a la corrosión directamente o por medio de sustancias provenientes de su metabolismo, desempeñando un papel importante al acelerar el proceso ya establecido o al crear las condiciones favorables para que se produzca dicho fenómeno (Chanterau, 1985; Di Cintio y De Caralis, 1993).

Desde el punto de vista electroquímico para que la corrosión ocurra deben existir las condiciones siguientes (Genescá y Ávila, 1996):

- 1) Debe haber un ánodo y un cátodo.
- 2) Debe existir un potencial eléctrico entre los dos electrodos (ánodo y cátodo).
- 3) Debe haber un conductor metálico que conecte eléctricamente el ánodo y el cátodo.
- 4) Tanto el ánodo como el cátodo deben estar sumergidos en un electrolito conductor de la electricidad, el cual está ionizado.

Dadas estas condiciones, los átomos metálicos se oxidan para formar iones positivos (cationes), mientras que otros elementos químicos (por ejemplo, O<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O, o cationes existentes) son reducidos, dando como resultado un flujo de electrones de un lugar a otro en la superficie del metal. Para todos los casos se encuentra una zona anódica donde se produce un proceso de oxidación que conduce a la disolución del metal (corrosión), mientras transcurre un proceso de reducción simultánea de algún componente del medio a través de la reacción catódica correspondiente (Fig.1).

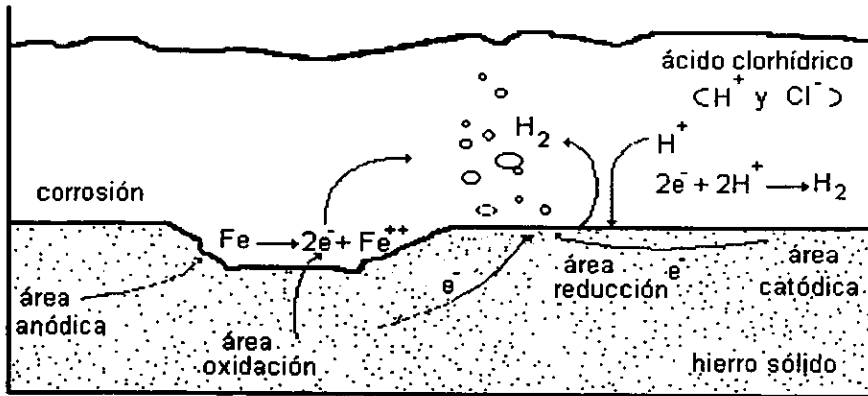


Figura 1. Proceso de oxidación/ reducción de la corrosión (tomado y modificado de Videla y Salvarezza, 1984).

En las operaciones costa afuera para prevenir y abatir los problemas de la corrosión microbiológica, se adicionan algunos productos químicos en las líneas (acueductos, oleoductos, gasoductos y poliductos) y tanques de almacenamiento para reducir el efecto de la corrosión (Pelczar y Chan, 1984; Ramírez, 1997; Smart *et al*, 1998). Estos productos son: inhibidores de la corrosión, desinfectantes, secuestrantes de oxígeno y biocidas, que también se emplean en el control de la contaminación microbiológica (Ostroff, 1979; Piluso, 1979; Caprari, 1987; Khattab, 1995; Enos y Taylor, 1996 y Shaw *et al*, 1998).

Los químicos utilizados para el control de microorganismos se clasifican como orgánicos (aminas, policlorofenoles y derivados de amonio cuaternario, etc) e inorgánicos (cloro, cromato y algunos compuestos de mercurio y plata). Algunos de estos químicos presentan cantidades variables de toxicidad para los humanos (Piluso, 1979; Ostroff, 1979 y Lu, 1992).

Los biocidas actúan en dos formas, los no oxidantes (como el biocida base THPS) de base orgánica alteran la permeabilidad de la pared celular interfiriendo en los procesos vitales de los microorganismos. Algunos atraviesan la pared celular penetrando al citoplasma y destruyen grupos proteicos; otros modifican la permeabilidad de la pared, reduciéndola y perturbando el flujo normal de nutrientes y desechos (tensoactivos aniónicos y catiónicos); determinados compuestos pasan a la pared celular y forman una suspensión coloidal con el citoplasma precipitando proteínas, y otro grupo de compuestos compete con enzimas o las bloquean impidiendo la reacción enzimática normal necesaria para la vida (compuestos órgano-sulfurosos). Los biocidas oxidantes, como el cloro, oxidan irreversiblemente los grupos proteicos, determinando la pérdida de la actividad enzimática normal y, finalmente, la muerte celular (Paniagua, 1982; Videla y Salvarezza, 1984; Brankevich *et al*, 1990; Becker y Armon, 1995; Boscan de G. y Videla, 1995).



El uso de biocidas dentro de la industria y en especial de la petrolera, ha solucionado problemas operacionales causados por microorganismos tales como fenómenos de corrosión en los sistemas de perforación, distribución en oleoductos y gasoductos, así como en los sistemas de enfriamiento de plantas petroquímicas y de refinerías, donde constituyen una flora microbiana variable y extensa que prevalece en dichas condiciones después de una aclimatación a los parámetros de temperatura, pH y sólidos disueltos del agua de recirculación, llegando a establecer un equilibrio biológico entre los diversos grupos microbianos existentes. Con esto se ocasiona toda una secuencia de problemas que pueden originar graves alteraciones operacionales y, en consecuencia, grandes pérdidas económicas desde el punto de vista de mantenimiento o reemplazo de equipo (Romero, 1986).

Por todo ello, el tratamiento con biocidas debe ser específico y adaptarse a cada situación particular, donde se consideren las características de las especies microbianas, las características fisicoquímicas del medio y las particularidades constructivas del sistema industrial a controlar (Ostroff, 1979; Videla y Salvarezza, 1984).

## FACTORES QUE INFLUYEN EN EL PROCESO DE CORROSIÓN MICROBIOLÓGICA

Se debe conocer el estado del material y su estructura, ya que por mínimas que sean las alteraciones de la superficie o el deterioro mecánico que presente el metal, corresponden a factores que permiten iniciar el proceso de corrosión. Entre los factores más importantes que intervienen en el proceso de corrosión se encuentran:

- a) La composición fisicoquímica del agua (medio) es muy importante, ya que el contenido de oxígeno y de gas carbónico llevan a la formación de óxidos y carbonatos, sobre todo en puntos donde se presenta el deterioro. El oxígeno favorece además el desarrollo de microorganismos aerobios y el gas carbónico sirve como fuente de carbono a las bacterias autótrofas.
- b) Temperatura: cada microorganismo tiene una temperatura óptima en la cual su crecimiento se acelera.
- c) pH: la acidez o la alcalinidad del medio tienen acción directa que, favorece o inhibe el desarrollo de las bacterias.

Una vez iniciado el proceso de corrosión, se observa la acción que desempeñan posteriormente los microorganismos (bacterias, hongos y algas).

## MICROORGANISMOS ASOCIADOS CON EL PROCESO DE CORROSIÓN

Los microorganismos asociados con el proceso de corrosión básicamente son cuatro grupos (Iverson, 1968 (a); Edyvean y Videla, 1991; Herro y Port, 1993; Becker y Armon, 1995; Pope y Morris III, 1995 y Smart, 1997):

- 1) Bacterias productoras de ácidos y limo. Son bacterias que se encuentran de manera común en los sistemas de recirculación de aguas de enfriamiento. Son aerobias y algunas facultativas. Éstas son las primeras en colonizar la superficie del metal, formando una cápsula gelatinosa, la cual no sólo sirve para atrapar materiales que agregan a su volumen, sino también para proteger a la bacteria contra la acción de agentes químicos y físicos. Los depósitos de limo sobre la superficie del metal pueden crear una acción de celdas locales y agravar tendencias de picadura. Ejemplos de estos microorganismos son *Flavobacterium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia* y *Alcaligenes*. Asimismo, crean condiciones libres de oxígeno bajo la colonia, lo que permite el crecimiento de bacterias sulfato-reductoras (BSR).
- 2) Las bacterias sulfato-reductoras (BSR) son anaerobias estrictas. Crecen sólo en ambientes completamente libres de oxígeno. Utilizan hidrocarburos como fuente alimenticia, pero prefieren ácidos orgánicos dados por las bacterias anteriores. Emplean el ión sulfato y lo transforman a sulfuro de hidrógeno. El sulfuro de hidrógeno es un gas corrosivo, venenoso, soluble en agua. La presencia de sulfuro de hidrógeno y ácidos orgánicos bajo las colonias de bacterias crean celdas de corrosión galvánica que causan corrosión (Ejemplo: *Desulfovibrio desulfuricans*).
- 3) Bacterias oxidantes del azufre. Oxidan el azufre elemental a ácido sulfúrico. El ácido sulfúrico causa condiciones ácidas, lo que propicia un ataque rápido al metal; después de esto las bacterias continúan el proceso de corrosión (Ejemplo: *Thiobacillus thiooxidans*).
- 4) Bacterias precipitadoras del hierro. Generalmente son aerobias, precipitan el hierro e hidróxidos de manganeso y forman una vaina dura o revestimiento de hidróxido de hierro alrededor de las bacterias. Al adherirse a la superficie del metal, el resultado es la formación de una verruga conocida como tubérculo (Ejemplos: *Crenothrix*, *Leptothrix* y *Gallionella* que, además tiende a concentrar cloruros en sus depósitos, los cuales actúan como ácidos diluidos y son únicamente corrosivos).

## MECANISMO DE CORROSIÓN MICROBIOLÓGICA

Las bacterias que provocan la corrosión pueden crecer en ambientes acuosos desde condiciones totalmente aereadas a menos aereadas hasta libres de oxígeno, y se presentan en dos formas: como colonias sésiles que se adhieren a la pared de una tubería o tanque, y bacterias planctónicas en el agua que viven en sinergismo.

En sistemas acuosos, los procesos de corrosión inducida por microorganismos pueden darse en dos formas: corrosión inducida aeróbica o anaeróbica.

La corrosión aerobia tiene lugar en presencia de oxígeno. Los requerimientos metabólicos de bacterias aerobias influyen en el movimiento de electrones lejos de la superficie metálica anódica. En controversia, los iones del metal van dentro de la solución, produciendo una corrosión de picadura en la zona anódica. Los iones del metal en solución, subsecuentemente pueden reaccionar con el oxígeno para producir depósitos insolubles al cátodo.

La corrosión anaerobia tiene lugar en ausencia de oxígeno. Los iones de hidrógeno del cátodo son liberados dentro de la solución por los requerimientos metabólicos durante el desarrollo de las bacterias anaerobias, las cuales, reaccionan con los sulfatos inorgánicos que se encuentran libres y producen grandes cantidades de sulfuro de hidrógeno. Posteriormente el sulfuro de hidrógeno puede combinarse con iones metálicos libres para producir depósitos de sulfuro metálico insoluble, el cual puede causar obstrucción de ductos y filtros.

El papel que desempeñan los microorganismos en este proceso de corrosión es una aceleración en el traslado de electrones mediante los siguientes mecanismos:

- a) Produciendo sustancias corrosivas, originadas en su crecimiento o metabolismo, que transforman un medio originalmente inerte en agresivo.
- b) Originando celdas de aereación diferencial por efecto de un consumo desigual de oxígeno en zonas localizadas.
- c) Destruyendo cubiertas protectoras sobre el metal, que son metabolizadas por los microorganismos.
- d) Consumiendo sustancias inhibitorias de la corrosión y facilitando, de esa forma, la acción de iones agresivos en el medio o producidos por el metabolismo microbiano.

Entre los puntos en que el metal presenta imperfecciones se forman las diferencias de potencial, las cuales provocan el paso de corriente a través del líquido que se encuentra en esas diferentes partes del metal. En las zonas anódicas, la corriente pasa del metal al líquido, y por el contrario, en las zonas

catódicas, la corriente pasa del líquido al metal, observándose una disolución del metal en el ánodo y la formación de hidrógeno en el cátodo (Fig. 2). En condiciones normales, el hidrógeno catódico desprendido permanece suspendido en la superficie del metal, en forma de película a escala molecular y, de este modo se crea un potencial de oposición suficiente para neutralizar "la pila". Este fenómeno corresponde a la polarización. De esta manera, al principio se produce una ligera corrosión anódica con disolución de hierro en forma de sales ferrosas que pronto se oxidan en sales férricas por efecto del oxígeno del agua. Al polarizarse los elementos, la corrosión se suspende. En esta etapa del proceso se observa una ligera capa de herrumbre que no afecta al metal y dicho estado de equilibrio puede durar mucho tiempo, en tanto que el oxígeno no movilice el hidrógeno catódico, ya que, al utilizarse éste, la corrosión se reanuda; en esta etapa participan las ferrobacterias y las bacterias reductoras de sulfatos. En la parte del ánodo las ferrobacterias obtienen su energía de la transformación acelerada del herrumbre, con lo cual rompen en forma continua el equilibrio por despolarización anódica y catódica simultáneamente. En la parte del cátodo las bacterias sulfato-reductoras movilizan el hidrógeno y provocan una despolarización catódica. Este proceso produce la disolución continua del metal y llega hasta la perforación del mismo.

□ superficie metálica

■ colonia de bacterias del limo

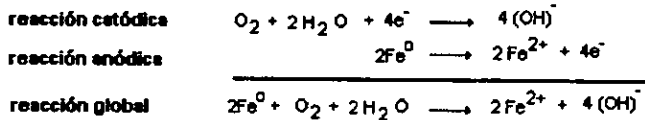
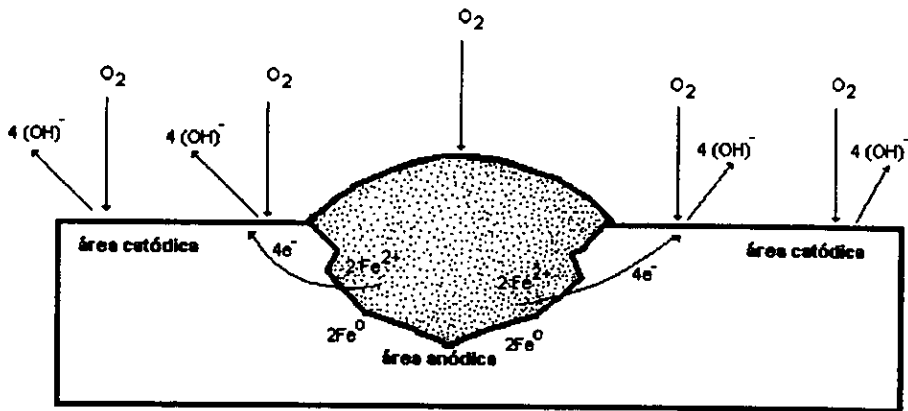


Figura 2. Mecanismo de corrosión aerobia por celdas de aireación diferencial (tomado de Videla y Salvarezza, 1984).

## ANTECEDENTES

Gaines en 1910 (Videla y Salvarezza, 1984), estableció que la corrosión del hierro era causada por la asociación de diversos tipos de bacterias, sobre todo aquellas relacionadas con el ciclo del azufre (bacterias reductoras y oxidantes del azufre) y ferrobacterias.

Los alemanes Von Wolzogen Kühr y Van der Vlugt en 1934 (Iverson, 1966), postularon una teoría para explicar la acción de las bacterias reductoras del azufre (en ausencia del oxígeno) en cañerías de hierro en suelos anegados.

La producción de hidrocarburos costa afuera se inició a fines de la década de los 20 y durante la década de los 30, en los pantanos y aguas costeras del golfo de México, y no fue hasta la década de los 50 que se reconoció como problema potencial a las bacterias, aunque éstas han estado presentes en las aguas producidas y de inyección desde los comienzos de la industria petrolera (Endean y Sheldon, 1991).

Veale *et al*, (1983) aplicaron el biocida base THPS para el control de bacterias sulfato reductoras planctónicas y sésiles en torres de enfriamiento en agua de mar y en sistemas de operación en obra, encontrando al producto extremadamente efectivo.

Sweeny y Himpler (1994) emplearon sales de amonio cuaternario en sistemas de enfriamiento de aguas para el control de la CIM "Corrosión Influenciada Microbiológicamente" y el fouling "ensuciamiento" microbiano, encontrando que dicho compuesto era muy eficaz y muy económico, pero con el inconveniente de formar espumas, lo cual limitaba el intervalo de aplicación.

Prasad (1994) comparó diferentes mezclas de glutaraldehído y sales de cloruro de amonio cuaternario utilizados frecuentemente en yacimientos para el control de la "CIM", encontrando que dichas mezclas presentaban mayor eficiencia que cualquier glutaraldehído o amina solo, después de ser probados contra BSR y bacterias productoras de ácido en dos yacimientos de agua diferentes. Asimismo, encontró al biocida base THPS eficiente para controlar dichas poblaciones.

