
AGRESIVIDAD CORROSIVA DE UN AGUA DE PRODUCCIÓN POR EFECTO DE BACTERIAS SULFATO-REDUCTORAS

ANTONIO J. DE TURRIS S., MATILDE F. DE ROMERO, SANKARA PAPA VINASAM y LISSETH OCANDO

RESUMEN

Se analizó la agresiva corrosividad del acero al carbono A-366, expuesto a un cultivo mixto de bacterias sulfato-reductoras (CMBSR) aislado de un agua de producción de una estación de flujo de la industria petrolera venezolana. Para ello, se analizaron diferentes condiciones que influyen en el crecimiento del CMBSR en un agua de producción sintética (APS), simulando las condiciones del agua de planta. Se construyeron curvas de crecimiento planctónicas y sésiles para 10% de inóculo del CMBSR en APS, analizando el comportamiento del pH, sulfuro, sulfatos y hierro en el medio, al igual que la pérdida de masa en el tiempo y la morfología de ataque de cupones expuestos. Se analizó la evolución con el tiempo de sulfuros de hierro por la acción

de BSR y se tomaron muestras para análisis por difracción de rayos X. Se determinó que con 10% de inóculo inicial se alcanza un máximo crecimiento de BSR planctónico (10^8 cel/ml) y sésil (10^6 cel/cm²) similar al de planta a las 48h de exposición, observándose sobre los cupones un ataque localizado por la acción de las BSR caracterizado por pequeñas picaduras ($\pm 50\mu\text{m}$) distribuidas de manera uniforme sobre la superficie del metal. Esto demostró que una vez formada la biopelícula sobre la superficie del cupón; ésta se activa y se corroe permanentemente, siendo esto indicativo de la influencia conjunta de productos de sulfuro de hierro y bacterias interaccionando negativamente sobre el material y haciendo que éste se corra.

Introducción

La corrosión influenciada microbiológicamente (MIC) por bacterias sulfato-reductoras (BSR) afecta la industria petrolera, en particular durante los procesos de extracción, transporte y almacenamiento del hidrocarburo. Se ha demostrado (Pots *et al.*, 2002) que la actividad y el crecimiento microbiano de las bacterias sésiles pueden causar modificaciones en la superficie de las

tuberías de acero al carbono e inducir procesos corrosivos complejos, manifestándose como una forma de ataque localizado por picaduras, debido al desarrollo de una biopelícula superficial igualmente localizada. Estudios realizados en laboratorio (Hernández *et al.*, 2004) han permitido determinar que la cinética de crecimiento es diferente para los microorganismos planctónicos, requiriendo mayor tiempo de incubación para alcanzar el máximo crecimiento a nivel sésil. Una vez que se forma la biopelícula, los

daños por corrosión localizada sobre la superficie metálica se deben principalmente a los microorganismos sésiles.

La disponibilidad de nutrientes influye directamente en la actividad microbiana y en la formación de biopelículas siendo el carbón y el sulfato, por ejemplo, los dos nutrientes más importantes para las bacterias reductoras de sulfato. Existen concentraciones umbrales por debajo de las cuales estos nutrientes no pueden ser utilizados efectivamente por los microorganismos.

PALABRAS CLAVE / Agua de Producción / Bacterias Sulfato-Reductoras / Corrosión Inducida por Microbios / Morfología de Ataque /

Recibido: 04/10/2011. Modificado: 12/11/2012. Aceptado: 13/11/2012

Antonio J. De Turris S. Ingeniero Químico, Especialista en Ingeniería de Procesos, Maestría en Ingeniería Química y Doctor en Ingeniería, La Universidad del Zulia (LUZ), Venezuela, Profesor e Investigador, LUZ, Venezuela. Dirección: Centro de Estudios de Corrosión, Facultad de Ingeniería, LUZ. Apartado Postal 10482. Maracaibo, Venezuela. e-mail: deturrisajo@gmail.com

Matilde F. de Romero. Ingeniera Química, Doctora en Electroquímica Fundamental y Aplicada, LUZ, Venezuela, Profesora e Investigadora, LUZ, Venezuela.

Sankara Papavinasam. M.Sc. en Química, Madurai Kamaraj University, India. M.Phil. en Cinética, Annamalai University, India. Ph.D. en Electroquímica, Bangalore University, India, Investigador, CANMET-MTL, Canadá.

Lisbeth Ocando. Ingeniera Química, Maestría en Corrosión, LUZ, Venezuela, Profesora e Investigadora, LUZ, Venezuela.