Macleod *et al*, (1995) reportaron un nuevo biocida base THPS para la inyección de agua, sugiriendo que el biocida podría ayudar al control de los niveles de sulfuro de hidrógeno producido por el efecto de las bacterias sulfato reductoras, encontrando que si la dosis del biocida se suspende, los niveles de sulfuro de hidrógeno aumentan, provocando problemas de corrosión.

El biocida base THPS controla con éxito poblaciones sésiles de bacterias sulfato reductoras y bacterias aerobias en general, cuando es usado para tratar un sistema de inyección de agua (Informe técnico, 1998 a).

El THPS se ha utilizado ampliamente en tanques de almacenamiento, sistemas de inyección de agua, en sistemas de almacenamiento en tanques de agua y en pruebas hidrostáticas de oleoductos (informe técnico, 1998 b).

Para el caso de México, sólo en años recientes se han comenzado a tomar medidas para evitar o reducir y controlar el problema de la corrosión debida a bacterias, esto para el caso de la única paraestatal del país que se dedica a la extracción de hidrocarburos. Por lo anterior, las principales investigaciones dedicadas a la corrosión microbiológica se han realizado en la industria del petróleo, debido a que las pérdidas económicas se han definido claramente en este sector, ya que si no se tiene un control adecuado sobre la corrosión producida sobre las estructuras metálicas, se corre el riesgo no sólo de tener pérdidas económicas a la industria petrolera, sino que también podrían causarse daños al entorno.

Dado que los estudios sobre biocidas son más numerosos en bacterias anaerobias (Wanklyn y Spruit, 1952; Iverson, 1968 b; Stott y Herbert, 1986; McLean y Hamilton, 1986; Chatterjee y Banerjee, 1987; Kiefner y Eiber, 1987; Sharma *et al*, 1987; Costerton *et al*, 1988; Stott, 1988; Schick, 1990; Hermiller *et al*, 1992; Hardy, (-); Moreno *et al*, 1993; García, 1994; Peng *et al*, 1994; Prasad, 1994; Chávez, 1996; Enos y Taylor, 1996; Bulletin Technical, 1998 a y b; Informe técnico, 1998a, y Smart *et al*, 1998, entre otros), se escogió como objeto de la presente investigación el efecto del biocida base THPS sobre bacterias aerobias facultativas, con el fin de aumentar el conocimiento de cómo controlar el crecimiento de un grupo que, aun no siendo tan importante como el anaerobio, presenta una alta incidencia de problemas cuando el medio es tanto aerobio como anaerobio.

## **OBJETIVO:**

Determinar la eficiencia del biocida comercial de base THPS (Tetrakis(hydroxymethyl) Posphonium Sulphate) en bacterias aerobias facultativas presentes en el agua de inyección utilizada para la recuperación secundaria costa afuera.

## **OBJETIVOS PARTICULARES:**

- 1) Determinar la eficiencia del biocida base THPS en agua de mar artificial:
  - a) En presencia de oxígeno.
  - b) En condiciones anóxicas:
    - b<sub>1</sub>. Utilizando bisulfito de sodio como secuestrante de oxígeno.
    - b<sub>2</sub>. Utilizando ácido sulfuroso como secuestrante de oxígeno.
- 2) Determinar la concentración adecuada de biocida base THPS para controlar las bacterias aerobias facultativas presentes en las tuberías del sistema de inyección de agua.
- 3) Emitir recomendaciones sobre la adecuada aplicación del biocida en campo.

## **ALCANCE:**

Mediante ensayos de laboratorio, se conocerá la concentración adecuada de biocida base THPS que deberá emplearse en el proceso de inyección de agua, así mismo se establecerán las condiciones idóneas para llevar a cabo la dosificación del biocida base THPS para asegurar un buen control microbiológico en sistemas de inyección de agua de mar.

## ÁREA DE ESTUDIO

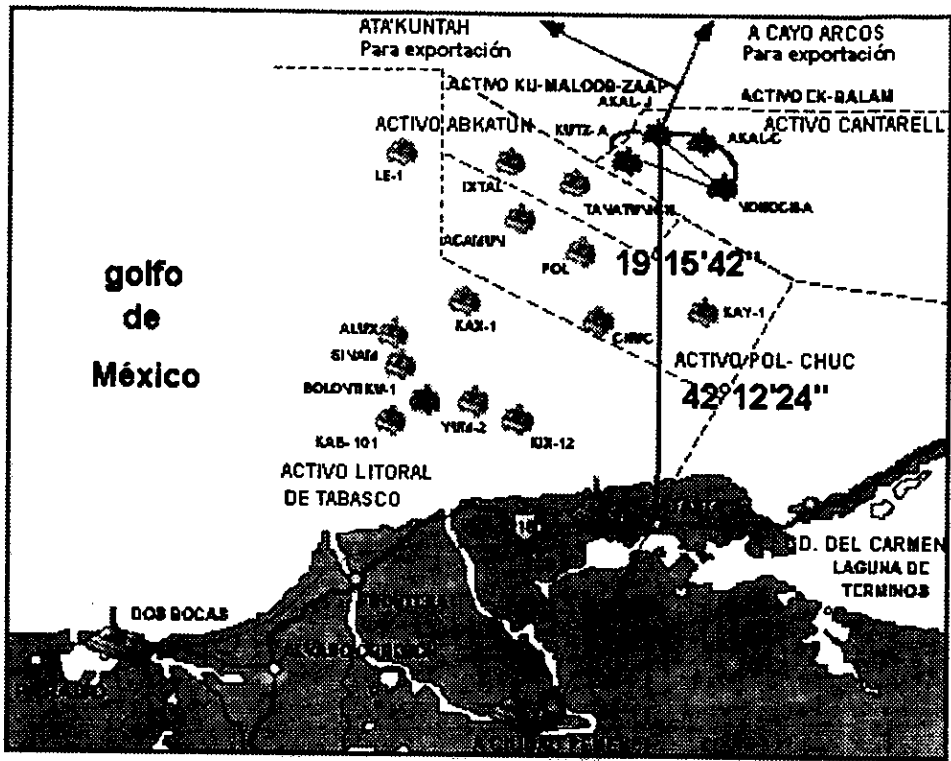
El complejo de inyección de agua Pol- Chuc, se encuentra localizado en la Sonda de Campeche a 19° 15' 42" latitud Norte y a 42° 12' 24" longitud Oeste. Dicho complejo se ubica a 43.65 millas náuticas de Ciudad del Carmen, Campeche y a 74 millas náuticas del puerto de Dos Bocas, Tabasco, México (Fig. 3).

El complejo está constituido actualmente por 8 plataformas marinas de las cuales cinco son propiamente las de inyección (plataformas satélites de inyección), ABK-N, ABK-R, ABK-Q, ABK-S y ABK-P, además de una de tratamiento y bombeo (PTB), una de control y servicios (PCS) y una habitacional (Fig. 4).

## DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DE INYECCIÓN DE AGUA EN EL COMPLEJO ACTIVO DE EXPLOTACIÓN POL- CHUC.

La planta de inyección de agua tiene por objeto acondicionar el agua de mar para reducir la carga orgánica, quitar sólidos suspendidos, eliminar el oxígeno y controlar el pH, con el fin de que se mantenga operativo el yacimiento durante toda la vida útil del proyecto. El proceso de la planta, comprende las etapas de captación, cloración, filtración, deaereación y acondicionamiento del agua por medio del tratamiento químico. Posteriormente, el agua es bombeada a una presión de 160-180 kg/cm<sup>2</sup>. Un generador de hipoclorito es empleado durante la succión de las bombas de captación y a la entrada del tren de filtros. En esta planta en particular se usa ácido sulfuroso como generador de bisulfito, además de bisulfito de sodio para eliminar el oxígeno residual disuelto posterior a la etapa deaeradora. Después de la deaereación se aplica un tratamiento químico con una combinación de biocidas, además de los inhibidores de corrosión e incrustación (Fig. 5). La planta acondiciona un volumen promedio de 390,000 bpd (barriles por día) de agua de mar para inyectarla al yacimiento por medio de las estaciones satélites que contienen los cabezales de los pozos inyectoros (Informe técnico, 1998 b).





 **EXPLORACIÓN ACEITE LIGERO**  
 **EXPLORACIÓN ACEITE PESADO**

 **LÍNEA DE CRUDO**  
 **LÍNEA DE GAS**

Figura 3. Localización del activo de explotación Pol- Chuc en el golfo de México.

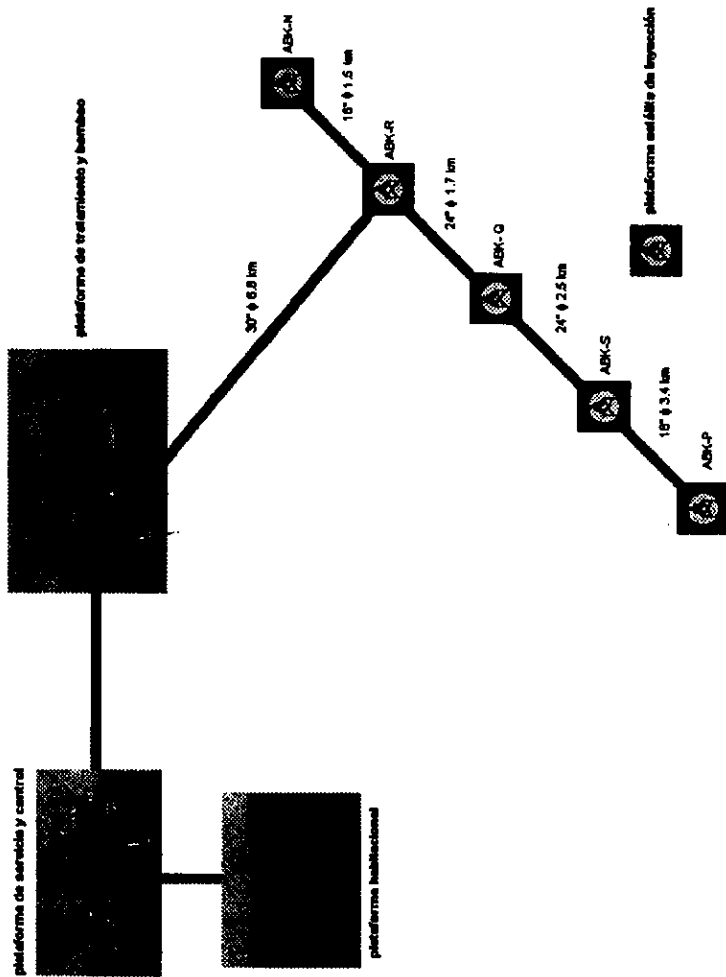


Figura 4. Complejo de inyección de agua Pol-Chuc. Modificado de García, 1994.

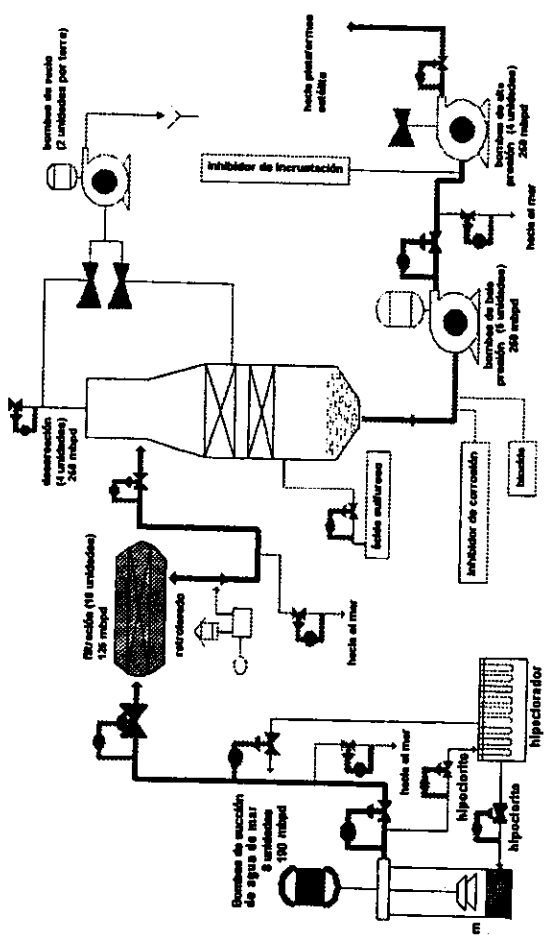


Figura 5. Diagrama sobre el proceso de tratamiento de inyección de agua.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se recolectaron muestras de agua en los puntos de salida de planta y ABK-P (Fig. 4) del sistema de tratamiento del agua de inyección para la recuperación secundaria del activo Pol- Chuc (se escogieron estos puntos con el fin de corroborar la calidad del agua del sistema de tratamiento). Las muestras (de 50 ml cada una) fueron tomadas en bolsas de polietileno estériles, de las cuales una de ellas (salida de planta) contenía 10 mg de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  1N (en caso de que existiera algún residuo de cloro en el agua, Ren- hao *et al*, 1989).

El aislamiento y purificación de las bacterias aerobias se realizó en el laboratorio de bacteriología del mismo complejo, empleando la técnica microbiológica de estría cruzada en placa en medio agar NACE. Posteriormente, el material biológico se trasladó al laboratorio de Inhibidores de Corrosión y Electroquímica del Instituto Mexicano del Petróleo de la ciudad de México.

En el laboratorio se realizó nuevamente la purificación de las bacterias empleando la misma técnica microbiológica de estría cruzada en placa en medio agar NACE (ver apéndice). La identificación se llevó a cabo siguiendo los criterios del manual de Bergey's (Buchanan y Gibbons, 1974) y Mac Faddin (1993); además de un microscan.

Se determinó una curva de crecimiento con los microorganismos encontrados en los puntos de salida de planta, ABK - P, así como una mezcla de éstos (la mezcla fue porque en un agua de inyección generalmente se encuentran las bacterias organizadas en comunidades, produciendo de este modo efectos sinérgicos) por 100 horas. Posteriormente se realizó una prueba preliminar con el biocida base THPS empleando la técnica de cuenta total en placa (Fig. 6) (NACE # 5428, 1978; McCoy, 1974; API RP-38, 1975; Pelczar y Chan, 1984; APHA, 1989; ASTM: E645, 1991). Las concentraciones empleadas fueron: 50, 100, 200, 300, 500 mg/l de biocida base THPS, para los tiempos de contacto de 0, 2, 4, 6 y 8 horas (tanto las concentraciones del biocida base THPS como los tiempos de contacto se tomaron en base a las sugerencias del Technical Bulletin, 1998 a y b).

Las diluciones decimales se hicieron de manera seriada: de un matraz se tomó 1 ml de muestra utilizando una micropipeta de 100-1000  $\mu\text{l}$  con punta estéril, ésta se transfirió a un tubo que contenía 9 ml de diluyente (agua de mar artificial estéril (ver apéndice); ASTM: D1141-1990) mezclándose perfectamente. De esta dilución se tomó 1 ml, se transfirió a un segundo tubo que también contenía 9 ml del diluyente. El procedimiento se repitió hasta obtener la dilución de  $10^{-5}$ .

De cada muestra diluida se tomó 1 ml y se agregó a una caja petri de vidrio estéril, se añadieron 16 ml del medio agar NACE a 40°C, homogeneizando y dejando gelificar a temperatura ambiente e incubando a 37°C (estufa felissa) durante 24 a 48 h.

Para la prueba definitiva se utilizó un matraz Erlenmeyer con 300 ml de agua de mar esterilizada a 15 lb/ in<sup>2</sup> (autoclave Market Forge) de presión durante 15 minutos. Éste se inoculó con 2 pasadas de asa de las cepas de salida de planta y ABK-P, homogeneizándose durante 1 hora (agitador magnético), e incubándose durante 24 h a 37°C. De este inóculo se tomaron 20 ml y se pasaron a una serie de 4 matraces que contenían 500 ml de agua de mar estéril a las concentraciones de 50, 100 y 300 mg/l de biocida base THPS; esto para los tiempos de contacto de 0, 2, 4, y 6 horas, a las mismas diluciones y tiempo de incubación.

Siguiendo la misma técnica se evaluó el comportamiento del biocida base THPS a las concentraciones anteriores y mismos tiempos de contacto en presencia de NaHSO<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> como secuestrantes de oxígeno. A éstos se les adicionó nitrógeno gaseoso para reducir los niveles de oxígeno disuelto en el agua de mar artificial (0.8 mg/l). Asimismo, se midieron los residuales de biocida base THPS, empleando un kit comercial y también de NaHSO<sub>3</sub> mediante la técnica de titulación Hach, método No. 8216, (1992).

Cálculos:

Eficiencia del Biocida (ASTM: E645-1991):

$$\text{Eficiencia (\%)} = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$

Donde:

P<sub>i</sub> = Población inicial

P<sub>f</sub> = Población final

Se evaluaron los parámetros fisicoquímicos de pH (pHmetro 430 corning), temperatura y oxígeno (oxímetro YSI modelo 58). La concentración de oxígeno también se evaluó empleando un método colorimétrico (Chemet's del intervalo de 0 -40 µg/l, 0 -1.0 mg/l y 1 -12 mg/l).

Para estimar la existencia de diferencias significativas entre las concentraciones empleadas del biocida base THPS se aplicó un ANOVA para un diseño experimental con un factor en bloques (Shefler, 1981; Durán *et al*, 1989).



## RESULTADOS

Después de realizar el aislamiento y purificación de las cepas bacterianas en los puntos muestreados de salida de planta y ABK-P, mediante los métodos y pruebas bioquímicas necesarias se encontraron los siguientes géneros:

Salida de planta: *Pseudomonas sp.*, *Vibrio sp.*, y *Serratia sp.*

ABK-P: *Pseudomonas sp.*, *Vibrio sp.*, y *Alcaligenes sp.*

Durante el desarrollo de la curva de crecimiento bacteriano de salida de planta y ABK-P y su mezcla se determinó el tiempo (horas) en el que los microorganismos alcanzan su máximo crecimiento (tabla 1), observándose que el crecimiento (fase log) inicia antes de las 24 horas de haber sido inoculado el matraz, alcanzándose el crecimiento máximo a 48 h (Fig. 7), después de lo cual se inicia un decremento (fase de muerte).

tiempo (horas)	UFC/ ml salida de Planta	UFC/ ml ABK- P	UFC/ ml salida planta y ABK-P
0	$1.101 \times 10^6$	$1.256 \times 10^6$	$7.57 \times 10^6$
5	$2.3 \times 10^6$	$1.332 \times 10^6$	$1.148 \times 10^7$
12	$5.09 \times 10^6$	$3.6 \times 10^6$	$1.98 \times 10^7$
24	$9.0 \times 10^6$	$6.0 \times 10^6$	$2.9 \times 10^7$
29	$1.46 \times 10^8$	$6.76 \times 10^6$	$1.668 \times 10^8$
48	$1.332 \times 10^8$	$1.612 \times 10^7$	$1.78 \times 10^8$
60	$7.52 \times 10^6$	$1.868 \times 10^6$	$4.52 \times 10^7$
86	$5.2 \times 10^6$	$1.823 \times 10^6$	$1.78 \times 10^7$
100	$2.076 \times 10^6$	$1.524 \times 10^6$	$1.484 \times 10^7$

Tabla 1. Curva de crecimiento de las cepas de salida de planta y ABK- P (*Pseudomonas sp.*, *Vibrio sp.*, *Serratia sp.* y *Alcaligenes sp.*).

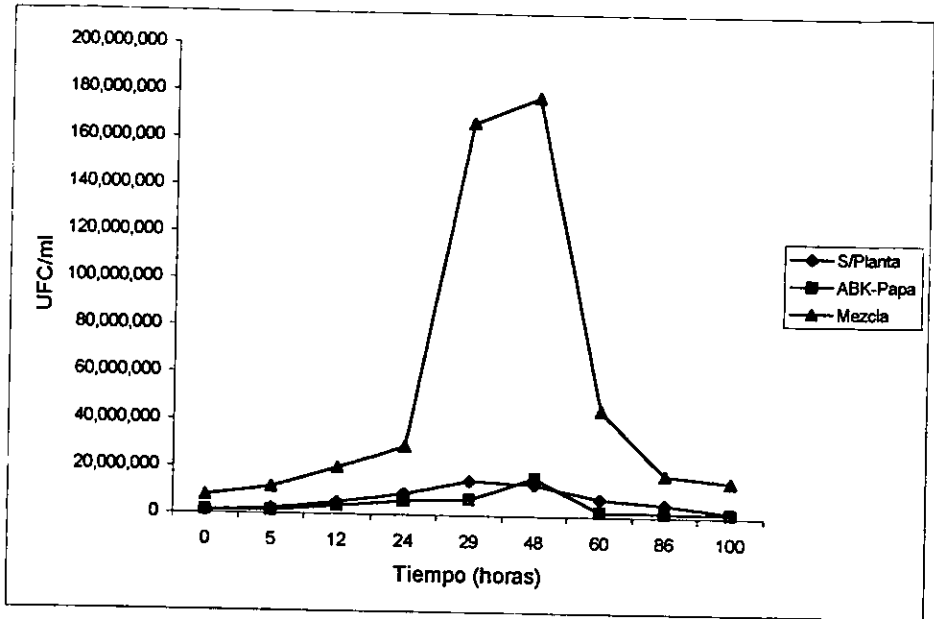


Figura 7. Curva de crecimiento bacteriano.

a) Prueba preliminar:

Posterior a la curva de crecimiento bacteriano se realizó una prueba preliminar (con el fin de conocer la concentración mínima a la cual se obtiene eficiencias cercanas al 100% en el menor tiempo de contacto) para la evaluación de la eficiencia del biocida base THPS con la mezcla de bacterias mencionadas. Los resultados obtenidos de la cuenta total en placa se presentan en las tablas 2 y 3, así como la eficiencia del producto en las figuras 8 y 9.



concentración del biocida THPS (mg/l)	UFC/ml a diferentes tiempos de contacto				
	0 horas	2 horas	4 horas	6 horas	8 horas
0	$2.252 \times 10^6$	$2.0545 \times 10^6$	$2.1605 \times 10^6$	$1.7945 \times 10^6$	$3.621 \times 10^6$
50	$2.828 \times 10^6$	$3.86 \times 10^4$	$5.0 \times 10^2$	0	0
100	$2.2 \times 10^6$	$1.92 \times 10^4$	$1.0 \times 10^2$	0	0
200	$2.9 \times 10^6$	$1.0 \times 10^4$	$1.0 \times 10^2$	0	0
300	$2.4 \times 10^6$	$2.1 \times 10^3$	$1.0 \times 10^2$	0	0
500	$2.6 \times 10^6$	$1.0 \times 10^3$	$1.0 \times 10^2$	0	0

Tabla 2. Comportamiento de la población bacteriana (salida de planta y ABK-P) con el biocida base THPS en presencia de oxígeno.

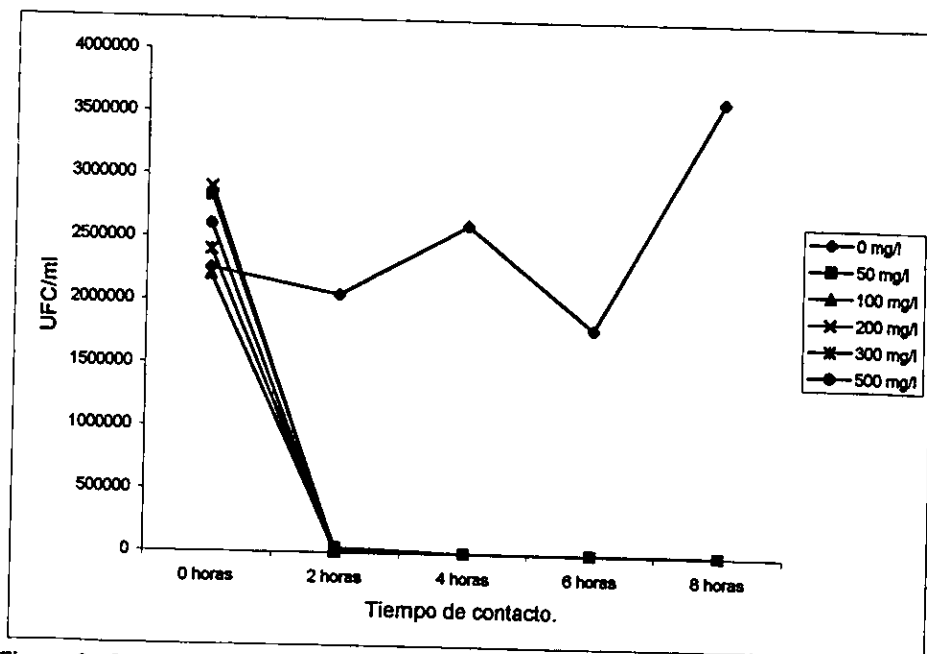


Figura 8. Cuenta total en placa de la población bacteriana en presencia de biocida base THPS en presencia de oxígeno.

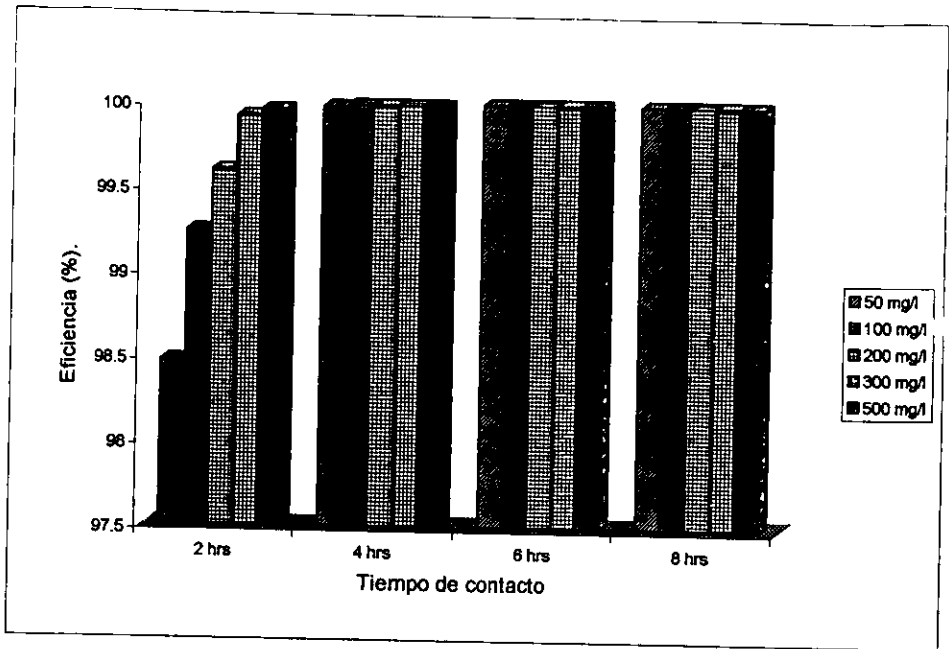


Figura 9. Eficiencia (%) del biocida base THPS en presencia de oxígeno.

concentración del biocida THPS (mg/l)	eficiencia (%) a diferentes tiempos de contacto				
	Población inicial	2 horas	4 horas	6 horas	8 horas
50	$2.53 \times 10^6$	99.47	99.98	100	100
100	$2.53 \times 10^6$	99.24	99.99	100	100
200	$2.53 \times 10^6$	99.60	99.99	100	100
300	$2.53 \times 10^6$	99.92	99.99	100	100
500	$2.53 \times 10^6$	99.96	99.99	100	100

Tabla 3. Eficiencia (%) del biocida base THPS en la población bacteriana (salida de planta y ABK - P).

b) Prueba confirmativa:

Durante la evaluación de la eficiencia del biocida base THPS se midieron los parámetros fisicoquímicos: temperatura, pH y O<sub>2</sub>. La temperatura a la cual se hicieron los ensayos fue ambiente (15 a 19°C) para todos los casos. Los valores de pH promedio en el agua de mar artificial inicial fue de 8.6, al agregar el biocida a las diferentes concentraciones (50, 100 y 300 mg/l) se observa (tabla 4) en la figura 10 que, existe una disminución en los valores de pH registrados, dicho efecto es más marcado a mayores concentraciones, debido a que el producto biocida presenta un pH ácido (4), al mismo tiempo se tuvo un control con un pH de 8.7 hasta las 6 horas de contacto. La disminución en los valores de pH que se registran en la tabla 4, es al primer contacto del biocida con el agua de mar artificial, ya que después de las dos horas de contacto este efecto desaparece para volver a incrementarse. Asimismo, el oxígeno registrado al adicionar el biocida base THPS (tabla 5) indica también una ligera disminución a partir de las dos primeras horas de contacto, ya que se tenía una concentración inicial de 6.4 mg/l de O<sub>2</sub> disuelto y al agregar el biocida se incrementa su concentración al ser menor la concentración del biocida (Fig. 11).

concentración biocida en mg/l	pH a diferentes tiempos de contacto			
	0 horas	2 horas	4 horas	6 horas
50	7.1	7.2	7.3	7.5
100	6.9	7.3	7.5	7.6
300	5.8	6.1	6.4	6.4

Tabla 4. Comportamiento del pH en agua de mar artificial en presencia del biocida base THPS en presencia de oxígeno.

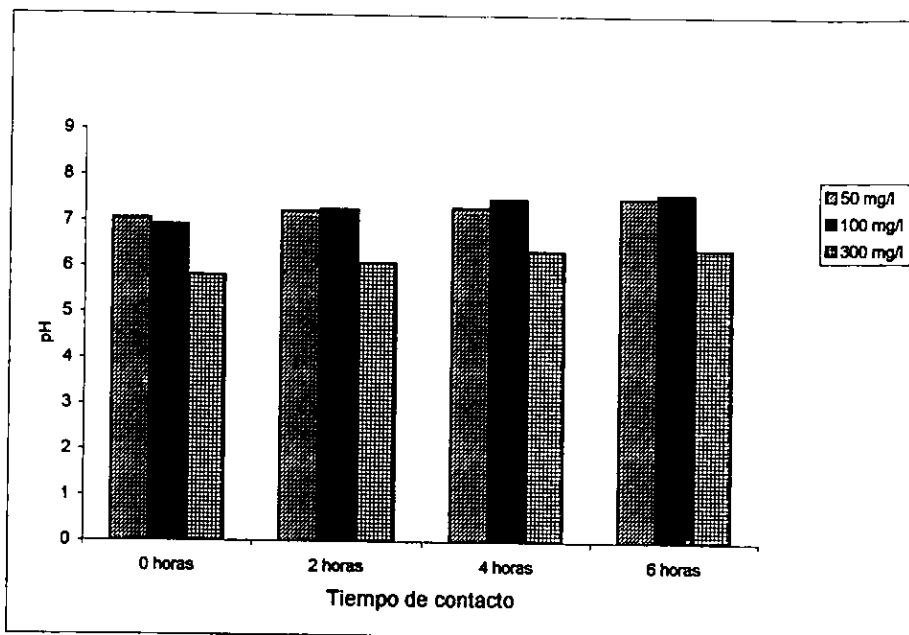


Figura 10. Comportamiento del pH en agua de mar en presencia de biocida base THPS en presencia de oxígeno.

concentración del biocida THPS (mg/l)	oxígeno disuelto (mg/l) a diferentes tiempos de contacto			
	0 horas	2 horas	4 horas	6 horas
50	6.7	6.2	6.2	6.2
100	6.7	6.5	6.0	6.2
300	6.4	6.1	6.0	6.0

Tabla 5. Comportamiento del oxígeno en agua de mar artificial en presencia del biocida base THPS en presencia de oxígeno, utilizando un oxímetro.

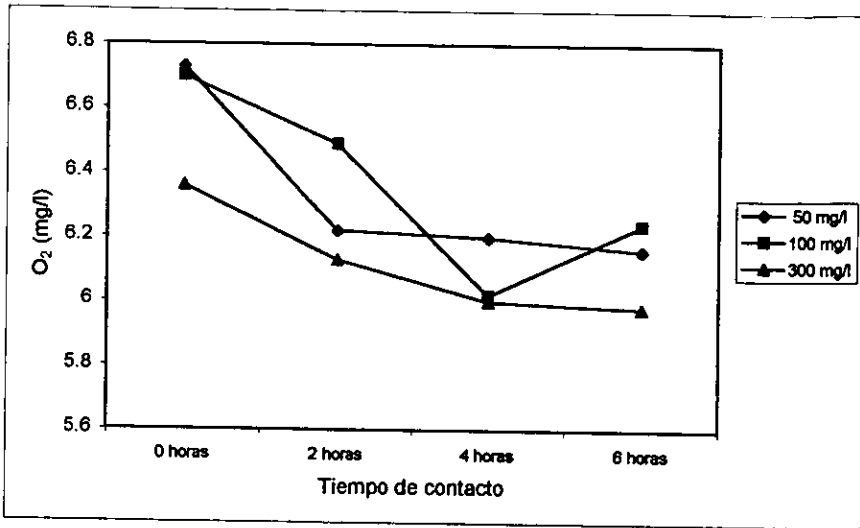


Figura 11. Comportamiento del oxígeno en presencia de biocida base THPS.