Cuando uno de los nutrientes esenciales para la actividad microbiana cae por debajo del umbral, esta actividad cesa hasta que exista la disponibilidad de nuevos nutrientes. Sin embargo; el hecho de que un análisis químico indique una deficiencia de nutrientes no significa que no pueden ocurrir problemas de MIC, sobre todo si anteriormente se disponía de tales nutrientes en el medio, por lo que los problemas de MIC asociados a una biopelícula formada en presencia de nutrientes pueden persistir por cierto tiempo a pesar de que se observe una reducción de nutrientes en el medio (Watkins Borenstein, 1994; Videla, 1996). Algunos autores (Videla, 1996; Pots *et al.*, 2002) indican que el crecimiento de las BSR es severamente afectado a concentraciones de sulfato $<10\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, a menos que esté presente un aceptor de electrones alternativo; no obstante, algunas bacterias pueden sobrevivir e incluso crecer en la ausencia completa de sulfato, utilizando un aceptor de electrones alternativo, tal como nitrato, tiosulfato o bisulfato.

Se cree que la MIC alcanza 15-30% del deterioro causado por corrosión (Watkins Borenstein, 1994; Jahaherdashti, 2008). Las pérdidas asociadas con MIC en industrias de Australia en el 2001 se estiman en 5 billones de US\$. Se ha reportado que las pérdidas totales de la industria de petróleo y gas son de ~100 billones de US\$ por año. La biocorrosión se estima que sea el 10% de las pérdidas por corrosión en el RU. La MIC ha reducido el tiempo de vida de tuberías de transporte en el occidente de Australia desde más de 20 años a tan solo 3 años de operación. Se estima que el 70% de la corrosión en tuberías de transmisión de gas se debe a problemas causados por microorganismos. En la industria de refinación americana las pérdidas ascienden a 1,4 billones de US\$ anuales por MIC (Revie y Uhlig, 2011).

En este estudio se analiza la corrosividad sobre el acero al carbono A-366, de un agua de producción sintética inoculada con un cultivo mixto de bacterias sulfato-reductoras (CMBSR) aislado de un agua de producción de una estación de flujo de la industria petrolera venezolana. Se analizan diferentes condiciones que influyen en el crecimiento del CMBSR, se construyen las curvas de crecimiento planctónicas y sésiles para 10% de inóculo del CMBSR en APS, se analiza el comportamiento del pH, sulfuro, sulfatos y hierro en el medio, al igual que la pérdida de masa en el tiempo y la morfología de ataque de cupones expuestos.

Metodos

Activación del cultivo mixto de BSR (CMBSR) y preparación de inóculos

Se utilizó un CMBSR aislado del agua de producción de una estación de flujo del occidente venezolano, con una alta salinidad. Con este CMBSR se prepararon varios inóculos en el medio de cultivo Postgate B modificado agregándole $16000\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ de NaCl (PGBCl) para ajustar a la salinidad del agua de producción natural, tal como lo recomienda la norma TM0 194-2004 (NACE, 2004). Estos inóculos fueron refrigerados a 4°C para su preservación y posterior activación. Se prepararon los inóculos de las pruebas por centrifugación a 6000rpm durante 1h del CMBSR preparado en PGBCl partiendo de los inóculos refrigerados y diluyendo el centrifugado en APS e incubándolo a 37°C durante 48h, previo al inicio de cada prueba. A las 48h de incubación se realizó análisis de sulfuro del inóculo para verificar que existía una concentración $\geq 100\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ con un crecimiento planctónico $\geq 10^8\text{cel/ml}$, lo cual se verificó por dilución seriada del inóculo.

Preparación del agua de producción sintética (APS)

El APS se preparó en base a la calidad del agua de producción natural (APN) de una estación de flujo del occidente venezolano considerada agresiva por presentar problemas de corrosión, bacterias sulfato reductoras, CO_2 y tendencia incrustante. Se siguieron los lineamientos generales indicados en la norma D 1141-98 (ASTM, 1998), considerando la concentración requerida de cada ión; así como los productos disponibles, su pureza y pesos moleculares. Puesto que solo se disponía de la caracterización inorgánica del agua, se adicionó lactato de sodio, como carga orgánica equivalente a la del PGB para garantizar el crecimiento de BSR a nivel planctónico y sésil.

Efecto de los cloruros en el crecimiento del CMBSR a nivel planctónico

Para este fin se prepararon los medios con 36000 y $16000\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ de cloruros, partiendo de la recomendación de la norma TM0 194 (NACE, 2004), donde se establece que el medio de cultivo debe ajustarse a la salinidad del agua problema. Los medios utilizados fueron: 1) PGB con $36000\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ de cloruros para la activación de inóculos y hacer dilución seriada, simulando el agua de producción de la estación de flujo; 2) PGB con $16000\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ de cloruros, representando esto un poco menos de la mitad

de la concentración existente en el agua de producción, para hacer dilución seriada y observar la respuesta de la bacteria; y 3) APS estéril con $36000\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ de cloruros para la activación de inóculos.