Los valores del residual de biocida base THPS (activo en mg/l) se registran en la tabla 6. En esta tabla se observa que el producto biocida se evaluó en volumen y después de agregado se midió la parte activa del producto biocida, el cual se encuentra al 50% (Fig. 12) con el kit comercial. El comportamiento que presenta la población bacteriana ante la presencia del biocida base THPS se observa en las tablas 7 y 8; así como su eficiencia en las figuras 13 y 14.

concentración del biocida THPS (mg/l)	residual de biocida base THPS (mg/l como activo)	
	0 horas	6 horas
50	36	34
100	44	40
300	140	138

Tabla 6. Residual del biocida base THPS en agua de mar artificial en presencia de oxígeno.

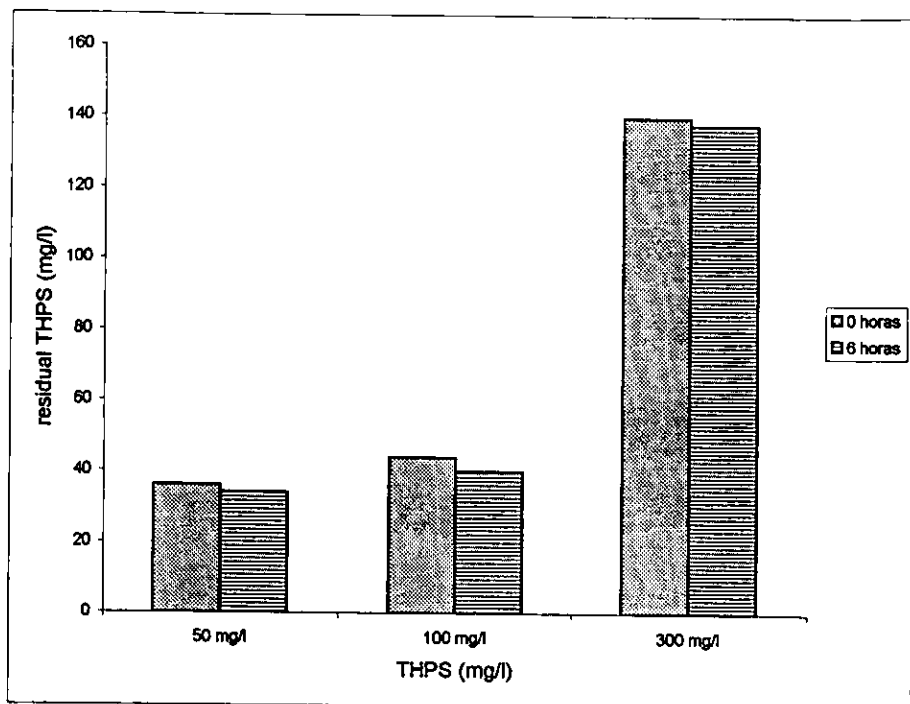


Figura 12. Residual del biocida base THPS en presencia de oxígeno.

concentración en mg/l de THPS	UFC/ml a diferentes tiempos de contacto			
	0 horas	2 horas	4 horas	6 horas
0	$3.67 \times 10^6$	$2.45 \times 10^6$	$2.0 \times 10^6$	$3.32 \times 10^6$
50	$3.2 \times 10^6$	$2.9 \times 10^4$	$8.8 \times 10^3$	$4.633 \times 10^3$
100	$3.68 \times 10^6$	$7.0 \times 10^3$	$4.2 \times 10^3$	$8.0 \times 10^2$
300	$3.21 \times 10^6$	$3.6 \times 10^3$	$9.0 \times 10^2$	$9.66 \times 10^2$

Tabla 7. Comportamiento de la población bacteriana (salida de planta y ABK- P) en presencia del biocida base THPS en presencia de oxígeno.

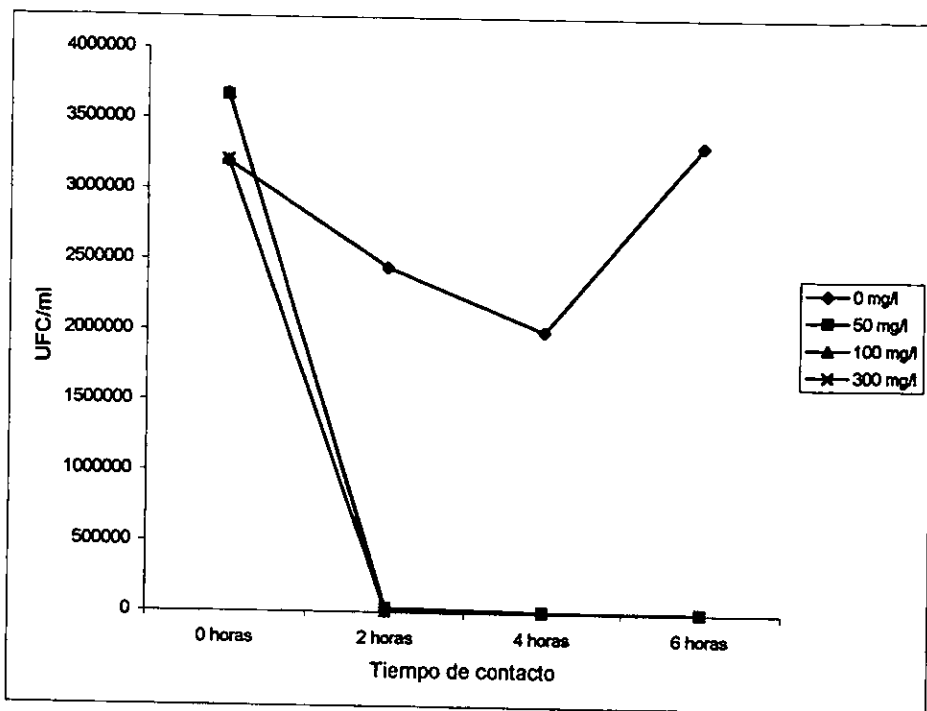


Figura 13. Cuenta total en placa de la población bacteriana en presencia de biocida base THPS en presencia de oxígeno.

concentración biocida THPS en mg/l	eficiencia (%) a diferentes tiempos de contacto			
	Población inicial	2 horas	4 horas	6 horas
50	$3.44 \times 10^6$	99.15	99.78	99.86
100	$3.44 \times 10^6$	99.79	99.97	99.98
300	$3.44 \times 10^6$	99.89	99.97	99.98

Tabla 8. Eficiencia (%) del biocida base THPS en la población bacteriana (salida planta y ABK-P) en presencia de oxígeno.

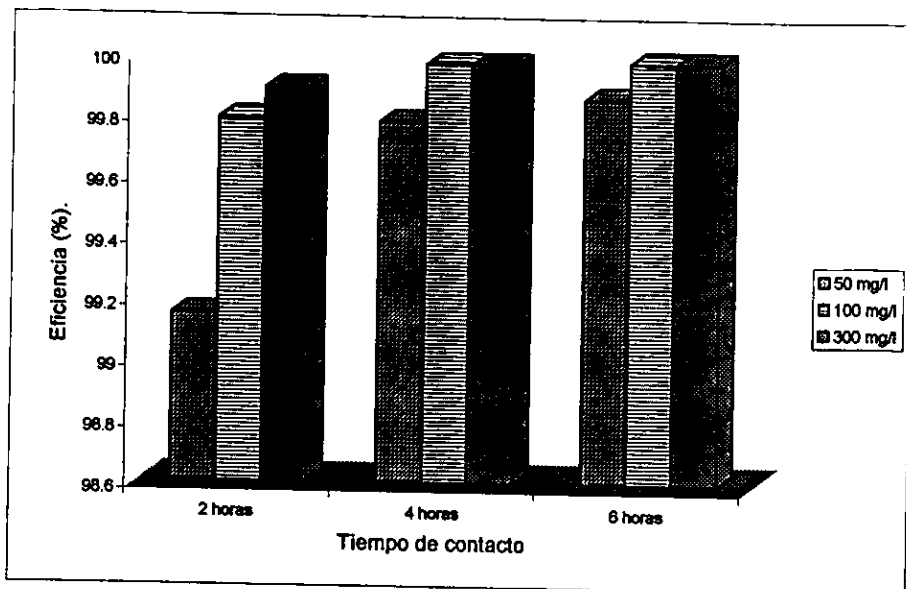


Figura 14. Eficiencia (%) del biocida base THPS en presencia de oxígeno.

Para el caso donde se evaluó la eficiencia del biocida base THPS en presencia de 50 mg/l de  $\text{NaHSO}_3$  como secuestrante de oxígeno, el pH del agua de mar artificial inicial fue de 8.7, pero al agregar tanto el bisulfito de sodio como el biocida base THPS estos valores disminuyeron hasta 5.9 (300 mg/l de biocida) al primer tiempo de contacto dicho efecto se pierde con el paso de las horas (6 horas) donde se llega a un valor de 7.7 como máximo (tabla 9 y Fig. 15). Con la adición de 50 mg/l  $\text{NaHSO}_3$  y con 0.8 mg/l de oxígeno disuelto en el agua de mar artificial, además de una atmósfera de nitrógeno se logró abatir completamente el oxígeno (tabla 10), sin embargo, después de las 4 horas de contacto se registraron trazas de oxígeno residual del orden de 10 a 40  $\mu\text{g/l}$  (Fig. 16).



concentración de biocida THPS en mg/l	pH a diferentes tiempos de contacto con THPS y 50 mg/l de NaHSO <sub>3</sub>			
	0 horas	2 horas	4 horas	6 horas
0	7.3	7.3	7.4	7.5
50	7.1	7.5	7.6	7.7
100	6.7	7.1	7.2	7.3
300	5.9	6.3	6.5	6.6

Tabla 9. Comportamiento del pH en agua de mar artificial en presencia de biocida base THPS y 50 mg/l de NaHSO<sub>3</sub> a partir de 0.8 mg/l de oxígeno.

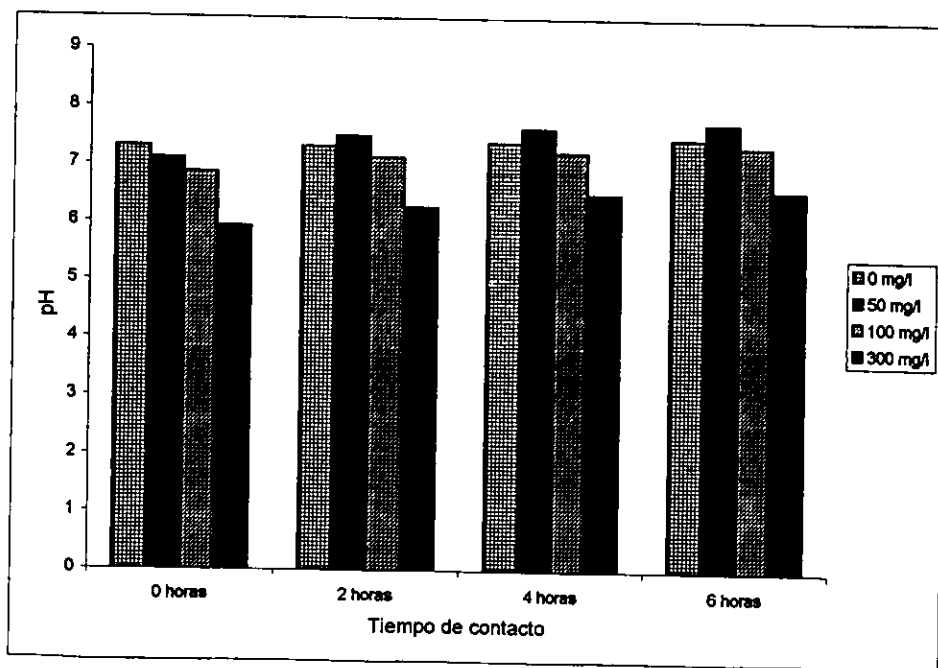


Figura 15. Comportamiento del pH en agua de mar en presencia de biocida THPS y NaHSO<sub>3</sub>.

concentración del biocida THPS en mg/l	oxígeno ( $\mu\text{g/l}$ ) a diferentes tiempos de contacto con THPS y 50 mg/l de $\text{NaHSO}_3$			
	0 horas	2 horas	4 horas	6 horas
0	0	0	0	0
50	0	0	10	30
100	0	0	15	40
300	0	0	0	10

Tabla 10. Comportamiento del oxígeno en agua de mar artificial en presencia de THPS y 50 mg/l de  $\text{NaHSO}_3$  a partir de 0.8 mg/ de oxígeno, utilizando Chemet's.

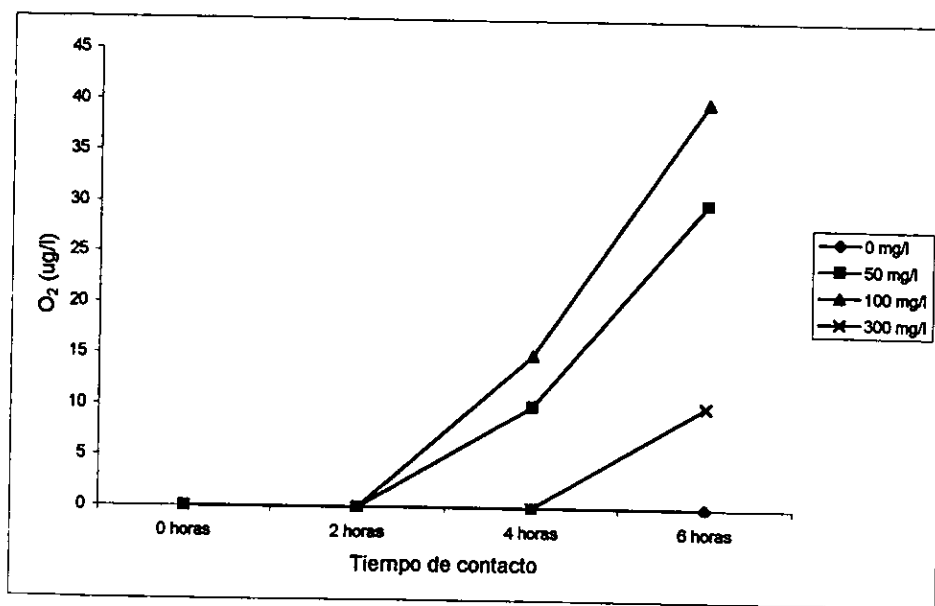


Figura 16. Comportamiento del oxígeno en presencia del biocida base THPS y  $\text{NaHSO}_3$ .

En las tablas 11 y 12 se presentan los residuales del  $\text{NaHSO}_3$  y del biocida base THPS donde se observa muy poco consumo de dichos productos durante las seis horas de exposición (Figuras 17 y 18). Los resultados de la cuenta total en placa y las eficiencias del biocida base THPS se muestran en las tablas 13 y 14, así como en las figuras 19 y 20 respectivamente.

concentración de biocida THPS (mg/l)	residual de NaHSO <sub>3</sub> (mg/l) a diferentes tiempos de contacto en presencia de biocida THPS			
	0 horas	2 horas	4 horas	6 horas
0	35.2	32.8	30	23.6
50	39.2	30.8	31.4	31.2
100	30.8	28.8	27.6	26.8
300	43.2	43.2	41.6	42.4

Tabla 11. Residual del NaHSO<sub>3</sub> en agua de mar artificial en presencia de biocida THPS, a partir de 0.8 mg/l de oxígeno.

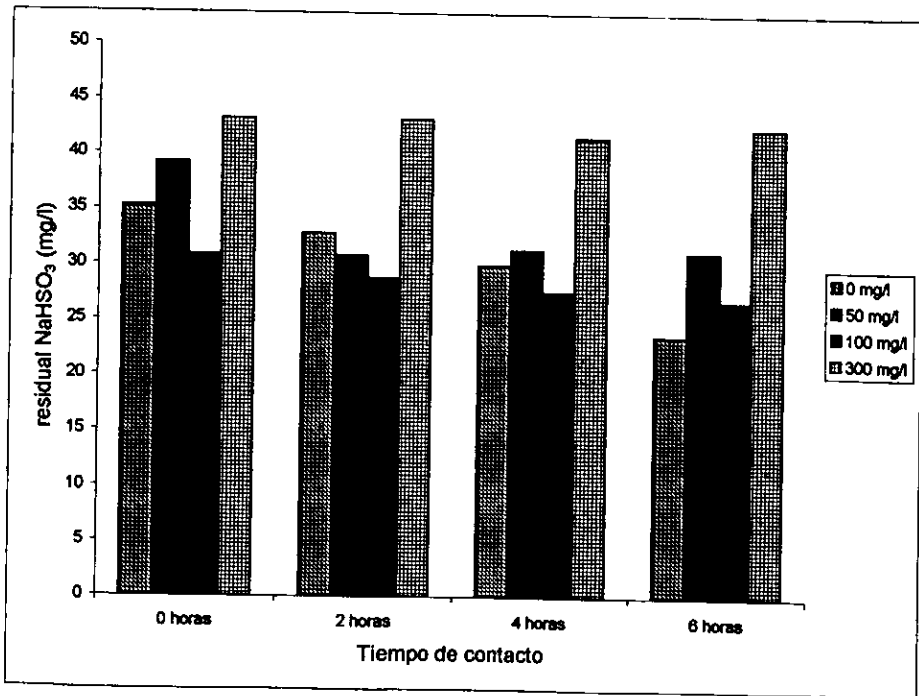


Figura 17. Residual de NaHSO<sub>3</sub> en presencia de THPS.

concentración del biocida THPS (mg/l)	residual de biocida THPS (mg/l como activo)	
	0 horas	6 horas
50	50	50
100	58	60
300	138	142

Tabla 12. Residual del biocida base THPS en agua de mar artificial en presencia de 50 mg/l de  $\text{NaHSO}_3$ , a partir de 0.8 mg/l de oxígeno.

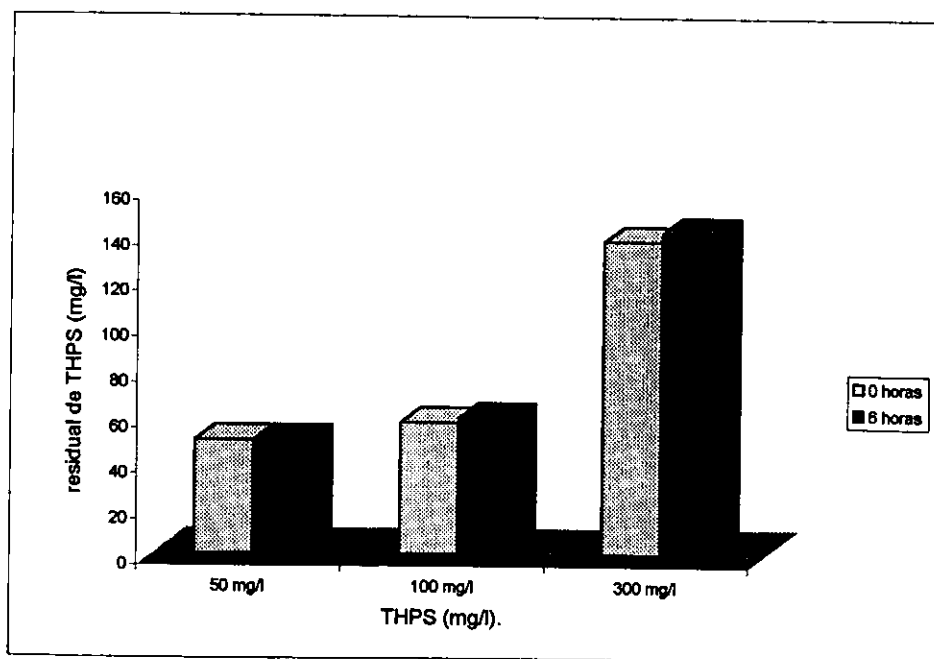


Figura 18. Residual de THPS en presencia de  $\text{NaHSO}_3$ .

concentración de biocida THPS (mg/l)	UFC/ml a diferentes tiempos de contacto			
	0 horas	2 horas	4 horas	6 horas
0	$3.92 \times 10^6$	$1.77 \times 10^6$	$2.3 \times 10^6$	$2.42 \times 10^6$
50	$6.92 \times 10^5$	$1.02 \times 10^3$	$6.5 \times 10^4$	$1.9 \times 10^4$
100	$5.86 \times 10^5$	$3.6 \times 10^4$	$2.6 \times 10^4$	$4.8 \times 10^3$
300	$6.5 \times 10^6$	$1.0 \times 10^4$	$7.4 \times 10^3$	$3.0 \times 10^2$

Tabla 13. Comportamiento de la población bacteriana (salida de planta y ABK-P) en presencia del biocida base THPS y 50 mg/l de  $\text{NaHSO}_3$ , a partir de 0.8 mg/l de oxígeno.

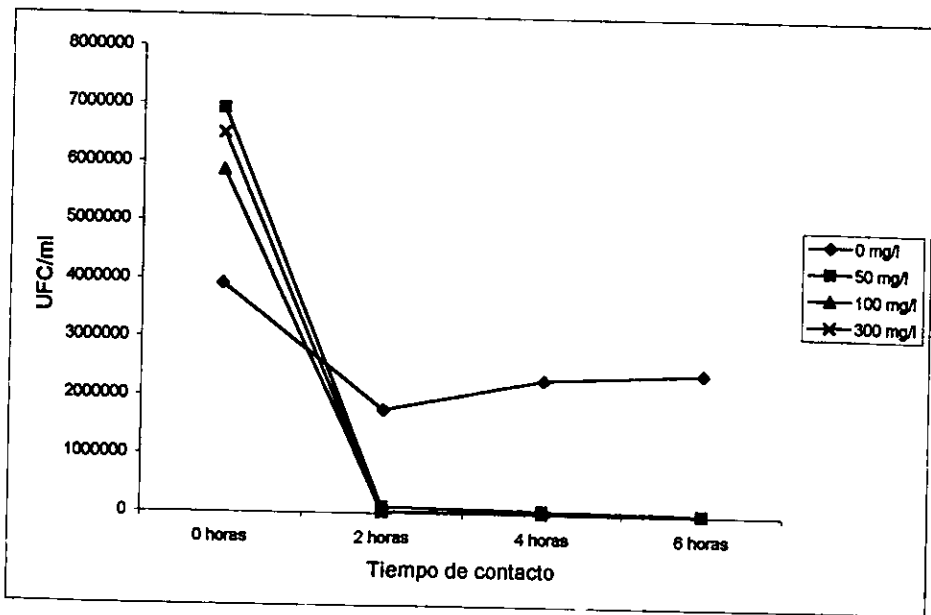


Figura 19. Cuenta total en placa de la población bacteriana en presencia de biocida base THPS y  $\text{NaHSO}_3$ .

concentración del biocida THPS en mg/l	eficiencia (%) a diferentes tiempos de contacto			
	Población inicial	2 horas	4 horas	6 horas
50	$5.8 \times 10^6$	98.24	98.86	99.67
100	$5.8 \times 10^6$	99.37	99.55	99.92
300	$5.8 \times 10^6$	99.83	99.87	99.99

Tabla 14. Eficiencia (%) del biocida de base THPS en la población bacteriana (salida de planta y ABK-P) en presencia de 50 mg/l de  $\text{NaHSO}_3$ , a partir de 0.8 mg/l de oxígeno.

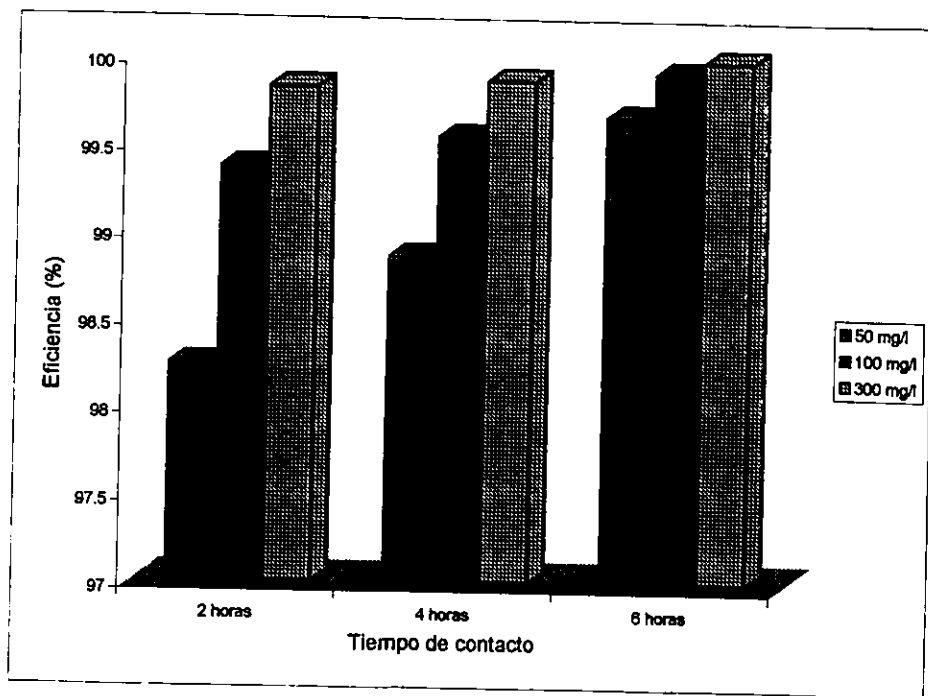


Figura 20. Eficiencia (%) del biocida base THPS en presencia de  $\text{NaHSO}_3$ .

En comportamiento del pH es similar a las dos evaluaciones anteriores. De un pH inicial de 8.3 en el agua de mar artificial, al agregar 4333 mg/l de  $H_2SO_3$  se presenta una disminución al contacto con el agua, pero aún más cuando se adiciona el biocida (tabla 15), presentándose un valor mínimo de 5.7 para la concentración de 300 mg/l de biocida al primer contacto y 7.8 como máximo para la 100 mg/l de biocida (Fig.21). En el agua de mar artificial partiendo de 0.8 mg/l de oxígeno disuelto, el  $H_2SO_3$  al igual que el  $NaHSO_3$ , logra abatir completamente el oxígeno residual disuelto (tabla 16) y también en este caso, después de las 4 horas de contacto se registran trazas de oxígeno (Fig. 22) del orden de 5 a 50  $\mu g/l$ .

concentración del biocida THPS en mg/l	pH a diferentes tiempos de contacto en presencia de THPS y 4333 mg/l de $H_2SO_3$			
	0 horas	2 horas	4 horas	6 horas
0	7.1	7.4	7.5	7.6
50	6.9	7.2	7.5	7.6
100	6.5	7.7	7.7	7.8
300	5.7	6.4	6.6	6.7

Tabla 15. Comportamiento del pH en agua de mar artificial en presencia del biocida base THPS y 4333 mg/l de  $H_2SO_3$ , a partir de 0.8 mg/l de oxígeno.

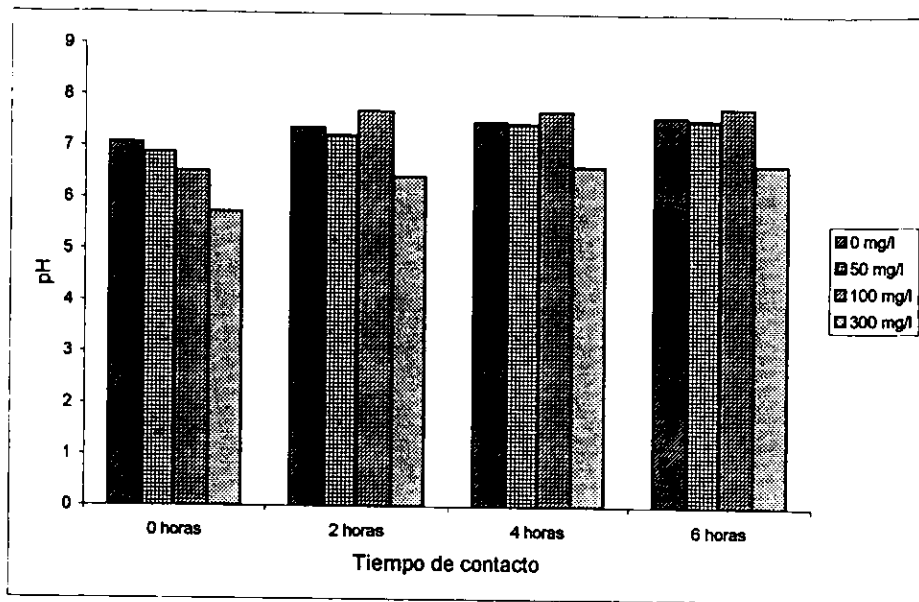


Figura 21. Comportamiento del pH en agua de mar en presencia del biocida base THPS y  $H_2SO_3$ .

concentración del biocida THPS en mg/l	oxígeno ( $\mu\text{g/l}$ a diferentes tiempos de contacto)			
	0 horas	2 horas	4 horas	6 horas
0	0	0	0	0
50	0	0	10	40
100	0	0	10	50
300	0	0	5	15

Tabla 16. Comportamiento del oxígeno en agua de mar artificial en la presencia de biocida base THPS y  $4333 \text{ mg/l}$  de  $H_2SO_3$ , a partir de  $0.8 \text{ mg/l}$  de oxígeno del agua, utilizando chemet's.



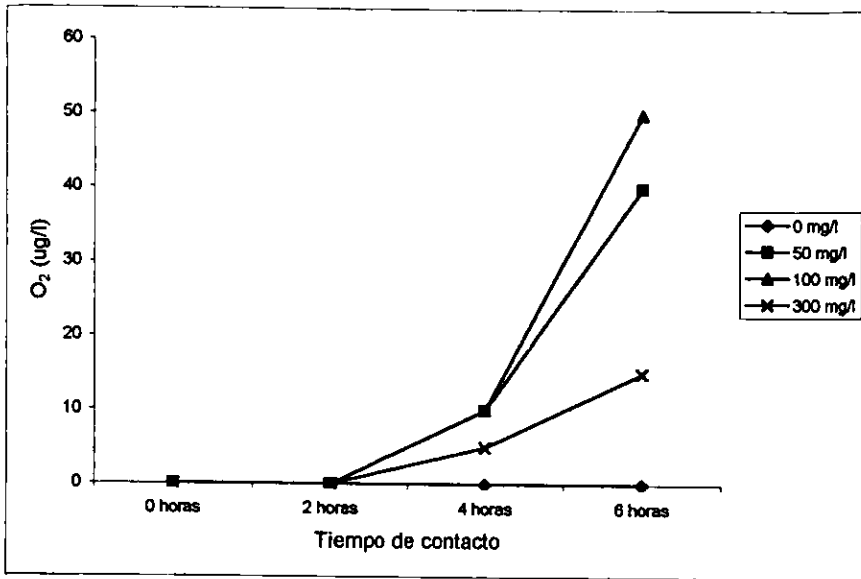


Figura 22. Comportamiento del oxígeno en presencia de biocida base THPS y H<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>.

En la tabla 17 y figura 23 se observan los valores del residual de biocida base THPS ( como activo en mg/l) en presencia de H<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>. El comportamiento que presenta la población bacteriana (salida planta y ABK-P) en la presencia del biocida base THPS se presentan en las tablas 18 y 19; así como sus eficiencias en las figuras 24 y 25 respectivamente.

comportamiento del biocida THPS (mg/l)	residual de biocida THPS (mg/l como activo)	
	0 horas	6 horas
50	32	34
100	58	62
300	148	144

Tabla 17. Residual de biocida base THPS en agua de mar artificial en presencia de 4333 mg/l H<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, a partir de 0.8 mg/l de oxígeno.