Efecto del porcentaje de inóculo en el crecimiento de BSR sésiles

Para analizar el efecto del porcentaje de inóculo en el crecimiento de CMBSR sésil sobre cupones de acero al carbono A-366, se prepararon tres reactores con tres cupones cada uno, con 5, 10 y 20% de inóculo, y tiempo de exposición de 192, 144 y 48h, respectivamente; disminuyendo el tiempo de exposición en la medida en que se incrementó el porcentaje de inóculo. Posterior al periodo de exposición se realizó el sonificado a cada cupón con cada nivel de energía, para el conteo bacteriano mediante diluciones seriadas.

Crecimiento de BSR planctónicas y sésiles con 10% de inóculo en condiciones estáticas

Para ello se prepararon 10 reactores que contenían 270ml APS, 30ml (10%) CMBSR con 72h de activación y 3 cupones de acero al carbono A-366 con tiempos de exposición de 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 y 240h. Para la construcción de la curva de crecimiento planctónicas se tomaron muestras de agua de los reactores cada 24h para conteo bacteriano mediante dilución seriada, medición de pH y análisis de sulfuros y sulfatos, mientras que para la curva de crecimiento sésil se sonicaron cupones en los diferentes tiempos de exposición manteniendo un suministro de energía equivalente a 1440J para el desprendimiento de BSR sésiles en búfer de fosfato salino anaeróbico (PBSa) y luego se utilizó dilución seriada para el conteo de las mismas.

Crecimiento de BSR planctónicas con 10% de inóculo en condiciones dinámicas

Para realizar la curva de crecimiento de BSR a nivel planctónico en condiciones dinámicas (72rpm), se utilizó una caja rotatoria de 7,5 litros con un motor de velocidad variable, la cual contenía 3600ml de APS como medio de cultivo, 400ml (10%) BSR con 72h de activación y ocho cupones de acero al carbono de $34,14\text{cm}^2$ de área preparados según las normas G 170, G 184 y G 202 (ASTM 2006a, b, 2009) expuestos por 96h al efecto bacteriano. Se tomaron muestras de agua del reactor cada 24h durante la duración de la prueba para realizar conteo de

BSR planctónico mediante dilución seriada y análisis de sulfuros, sulfatos, hierro y pH. Al final de la prueba se sonicó dos cupones manteniendo un suministro de energía equivalente a 2880J, para el desprendimiento de las BSR sésiles en PBSa y posteriormente se realizó dilución seriada para el conteo de las mismas. Se realizaron dos pruebas por duplicado con APS + 10% BSR.

Sulfuros de hierro formados sobre cupones de acero al carbono por acción de BSR

Para evaluar la evolución con el tiempo de sulfuros de hierro formados sobre cupones de acero al carbono por la acción de BSR, se prepararon dos reactores que contenían 270ml APS, 30 ml (10%) CMBSR con 72h de activación y dos cupones de acero al carbono A-366, con tiempos de exposición de 120 y 216h. Al final de la prueba se realizó la identificación de depósitos y productos de corrosión a través de difracción de rayos X (DRX) con un difractor de ánodo rotatorio RIGAKU D/MAX 2500 y el programa JADE 9.0 acoplado a las bases de datos de difracción del *International Centre for Diffraction Data* (ICDD) y la *Inorganic Crystal Structure Database* (ICSD).

Pérdida de masa en cupones con y sin exposición a BSR

Antes de ser expuestos al medio de estudio con y sin BSR, los cupones de acero al carbono A-366 fueron preparados con papel de lija grado 220, 320, 400 y 600; luego se desengrasaron con acetona en baño de ultrasonido, se secaron con flujo de aire caliente y se pesaron en una balanza analítica. Posterior a la exposición de los cupones a los diferentes tiempos de estudio con y sin BSR, le fueron removidos los productos de corrosión blandos por ultrasonido durante 1min sumergidos en acetona y limpiezas químicas con una solución decapante según las normas G-01-03 (ASTM, 2003) y G-31-72 (ASTM, 2004), y posterior limpieza con ultrasonido y acetona durante 1min. Se determinó la pérdida de masa por diferencia entre peso inicial y final según las normas G16-95 (ASTM, 2004) y G46-94 (ASTM, 2005). Para analizar el efecto del método de limpieza química

TABLA I
CALIDAD DEL AGUA DE PRODUCCIÓN NATURAL (APN) Y SINTÉTICA (APS)