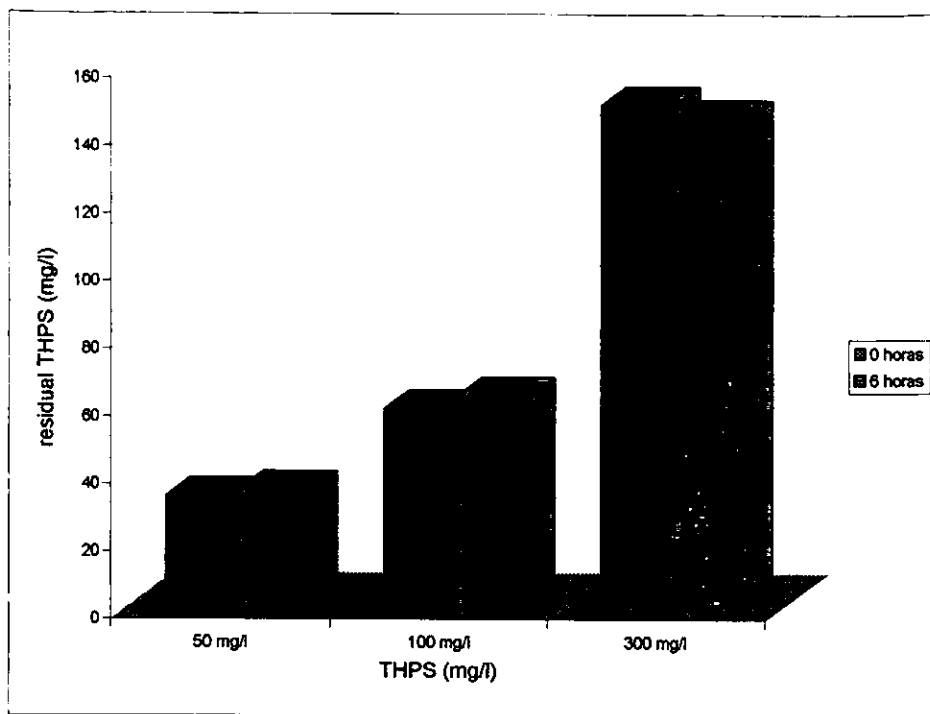


Figura 23. Residual de THPS en presencia de  $H_2SO_3$ .

concentración del biocida THPS en mg/l	UFC/ml a diferentes tiempos de contacto			
	0 horas	2 horas	4 horas	6 horas
0	$3.92 \times 10^6$	$1.384 \times 10^6$	$1.7 \times 10^6$	$3.2 \times 10^6$
50	$6.92 \times 10^6$	$6.64 \times 10^4$	$2.23 \times 10^4$	$3.6 \times 10^3$
100	$5.86 \times 10^6$	$4.32 \times 10^4$	$3.67 \times 10^4$	$1.0 \times 10^3$
300	$6.5 \times 10^6$	$6.2 \times 10^4$	$1.44 \times 10^4$	$4.0 \times 10^2$

Tabla 18. Comportamiento de la población bacteriana (salida de planta y ABK-P) en presencia del biocida base THPS y 4333 mg/l de  $H_2SO_3$ , a partir de 0.8 mg/l de oxígeno.

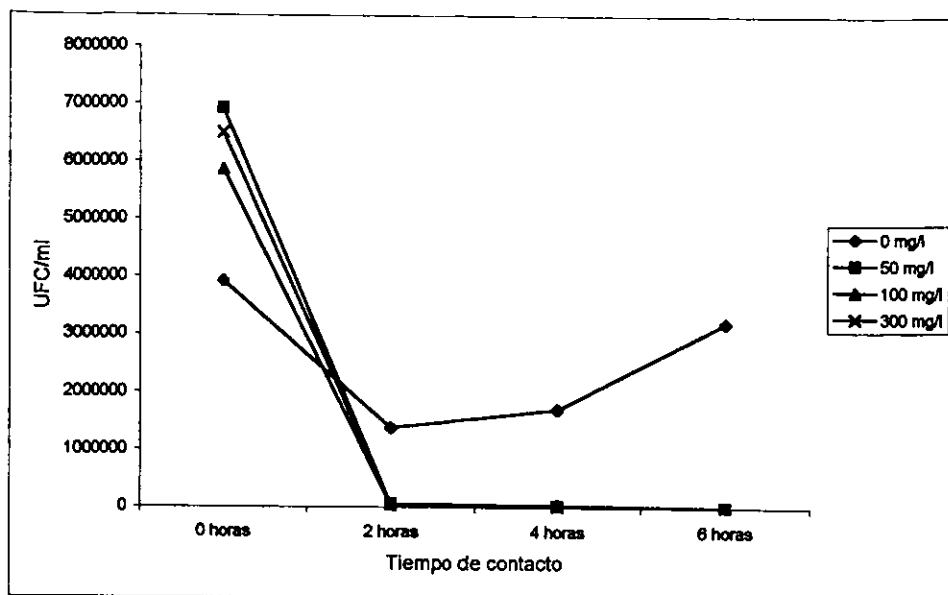


Figura 24. Cuenta total de la población bacteriana en presencia del biocida base THPS y  $H_2SO_3$ .

concentración del biocida THPS en mg/l	eficiencia (%) a diferentes tiempos de contacto			
	Población inicial	2 horas	4 horas	6 horas
50	$4.206 \times 10^6$	98.42	99.47	99.91
100	$4.206 \times 10^6$	98.97	99.13	99.98
300	$4.206 \times 10^6$	98.52	99.66	99.99

Tabla 19. Eficiencia (%) del biocida base THPS en presencia de 4333 mg/l  $H_2SO_3$  en la población bacteriana (salida de planta y ABK- P), partiendo de 0.8 mg/l de oxígeno.

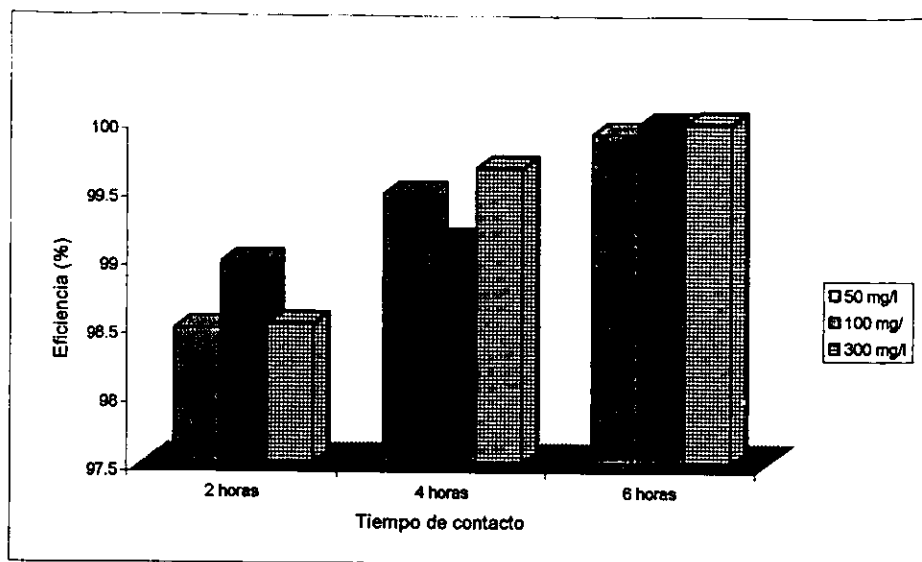


Figura 25. Eficiencia (%) del biocida base THPS en presencia de H<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>.

De la ANOVA aplicada durante las tres evaluaciones no se encontraron diferencias entre las medias de las concentraciones empleadas, los resultados obtenidos se presentan en la tabla 20. Las únicas medias diferentes fueron los controles que no recibieron tratamiento.

Experimento	Anova	Prueba de Tukey
THPS en presencia de O <sub>2</sub> (Preliminar)	F <sub>0</sub> 31.57 > F <sub>α</sub> 5,15 4.64	q <sub>0</sub> 180,906.57 > q <sub>α</sub> 4.37
THPS en presencia de O <sub>2</sub> (confirmativa)	F <sub>0</sub> 24.92 > F <sub>α</sub> 3,6 4.76	q <sub>0</sub> 208,119.49 > q <sub>α</sub> 4.53
THPS en condiciones anóxicas con NaHSO <sub>3</sub>	F <sub>0</sub> 97.04 > F <sub>α</sub> 3,6 4.76	q <sub>0</sub> 108,287.72 > q <sub>α</sub> 4.53
THPS en condiciones anóxicas con H <sub>2</sub> SO <sub>3</sub>	F <sub>0</sub> 12.027 > F <sub>α</sub> 3,6 4.76	q <sub>0</sub> 294,392.82 > q <sub>α</sub> 4.53

Tabla 20. Resultados del análisis de varianza (ANOVA) de un factor en bloques aplicado durante las evaluaciones.

## ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

A pesar de que los puntos de recolecta se encuentran alejados entre sí (puntos de salida de planta y ABK-P), los microorganismos encontrados solo difieren en un género para cada punto, siendo *Serratia sp.* (salida de planta) y *Alcaligenes sp.* (ABK-P) los géneros que difieren puesto que ambos sitios de muestreo comparten a *Pseudomonas sp.* y *Vibrio sp.*

Autores como Kirchman y Mitchell, (1981) y Smart, (1997) mencionan que las cepas bacterianas que comúnmente causan corrosión crecen relativamente lento, normalmente entre 16 y 20 horas para duplicar sus poblaciones. Este comportamiento se observa en figura 7. Cuando las poblaciones bacterianas crecen de manera aislada, es decir un solo punto de muestreo, las UFC/ml son menos numerosas (tabla 1), no así cuando los microorganismos de ambos puntos se mezclan, entonces el número de organismos aumenta.

El producto biocida se evaluó con la mezcla de bacterias porque al coexistir estos microorganismos logran las condiciones sinérgicas que les permiten su supervivencia, al agregar dicho producto, la relación existente se ve interrumpida con lo que se propicia la muerte de dichas asociaciones.

Herro y Port (1993), encontraron que los desechos producidos por cada especie de bacteria provoca corrosión debido al desencadenamiento de nuevas reacciones que ocurren en el ánodo y/o cátodo por la presencia de sustancias poliméricas presentes en estos. En las aguas de inyección los microorganismos presentan dichas asociaciones por lo que los efectos sinérgicos son comunes, por esta razón Herro y Port (1993) mencionan que la corrosión está en función de los organismos presentes en los biofilms sobre la superficie del metal, lo cual se ve reflejado en el grado de corrosión. Autores como Caprari, 1987; Franklin *et al*, 1991; Hermiller, 1992 y Moreno *et al*, 1993, han sugerido que especies de *Pseudomonas*, (bacterias aerobias) pueden ser las colonizadoras primarias de las superficies inertes en el ambiente acuoso y que *Vibrio sp.*, es capaz de remover la película pasiva, dejando especies químicas producto de metabolismo que constituyen los agentes agresivos para el metal. De igual modo, *Serratia sp.*, y *Alcaligenes sp.*, al producir limos contribuyen en la formación del biofilm.

El pH afecta directamente la funcionalidad del producto biocida, pero en este caso no se vió afectada la eficiencia (Figuras 14, 20 y 25) de dicho producto puesto que se mantuvieron niveles de pH por debajo de 8.0 y arriba de 5. Baker & Huges (Informe técnico, 1998 b) reportaron que en condiciones aerobias el biocida base THPS presenta una mayor vida media con respecto a la hidrólisis a pH neutro y por debajo de un pH de 5 presenta una vida media más corta. En condiciones anaerobias a un pH de 5 el biocida es más estable que a un pH neutro. Así mismo, la oxidación de dicho biocida bajo las mismas condiciones se invierte. Por lo tanto, el pH es de gran importancia, no sólo porque puede intervenir en el funcionamiento del producto biocida a evaluar, sino que también

influye en el crecimiento y reproducción de los microorganismos, así como en los procesos de construcción de los depósitos (Oliveira *et al*, 1993 y Bloomfield, 1993).

Al mezclar el biocida base THPS en el agua de mar, el pH inicial tendió a disminuir, comportamiento que se vio reflejado sobre todo a mayor concentración del biocida, donde se obtuvo un valor mínimo de pH al primer tiempo de contacto de 5.8 (300 mg/l de biocida) en presencia de oxígeno (5-6 mg/l), cuando se adicionó  $\text{NaHSO}_3$  y  $\text{H}_2\text{SO}_3$ , se obtuvieron valores mínimos de pH 5.9 y pH 5.7 respectivamente. Sin embargo, conforme transcurrió el tiempo de contacto los valores promedio del pH se elevaron hasta alcanzar la basicidad (tablas 4, 9 y 15), este comportamiento se muestra en las figuras 10, 15 y 21. Downword *et al*, (1997) encontraron que existe una degradación abiótica del THPS, donde el fosfato contenido inicialmente en el THPS se degrada en THPO (trihydroxymethyl fosphine oxide) y posteriormente ocurre otra disolución de este compuesto en ortofosfatos. Este hecho explica el comportamiento de los valores obtenidos de pH que tendió a ser básico en las tres concentraciones empleadas (tablas 4, 9 y 15) para las dos hasta las 6 horas de exposición del producto biocida con el agua de mar artificial ya que los fosfatos se hidrolizan en el agua, formando así disoluciones básicas (Wood *et al*, 1974). Por otro lado, el ácido sulfuroso tiende a perder un ión  $\text{H}^+$  en el agua quedando  $\text{HSO}_3^-$  y de su segunda disociación resulta  $\text{SO}_3^{2-}$  (Keenan *et al*, 1986 y Mortimer, 1990). El  $\text{H}_2\text{SO}_3$  forma una sal ácida como es el  $\text{NaHSO}_3$ . Es debido a estas reacciones que se registraron estos valores ácido y básicos de pH; por lo cual se puede pensar que en este caso los microorganismos no intervinieron en los cambios ocurridos ya que los niveles de pH permanecieron constantes en el tiempo de contacto de seis horas para las tres evaluaciones realizadas.

El comportamiento del oxígeno disuelto en el agua de mar en presencia del biocida base THPS presenta una ligera disminución en las tres concentraciones de biocida (tabla 5), siendo más estable a 300 mg/l de biocida (Fig. 11). Sin embargo, esto no interfiere en la eficiencia del producto (tabla 8).

Como el agua de mar oxigenada es altamente corrosiva para los metales, es necesario eliminar el oxígeno, esto mediante vacío o saturación con gas natural para reducir tal corrosión (Stott, 1988). Sanders y Stott, (1987); Stott (1988) y Khattab (1995) encontraron que al emplear sulfito o bisulfito (también ácido sulfuroso) en la torre deaeradora se reducían las concentraciones de oxígeno por debajo de 10 ppb. Por otra parte Dunlop, (1987) menciona que el bisulfito provoca un agotamiento prematuro por la reacción con el oxígeno. Este efecto se ve reflejado en los valores de oxígeno residual en la tabla 10, donde el bisulfito de sodio logró abatir completamente el oxígeno del agua de mar en la presencia del biocida base THPS. Sin embargo, después de las cuatro y seis horas de contacto se presentaron pequeñas trazas de oxígeno residual (Fig. 16) alcanzando las 40  $\mu\text{g/l}$  para la concentración de 100 mg/l de biocida. En este caso, el secuestrante fue el que reaccionó con el oxígeno residual disuelto en el agua de mar, ya que se

presentó un consumo de éste (tabla 11) y no así del biocida base THPS (tabla 12). Al contacto del ácido sulfuroso con el biocida base THPS en el agua de mar se logró abatir el oxígeno disuelto a valores de 0  $\mu\text{g/l}$ , no obstante, al igual que con el bisulfito de sodio a partir de las cuatro y seis horas de contacto se observaron trazas de oxígeno residual disuelto en el agua de mar que fueron desde las 5 a 50  $\mu\text{g/l}$  (tabla 16). La presencia de los secuestrantes de oxígeno ( $\text{NaHSO}_3$  y  $\text{H}_2\text{SO}_3$ ) con el biocida base THPS no afectaron su eficiencia (Figuras 20 y 25) sobre las bacterias aerobias facultativas como se muestra en las tablas 14 y 19.

La eficiencia del biocida base THPS se evaluó tomando las concentraciones (50, 100, 200, 300 y 500  $\text{mg/l}$ ) en volumen y posteriormente se midieron los residuales del producto (50% como activo en  $\text{mg/l}$ ) tanto al primer tiempo de contacto como al término de la exposición, los valores promedio registrados en presencia de oxígeno se muestran en la tabla 6 y figura 12, en este caso no se observó una interferencia en los valores de los residuales por la presencia del  $\text{O}_2$  durante su evaluación, un comportamiento similar se presentó al contacto del biocida con el  $\text{H}_2\text{SO}_3$  (tabla 17 y figura 23). Sin embargo, cuando se mezclaron el biocida con el  $\text{NaHSO}_3$ , se presentó una interferencia del  $\text{NaHSO}_3$  sobre el biocida (tabla 12 y Fig. 18), esto solo a 50  $\text{mg/l}$  de biocida base THPS, no así con el resto de las concentraciones. Este mismo comportamiento es citado en el boletín técnico, (1998 a,b) donde se comenta que la presencia del  $\text{NaHSO}_3$  afecta al biocida base THPS cuando se presenta una relación 1:1 (peso/ peso) dándose una interacción entre los productos (tabla 12), y cuando la relación se incrementa 3 (THPS): 1 ( $\text{NaHSO}_3$ ) o mayor, el THPS no tiene ningún efecto por la presencia del bisulfito de sodio.

Del recuento de microorganismos a través de la cuenta total en placa (tablas 2, 7, 13 y 18) durante las evaluaciones del biocida base THPS incluyendo la evaluación preliminar, se observó una disminución en las poblaciones bacterianas, siendo mayor este decremento a partir de las dos primeras horas de contacto (figuras 8, 13, 19 y 24), después de este tiempo sigue el decremento de la población bacteriana aunque dicho comportamiento ya no es tan marcado. El decremento tan visible que se observa a las dos primeras horas de contacto es debido a que el producto biocida desde este tiempo actúa penetrando en la membrana de la célula bacteriana (Informe técnico, 1998 a, 1998 b). Por su parte Eagar *et al*, (1988) y Ludensky *et al*, (1998), mencionan que el crecimiento de bacterias sobrevivientes al tratamiento biocida suele ser bajo pero inevitable, comportamiento que se aprecia en los resultados obtenidos durante estas evaluaciones, donde, aún cuando se tienen eficiencias del 100% se aprecia un número de UFC/ml (unidades formadoras de colonias/ ml).

Las diferencias observadas entre la tabla 2 respecto a las UFC/ml durante las seis y ocho horas de contacto y las tablas 7, 13 y 18 para las cuatro y seis horas, fue debido a un error de manipuleo al tomar las asadas durante la siembra, ya que en el primer caso se obtuvo una menor población bacteriana.

La presencia de los secuestrantes de oxígeno en el agua de mar artificial no afectó la eficiencia (tablas 14 y 19) del biocida base THPS, el cual presentó eficiencias mínimas del 98.2 (50 mg/l de biocida) a las dos horas de contacto y del 100% al finalizar la evaluación (figuras 20 y 25). En presencia de oxígeno (5-6 mg/l) el biocida base THPS presentó mayor eficiencia (tablas 3 y 8) desde las dos horas de contacto, siendo la eficiencia mínima del 99.1 (50 mg/l) y del 100 % como máxima para las seis horas de contacto para la mayoría de las concentraciones (Figuras 9, 14).

Del análisis estadístico (ANOVA) realizado, se encontró que no existieron diferencias significativas entre las concentraciones empleadas (50, 100, 200, 300 y 500 mg/l) de biocida (tabla 20), excepto para los controles. Por lo tanto, es bueno economizar el producto químico empleado, utilizando las concentraciones mínimas (100 y 200 mg/l), que resultaron con buenas eficiencias a partir de las dos horas de contacto.



## CONCLUSIONES

En la presencia de oxígeno (5-6 mg/l) el biocida base THPS presenta eficiencias del 99.1 al 100%, a las concentraciones evaluadas (50, 100, 200, 300 y 500 mg/l de biocida).

La presencia de  $\text{NaHSO}_3$  no afecta la eficiencia del biocida base THPS, obteniéndose eficiencias del 98.2 al 100%, a las concentraciones evaluadas (50, 100 y 300 mg/l de biocida).

La presencia de  $\text{H}_2\text{SO}_3$  no afecta la eficiencia del biocida base THPS, obteniéndose eficiencias del 98.4 al 100%, a las concentraciones evaluadas.

Se presentan trazas de oxígeno (5 a 50  $\mu\text{g/l}$ ) después de las 2 horas de contacto.

El producto biocida presenta una excelente eficiencia desde las primeras dos horas de contacto, para todas las concentraciones empleadas.

A partir de 100 mg/l de biocida se obtienen eficiencias del 99 al 100%.

## RECOMENDACIONES

Con la finalidad de que durante el tratamiento con el biocida base THPS no haya presencia de oxígeno, es recomendable que a su vez se dosifique algún secuestrante de oxígeno ya que éste no presenta interferencia con la eficiencia del biocida.

En el laboratorio se encontró que la dosificación óptima de producto biocida es entre 100 y 200 mg/l de biocida base THPS en volumen, por que a partir de éstas se obtienen eficiencias del 99 al 100 %, además de que a mayores concentraciones el pH de la solución se vuelve más ácido, lo que traería como consecuencia la posible presencia de corrosión de las tuberías, siendo lo ideal tener valores promedio de pH entre 6.8 y 7.2, para evitar dichos problemas.

En la presencia de secuestrantes de oxígeno ( $\text{NaHSO}_3$  y  $\text{H}_2\text{SO}_3$ ), el tiempo de dosificación del producto biocida base THPS puede reducirse a 2 horas, sin que esto afecte la eficiencia del biocida.

En la presencia de  $\text{NaHSO}_3$  y a concentraciones de 50 mg/l de biocida, la determinación del residual de THPS (como activo) no es confiable, ya que al parecer el método aplicado no tiene la sensibilidad adecuada bajo estas condiciones.

## LITERATURA CITADA

APHA, WNNW and WPCF. 1989. Métodos normalizados para la evaluación de aguas y aguas de desecho. American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation. Editorial Díaz de Santos, S.A. España. Pp. 133 - 145.

API -RP 38. 1975. Biological analysis of subsurface injection waters. American Petroleum Institute. Houston Texas. Pp. 1- 28.

Arias, E., P. Suau y F. Liesa. 1992. Ensayos técnicos con pinturas marinas antiincrustantes que contienen resinas acrílicas. Revista Iberoamericana de Corrosión y Protección. Vol. 23 (3): 85-89.

ASTM. 1990. Standard Specification for Substitute Ocean Water. American Standard Testing of Materials. D1141-90. Pp. 449-450.

ASTM. 1991. Standard Test Method for Efficacy of Microbicides Used in Cooling Systems. American Standard Testing of Materials. E 645-91, Sección II, Vol. 4: 325 - 327.

Becker, H.A. and T. Armon. 1995. Microbiological corrosion in cooling water systems. Chemical Processing. Pp. 60-65.

Bloomfield, M.M. 1993. Química de los organismos vivos. Editorial Limusa, S. A de C. V. México. 767 pp.

Brankevich, G.L, M.L.F. de Mele and H.A. Videla. 1990. Biofouling and Corrosion in Coastal Power Plant Cooling Water Systems. MTS Journal Vol.24 (3): 18-28.

Boscan de González, C. y H.V. Videla. 1995. Prevención y control. CYTED. Manual práctico de biocorrosión y biofouling para la industria, en M.D. Ferrari ; M.F.L. de Mele ; H. A. Videla, Editorial Río de Janeiro. Pp. 54- 72.

Buchanan, R.E. and N.E. Gibbons. 1974. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8ª. Edición. The Williams. Pp. 217-223, 273-275, 326-329, 340-341.

Caprari, J.J. 1987. El problema de la corrosión microbiológica de superficies protegidas por pinturas. Revista Iberoamericana de Corrosión y Protección. Vol. 18 (5): 262- 272.

Chanterau, J. 1985. Corrosión bacteriana. Editorial Limusa, México, 212 pp.

Chatterjee, S.S. and K.C. Banerjee. 1987. Mechanisms and control of microbiological corrosion in petroleum industry. 10<sup>th</sup>, ICMC. Pp. 717-726.

Chávez, P.M. 1996. Determinación de la influencia de las bacterias sulfato reductoras en los procesos de corrosión sobre acero al carbón mediante la técnica electroquímica, resistencia a la polarización. Tesis licenciatura, Facultad Ciencias, UNAM, 59 pp.

Costerton, J.W, G.G. Geesey and P.A. Jones. 1988. Bacterial biofilms in relation to internal corrosion monitoring and biocide strategies. *Materials Performance*. April: 49- 53.

Di Cintio, R.A. and G. De Caralis. 1993. Biofouling and corrosión. *Corrosion Prevention & control*. October: 104- 107.

Downard, B.L, R.E, Talbot and T.K. Haack. 1997. Tetrakis(hydroxymethyl) Phosphonium Sulfate (THPS). A new Industrial Biocide with Low Environmental Toxicity. *Corrosion* 97, paper 401: 1-11.

Dunlop, A.K. 1987. Catalysts and Inhibition in Oxygen Scavenging. *Materials Performance*. Vol. 26 (8): 48-52.

Durán, D. A, A. E. Cisneros, M. A. Fernández, J. R. Gersenowies, S.M. Meraz y A.V. Vargas. 1989. Manual de técnicas estadísticas, ENEP Iztacala. UNAM, México. 140 pp.

Eagar, R.G, J. Leder, J.P. Stanley and A.B. Theis. 1988. The use of Glutaraldehyde for Microbiological control in Waterflood Systems. *Materials Performance*. Vol. 29 (1): 40-43.

Edyvean, R.G.J. and H.A. Videla. 1991. Biological Corrosion. *Interdisciplinary Science Reviews*, Vol. 16 (3): 267- 282.

Endean, H.J. and R.D. Sheldon. 1991. Problemas iniciados por el agua en las operaciones de producción. *Champion Technologies, INC*. Houston, Texas. 114 pp.

Enos, D.G. and S.R. Taylor. 1996. Influence of sulfate-reducing bacteria on alloy 625 and austenitic stainless steel weldments. *Corrosion Science*, Vol. 52 (11): 831-842.

Franklin, M.J, D.C. White and H.S. Isaacs. 1991. Pitting Corrosion by Bacteria on Carbon Steel, determined by the scanning vibrating electrode Technique. *Corrosion Science*, Vol. 32 (9): 945-952.

García, E. 1994. Estudio del efecto de 3 biocidas comerciales sobre el desarrollo de bacterias Sulfato- reductoras y hongos aislados del agua de Inyección del complejo Abkatun. Tesis Licenciatura. UNAM, México. Pp. 1-28.

Genescá, J. y J. Ávila M. 1996. Más allá de la herrumbre. La ciencia desde México 9. FCE. 110 pp.

Hach. 1992. Water Analysis handbook. 2a. edición. Hach company, U.S.A. 830 pp.

Hardy, J.A. and J.L. Brown. Sulphate- reducing Bacteria –Their contribution to the Corrosion Process. Pp. 135- 138.

Hermiller, M. 1992. Controlling Bacteria in Cooling Water. Iron Age. Pp. 28-29.

Herro, M.H. and R.D. Port. 1993. The Nalco Guide to Cooling Water System Failure Analysis. McGraw-Hill. México, 420 pp.

Informe técnico. 1982. Tratamiento del agua de inyección. Instituto Mexicano del Petróleo, México. 128 pp.

Informe técnico. 1998 (a). Key Química, S. A. 48 pp.

Informe técnico. 1998 (b). Mantenimiento y operación de equipos de dosificación y monitoreo de Químicos, suministrando reactivos químicos, refacciones y materiales para el tratamiento del agua de inyección al yacimiento. Baker & Huges, 140 pp.

Iverson, W.P. 1966. Direct evidence for the cathodic depolarization Theory of bacterial corrosion. Science, 151: 986- 988.

Iverson, W.P. 1968 (a). Microbiological corrosion. Chemical Engineering. Vol. 34 (11): 242- 244.

Iverson, W.P. 1968 (b). Corrosion of Iron and Formation of iron Phosphide by *Desulfovibrio desulfuricans*. Nature, Vol. 217, Marzo : 1265- 1267.

Keenan, C.W, D.C. Kleinfelter and J.H. Wood. 1986. Química General Universitaria. Editorial CECSA. 937 pp.

Khattab, N.M. 1995. Mitigation of Microbial Corrosion in Ras Budran Water Injection Plant. Corrosion 95, paper 212. Pp. 1 - 14.

Kiefner, J.F. and R.J. Eiber. 1987. SCC, bacteria top items in pipe service failures. Oil & Gas Journal. April: 70- 75.

Kirchman D. and R. Mitchell. 1981. A Biochemical Mecanism for marine Biofouling. Pp. 537-54.

- Lu, F.C. 1992. Toxicología básica. Editorial Harla, México. 269 pp.
- Ludensky, M.L., F.J. Himpler and P.G. Sweeny. 1998. Control of Biofilms with cooling Water Biocides. *Materials Performance*. Vol. 37 (10): 50-54.
- Mac Faddin, J.F. 1993. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Editorial Médica panamericana, México. 301 pp.
- McLean, K.M. and W.A. Hamilton. 1986. Microbial communities in Offshore oil storage systems. *Corrosion Reviews*. Vol. 8: 253- 254.
- Macleod, N.E. Bryan, A.J. Buckley, R.E. Talbot and M.A. Veale. 1995. Control of reservoir souring by a novel biocide. *Corrosion* 95, paper 197: 1 - 11.
- McCoy, W.J. 1974. The Chemical treatment of cooling water. Chemical Publishing Company. New York. 221 pp.
- Miller, J.D.A. 1980. Principles of Microbial Corrosion. *British Corrosion Journal*. Vol. 15 (2): 92-94.
- Moreno, D.A, J.R. Ibars, I.B. Beech and C.C. Gaylarde. 1993. Biofilm Formation on mild steel coupons by *Pseudomonas* and *Desulfovibrio*. *Biofouling*, Vol. 7: 129-139.
- Mortimer, C.E. 1990. Química. Editorial Panamericana. Pp. 538- 540.
- NACE item # 54281. 1978. Review of current practices for monitoring bacterial Growth Oilfield Systems. National Association of Corrosion Engineers. Pp. 1 –15.
- Oliviera, R, L. Melo, M. Pinheiro and M.J. Vieira. 1993. Surface interactions and deposit growth in fouling of heat exchangers. *Corrosion Reviews*, Vol. 11 (1-2): 56-95.
- Ostroff, A.G. 1979. Introduction to Oilfield water Technology. National Association of Corrosion Engineers. Houston, Texas. 394 pp.
- Paniagua, R.M.B. 1982. Cuantificación y control de la contaminación bacteriana en un fluido de control para la reparación y terminación de pozos petroleros, en áreas depresionadas. Tesis licenciatura, ENEP Iztacala, UNAM, México. 84 pp.
- Pelczar, M.J. y E.C.S. Chan. 1984. Elementos de microbiología. McGraw - Hill, México, S. A. de C. V. 745 pp.
- Peng Ching-Gang, J.K. Park and R.W. Patenaude. 1994. Statistic-based Classification of Microbially Influenced Corrosion in Freshwater systems. *Water Research*. Vol. 28 (4): 951- 959.

Piluso, A.J. 1979. Controlling Corrosion in pulp and Paper Mills. National Association of Corrosion Engineers. Houston, Texas. Pp. 236 - 239.

Pope, D.H. and E.A. Morris III. 1995. Some Experiences with Microbially Influenced Corrosion of Pipelines. *Materials Performance*. Vol. 21: 23- 28.

Prasad, R. 1994. Biocide comparison: Aldehyde versus mixture of Aldehyde and quaternary amine. *Corrosion 94*, paper 273: 1 - 13.

Ramírez, R.C. 1997. Estudio preeliminar del efecto toxicológico de inhibidores de corrosión en poblaciones de bacterias y crustáceos. Tesis Licenciatura. Facultad Zaragoza, UNAM. 61 pp.

Ren-hao, Lu, Xiao Changsong, Liu qi, Bai Shue and Zhang Yinghua. 1989. Study on microbial fouling and its control in Desalting water systems of heat and Power station. Pp. 213- 220.

Romero, D.J.M. 1986. Estudio preeliminar del efecto del microbiocida IMP-BI04 y el fluido de control IMP-BD, en la inhibición de la fotosíntesis de tres especies de algas fitoplanctónicas dulceacuícolas. Tesis licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM, 73 pp.

Sanders, P.F. and J. F.D Stott. 1987. Assessment, monitoring and control of microbiological Corrosion hazards in offshore oil production systems. *Corrosion* No. 367: 166- 180.

Sharma, A.P, N.S. Battersbury and D.J. Steward. 1987. Techniques for the Evaluation of Biocide Activity against Sulphate- reducing Bacteria. *Society for Applied Bacteriology*. Pp. 165- 175.

Sharpley, J.M. 1979. Corrosion inhibitors. National Association of Corrosion Engineers. Houston, Texas. Pp. 228 - 235.

Shaw, D.A, T.M. Williams and J.W. Holz. 1998. Effect of Methylchloro/ Methylisothiazolone on Bacterial Respiration in Cooling Water. *Materials Performance*. Vol. 38 (8): 54-58.

Shefler, W.C. 1981. Bioestadística. FEI. S. A. México. 267 pp.

Shick, G. 1990. Corrosion Control in the Presence of sulphate- reducing bacteria. *Materials Performance*, Vol. 29 (7): 26- 32.

Smart, J.S. 1997. An introduction to microbiologically influenced corrosion in the Marine Industry. *Journal of Protective Coating & Linings*. Vol. 7 (4): 216- 223.

Smart, J.S, T. Pickthall and A. Carlile. 1998. Using on-line Monitoring to solve Bacteria Corrosion Problems in the field. *Materials Performance*. Vol. 37 (2): 61-69.

Stott, J.F.D. and B.N. Herbert. 1986. The Effect of pressure and temperature on sulphate- reducing bacteria and the action of biocides in oilfield water injection systems. *Journal of Applied Bacteriology*. Vol. 60: 57-66.

Stott, J.F.D. 1988. Assessment and control of Microbially- Induced Corrosion. *Metals and Materials*. April: 224-229.

Sweeny, P.G. and F.J. Himpler. 1994. A Novel monoxidizing biocide for Cooling Water Systems. *Corrosion* 94, paper 450: 1 - 11.

Technical Bulletin. 1998 (a). Control and elimination of biofilms. Baker & Huges. No. 170: 1- 6

Technical Bulletin. 1998 (b). Microbiological control of injection Water using an THPS based biocide. . Baker & Huges. Case study 004: 1- 4.

Veale, M.A, E. Bryan, R.E. Talbot. 1983. A New biocide with respect to industrial water treatment and Oilfield applications. Albright & Wilson. Pp. 1-24.

Videla, H.A. y R.C. Salvarezza. 1984. Introducción a la Corrosión microbiológica. Librería Agropecuaria, S. A. Argentina. 127 pp.

Videla, H.A. and W.G. Characklis. 1992. Biofouling and Microbially Influenced Corrosion. *International Biodeterioration & Biodegradation*, Vol. 29: 195-212.

Wanklyn, J.N. and C.J.P. Spruit. 1952. Influence of sulphate- reducing bacteria on the corrosion potential of Iron. *Nature*, Vol. 169 (4309) : 928- 929.

Watkins, B.S. 1988. Microbiologically influenced Corrosion Failures of Austenitic Stainless Steel Welds. *Materials Performance*. Vol. 38 (2): 62-66.

Wood, J.E, C.W. Keenan y W.E. Bull. 1974. Química general. Editorial Harla, México. Pp. 396-399, 418.



## APÉNDICE

### AGAR PARA BACTERIAS HETEROTROFAS (NACE # 54281)

Medio	Cantidad (gr/l)
Peptona	5.0
Extracto de levadura	1.0
Citrato férrico	0.1
NaCl	19.5
MgCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	8.8
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	3.3
CaCl <sub>2</sub>	1.8
KCl	0.6
NaHCO <sub>3</sub>	0.16
Agar	15.0
Agua destilada	1000 ml

### AGUA DE MAR ARTIFICIAL (ASTM: D1141-1990).

Reactivos	Cantidad (gr/l)
NaCl	24.53
MgCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	5.2
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	4.09
CaCl <sub>2</sub>	1.16
KCl	0.695
NaHCO <sub>3</sub>	0.201
KBr	0.101
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.027
SrCl <sub>2</sub>	0.025
NaF	0.003

Ajustar el pH a 8.0 en ambos casos con NaOH 1N y esterilizar a 15 lb de presión (121°) durante 15 minutos.

## Titulación del Activo THPS

- 1) Tomar muestra de agua a probar 12.5 ml.
- 2) Agregar 1 ml de la solución buffer borato.
- 3) Adicionar 1 ml del reactivo PSSA y mezclar.
- 1) Adicionar 3 gotas de almidón como indicador tapar y mezclar.
- 2) Colocar el tapón para cargar la jeringa.
- 3) Anexar el titulador con solución de yodo 0.025 N
- 4) Adicionar lentamente la solución tituladora al tubo de prueba y agitar lentamente hasta que vire al color azul fuerte.
- 5) Leer directamente los mg/l sobre la escala del titulador, cada rayita equivale a 4 mg/l.
- 6) Correr un blanco de prueba con agua libre de THPS.
- 10) Cálculos:

$\text{mg/l (THPS)} = \text{lectura de la muestra} - \text{lectura del blanco.}$

**Titulación del sulfito (0 a 800 mg/l como  $\text{SO}_3^{2-}$ ). Método # 8216.**  
 Utilizando un titulador digital.

- 1) Seleccionar un volumen de muestra correspondiente a la concentración de sulfito esperada ( $\text{SO}_3^{2-}$ ).

Rango (mg/l $\text{SO}_3^{2-}$ )	Volumen de muestra (ml)	Cartucho titulador ( $\text{NKIO}_3$ )	# catálogo	Dígitos a multiplicar
> a 160	50 *	0.3998	1461- 01	0.4
100-400	20	0.3998	1461- 01	1.0
200- 800	10	0.3998	1461- 01	2.0

\* volumen utilizado durante la titulación.

- 2) Insertar un tubo libre, limpio dentro del cartucho del titulador de  $\text{NKIO}_3$ . Unir el cartucho hacia el cuerpo del titulador.
- 3) Agarrar el titulador digital con la punta del cartucho hacia arriba. Volver a soltar el botón para sacar el aire y las pocas gotas del titulador. Reset la cuenta a cero y limpiar la punta.
- 4) Usar una pipeta para medir la muestra de la tabla 1. Transferir la muestra dentro de un matraz Erlenmeyer de 125 ml. Adicionar 50 ml de agua desionizada sí es necesario.
- 5) Adicionar el contenido del reactivo en polvo de oxígeno disuelto (3) y agitar lentamente la mezcla.
- 6) Adicionar unas gotas de la solución indicadora de almidón y agitar.
- 7) Colocar la punta libre del tubo dentro de la solución y agitar el matraz constantemente titulado con  $\text{NKIO}_3$  hasta que vire azul permanente. Recordar el número de dígitos requeridos.
- 8) Cálculos:

$$\text{mg/l sulfito } (\text{SO}_3^{2-}) = \text{dígitos requeridos} \times \text{dígitos a multiplicar.}$$

Factor de conversión a bisulfito de sodio ( $\text{NaHSO}_3$ ) = 1.01 (multiplicar por  $\text{SO}_3^{2-}$ )

1) ANÁLISIS DE VARIANZA PARA UN DISEÑO EXPERIMENTAL EN BLOQUES.

1) HIPÓTESIS

Hipótesis nula (Ho): no existen diferencias significativas entre las medias de los tratamientos experimentales o los tratamientos experimentales tienen el mismo efecto sobre la variable de respuesta.

Hipótesis alternativa (Ha): al menos un par de medias es diferente o existe un par de tratamientos con efectos diferentes.

2) ESTADÍSTICO DE PRUEBA

$$F_o = \frac{\text{Cuadrado Medio de Tratamiento}}{\text{Cuadrado Medio de Error}} = \frac{\text{CM trat.}}{\text{CM error}}$$

3) REGLA DE DECISIÓN

La hipótesis nula se rechaza si  $F_o > F_{\alpha, (k-1), (b-1)}$  (valor crítico de tablas).

TABLA DE ANOVA PARA UN DISEÑO EXPERIMENTAL EN BLOQUES COMPLETAMENTE ALEATORIZADO

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS (SC)	CUADRADO MEDIO (CM)	Fo Calculada
Debida al Tratamiento	k-1	$\sum_{i=1}^k \frac{T_i^2}{n_i} - \frac{T^2}{N}$	$\frac{\text{SC tratam.}}{K-1}$	$\text{CM tratam.}$
Debida al Error	N-K	SC total - SC trat.	$\frac{\text{SC error}}{N-K}$	
Total	N-1	$\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} Y_{ij}^2 - \frac{T^2}{N}$		

Para determinar cual o cuales pares de medias son las que difieren significativamente, se lleva a cabo la prueba de Tukey de comparación múltiple de medias.

- 7) Se presentan las medias de cada tratamiento experimental en orden decreciente. Las diferencias en valor absoluto entre pares de medias aparecen en el cuerpo de la tabla.
- 8) Para decidir cual o cuales diferencias entre medias son significativas se calcula, la Diferencia Mínima Significativa Real (DSMR), definida por:

$$DSMR = Q \sqrt{\frac{CM \text{ error}}{N}}$$

- 9) Una vez obtenida la DSMR, se compara ésta con las diferencias obtenidas en el inciso 1), y si las diferencias resultan ser mayores que la DSMR entonces, se concluye que tal diferencia entre medias es significativa.

### CALCULOS REALIZADOS PARA OBTENER LA TABLA 20.

Tabla 1. Anova de la prueba preliminar del biocida base THPS en el consorcio bacteriano.

Bloques (horas)	Tratamiento A (50 mg/l THPS)	Tratamiento B (100 mg/l THPS)	Tratamiento C (200 mg/l THPS)	Tratamiento D (300 mg/l THPS)	Tratamiento E (500 mg/l THPS)	Tratamiento F (0 mg/l THPS)	Totales bloques
2	606500	73500	5050	2100	1000	2054500	$\Sigma=2742650$
4	500	100	100	100	100	2610500	$\Sigma=2611400$
6	0	0	0	0	0	1794500	$\Sigma=1794500$
8	0	0	0	0	0	3621000	$\Sigma=3621000$
Total tratam.	$\Sigma=607000$ $X=151750$	$\Sigma=73600$ $X=18400$	$\Sigma=5150$ $X=1287.5$	$\Sigma=2200$ $X=550$	$\Sigma=1100$ $X=275$	$\Sigma=10080500$ $X=2520125$	$\Sigma=10769550$

F.V.	g.l.	S.C.	C.M.	Fo	F $_{\alpha}$ 5,15
Tratamiento	5	2.066496106X10 <sup>13</sup>	4.132992212X10 <sup>12</sup>	31.57	4.64 0.05
Bloques	3	2.796014058X10 <sup>11</sup>			
Error	15	1.963631354X10 <sup>12</sup>	1.309087569X10 <sup>11</sup>		
total	23	2.290819382X10 <sup>13</sup>			

Regla decisión  $F_o 31.57 > F_{\alpha} 4.64$ , por lo tanto, se rechaza la  $H_o$ .

#### PRUEBA DE TUKEY (DSMR):

	X <sub>E</sub> 275	X <sub>D</sub> 550	X <sub>C</sub> 1287.5	X <sub>B</sub> 18400	X <sub>A</sub> 151750	X <sub>F</sub> 2520125
X <sub>E</sub> 275	-	275	1012.5	18125	151475	2519850
X <sub>D</sub> 550	-	-	737.5	17850	151200	2519575
X <sub>C</sub> 1287.5	-	-	-	17112.5	150462.5	2518837.5
X <sub>B</sub> 18400	-	-	-	-	133350	2501725
X <sub>A</sub> 151750	-	-	-	-	-	2368375
X <sub>F</sub> 2520125	-	-	-	-	-	-

$$q_{\alpha} 5,18 = 180,906.57$$

$$q_{\alpha} = 4.37$$

$$q_o 180,906.57 > q_{\alpha} 4.28$$

Tabla 2. Anova aplicada en la evaluación de biocida base THPS a saturación de oxígeno, a las concentraciones de 50, 100 y 300 mg/l a 2, 4 y 6 horas de contacto.

Bloques (horas)	Tratamiento A (50 mg/l THPS)	Tratamiento B (100 mg/l THPS)	Tratamiento C (300 mg/l THPS)	Tratamiento D (0 mg/l THPS)	Totales bloques
2	440000	180000	14000	1662000	$\Sigma=2296000$
4	79000	41000	10000	1987333	$\Sigma=2117333$
6	10000	9900	1300	2832666	$\Sigma=2853866$
Total Tratam.	$\Sigma=529000$ $X=176333.3$	$\Sigma=230900$ $X=76966.6$	$\Sigma=25300$ $X=8433.3$	$\Sigma=6481999$ $X=2160666.3$	$\Sigma=7267199$

Regla decisión  $F_o 24.92 > F_{\alpha,3,6} 4.76$ . Por lo tanto se rechaza la  $H_o$ .

F.V	g. l.	S.C.	C.M.	Fo	$F_{\alpha, 3,6}$
Tratamiento	3	$9.715687203 \times 10^{11}$	$3.23856240 \times 10^{12}$	24.92	4.76 0.05
Bloques	2	$7.3801436 \times 10^{12}$			
Error	6	$7.79647071 \times 10^{11}$	$1.299411785 \times 10^{11}$		
total	11	$1.05691357 \times 10^{13}$			

# ESTA TESIS NO SALE DE LA BIBLIOTECA

PRUEBA DE TUKEY (DSMR):

	X <sub>C</sub> 8433.3	X <sub>B</sub> 76966.6	X <sub>A</sub> 176333.3	X <sub>D</sub> 2160666.3
X <sub>C</sub> 8433.3	-	68533.3	167900	2076333.3
X <sub>B</sub> 76966.6	-	-	99366.7	2083699.7
X <sub>A</sub> 176333.3	-	-	-	1984333
X <sub>D</sub> 2160666.3	-	-	-	-

$$q\alpha_{3,4} = 208,119.49$$

$$q\alpha = 4.53$$

$$q_0 \ 208,119.49 > q\alpha \ 4.53$$

Tabla 3. Análisis de varianza de la evaluación del biocida base THPS con 50 mg/l de NaHSO<sub>3</sub> a diferentes concentraciones y tiempos de contacto.

Bloques (horas)	Tratamiento A (50 mg/l THPS)	Tratamiento B (100 mg/l THPS)	Tratamiento C (300 mg/l THPS)	Tratamiento D (0 mg/l THPS)	Total bloques
2	102000	65000	19000	1770000	$\Sigma=1956000$
4	36000	26000	4800	2300000	$\Sigma=2366800$
6	10000	7400	300	2420000	$\Sigma=2437700$
Total tratam.	$\Sigma=148000$ X=49333.3	$\Sigma=98400$ X=32800	$\Sigma=24100$ X=8033.3	$\Sigma=6490000$ X=2163333.3	$\Sigma=6760500$

Regla de decisión:  $F_0 \ 97.04 > F_{\alpha \ 3,6} \ 4.70$ , por lo tanto, se rechaza la hipótesis  $H_0$ .



F.V.	g. l.	S.C.	C.M.	Fo.	F $_{\alpha,6}$
Tratamiento	3	1.02420591X10 <sup>13</sup>	3.4140197X10 <sup>12</sup>	97.04	4.70 0.05
Bloques	2	3.38181945X10 <sup>10</sup>			
Error	6	2.11072155X10 <sup>11</sup>	3.51786925X10 <sup>10</sup>		
total	11	1.04877432X10 <sup>13</sup>			

PRUEBA DE TUKEY (DSMR):

	X <sub>C</sub> 8033.3	X <sub>B</sub> 32800	X <sub>A</sub> 49333.3	X <sub>D</sub> 216333.3
X <sub>C</sub> 8033.3	-	24766.7	41300	2155300
X <sub>B</sub> 32800	-	-	16533.3	2130533.3
X <sub>A</sub> 49333.3	-	-	-	2114000
X <sub>D</sub> 216333.3	-	-	-	-

$$q_{0.8,4} = 108,287.72$$

$$q_{\alpha,4} = 4.53$$

$$q_{0.8,4} = 108,287.72 > q_{\alpha,4} = 4.53$$

Tabla 4. Análisis de varianza de la evaluación del biocida base THPS en presencia de 4333 mg/l de H<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> a diferentes concentraciones y tiempos de contacto.

Bloques (horas)	Tratamiento A (50 mg/l THPS)	Tratamiento B (100 mg/l THPS)	Tratamiento C (300 mg/l THPS)	Tratamiento D (0 mg/l THPS)	Total bloques
2	166400	43200	62000	1384000	$\Sigma=1655600$
4	146800	36700	30700	1700000	$\Sigma=1914200$
6	0	0	0	3200000	$\Sigma=3200000$
Total tratam.	$\Sigma=313200$ $X=104400$	$\Sigma=79900$ $X=26633,3$	$\Sigma=92700$ $X=30900$	$\Sigma=6284000$ $X=2094666.6$	$\Sigma=6769800$

Regla de decisión:  $F_0 12.027 > F_{\alpha_{3,6}} 4.76$ . Por lo tanto se rechaza la hipótesis  $H_0$ .

F.V.	g. l.	S.C.	C. M.	F <sub>0</sub>	F <sub>α<sub>3,6</sub></sub>
Tratamiento	3	$9.381393177 \times 10^{12}$	$3.127131059 \times 10^{12}$	12.027	4.76 0.05
Bloques	2	$3.4211058 \times 10^{11}$			
Error	6	$1.560008393 \times 10^{12}$	$2.600013988 \times 10^{11}$		
total	11	$1.128351215 \times 10^{13}$			

PRUEBA DE TUKEY (DSMR):

	$X_B$ 26633.3	$X_C$ 30900	$X_A$ 104400	$X_D$ 209466.6
$X_B$ 26633.3	-	4266.7	777667	2068033.3
$X_C$ 30900	-	-	73500	2063766.6
$X_A$ 104400	-	-	-	1990266.6
$X_D$ 209466.6	-	-	-	-

$q_{8,4} = 294,392.82$

$q\alpha_{8,4} = 4.53$

$q_0 294,392.82 > q\alpha 4.53$