Parámetro	Agua de producción natural APN (mg·l ⁻¹)	Agua de producción sintética APS (mg·l ⁻¹)	% desviación
Ca ⁺²	11920	12277	3,0
Mg ⁺²	1521,5	1577	3,6
Fe ⁺²	1,8	1,48	17,8
Na ⁺¹	7625,2	8720	14,4
Cl ⁻¹	36873	37872	2,7
SO ₄ ⁻²	190,6	196	2,8

BSR planctónicas: 1×10⁶ - 1×10⁸cel/ml. BSR sésiles: 10⁴cel/cm²

TABLA II
CRECIMIENTO DEL CMBSR PLANCTÓNICAS VARIANDO EL CONTENIDO DE CLORUROS EN EL PGB DEL INÓCULO Y DE LA DILUCIÓN SERIADA

Cloruros en el PGB-inóculo (mg·l ⁻¹)	Tiempo de activación del inóculo (h)	Cloruros en el PGB- dilución (mg·l ⁻¹)	BSR planctónica a 21 días de incubación (cel/ml)
16000	72	36000	10 ¹
16000	72	16000	≥10 ⁹
16000	0	16000	≥10 ⁴
36000	72	36000	10 ¹
36000	72	16000	≥10 ⁹
APS	72	36000	10 ¹
APS	72	16000	≥10 ¹⁰

ca de cupones se determinó la pérdida de masa asociada a la misma y se observaron al microscopio óptico los cupones antes y después del decapado.

Morfología del ataque a los cupones

Para determinar la morfología del ataque sobre los cupones se realizaron barridos en toda la superficie de ambas caras expuestas del cupón, antes y después de la exposición al medio, observándose un cupón en un microscopio óptico Leica DMLM, con el cual se tomaron Fotomicrografías a 5, 10, 20, 50 y 100×, y con un microscopio electrónico de barrido (MEB) Hitachi S-3200N.

Identificación de productos de corrosión y biopelícula de BSR sobre los cupones

Al final de cada prueba se realizó la identificación de depósitos y productos de corrosión a través de difracción de rayos X (DRX). También se identificó la distribución de productos en la superficie de los cupones y se fotografiaron las colonias bacterianas y el exopolímero el MEB. Se fotografió a 7× los cupones expuestos con un microscopio óptico Olympus modelo SZH10 para observar los depósitos sobre los mismos y se evaluó el efecto de la glicerina y de la para-

ña como agente preservante de sulfuros de hierro formados.

Resultados y Discusión

Agua de producción sintética (APS)

La Tabla I muestra la caracterización del APS comparada con el APN, con un porcentaje de desviación pequeño. Se observa que ambas tienen una alta concentración de cloruros y sólidos totales disueltos (STD), haciéndola potencialmente agresiva en función de la cantidad de O₂ disuelto que se permita. Por otro lado, la presencia de cationes no deseables, como lo son Ca⁺² y Mg⁺², podría formar complejos incrustantes como carbonatos o sulfatos, afectando en gran medida a las líneas involucradas en el proceso de inyección de crudo por agua, así como a las bombas asociadas. Un estudio sobre el índice de saturación realizado al APN (Zambrano, 2008) arrojó como resultado que esta agua tiene una gran

tendencia a formar incrustaciones, por tener un índice de estabilidad de Stiff y Davis de 0,3, valor que es reportado como de susceptibilidad a formar incrustaciones (Kemper y McCallion, 1989).

Efecto de los cloruros en el crecimiento del CMBSR a nivel planctónico

En la Tabla II se observa un conteo bacteriano ≥10⁴ cel/ml con el uso del PGB salino con 16000mg·l⁻¹ de cloruro, mientras que con el PGB con 36000mg·l⁻¹ de cloruro el conteo fue mucho menor. Cabe resaltar que en el PGB se ajustó el contenido de cloruros con la adición de NaCl solamente, por lo que al incrementar la concentración del Cl⁻ también se está incrementando la concentración del ión Na, mientras que en el APS el ajuste del Cl⁻ a las condiciones de campo se realizó con una mezcla de CaCl₂, MgCl₂ y NaCl. Estos resultados evidencian que altas concentraciones de Na⁺ en el medio de cultivo de PGB afectan el conteo mediante dilución seriada. En función de estos resultados, es importante ajustar la salinidad del medio de cultivo; tal y como lo indica la norma TM0 194 (NACE, 2004), pero tomando en cuenta el aporte de las diferentes sales que pueden estar presente en el agua natural y se debe evaluar previamente su efecto en el conteo bacteriano por dilución seriada.

Efecto del porcentaje del inóculo y el tiempo de activación en el crecimiento bacteriano sésil

En la Tabla III se observa que al incrementar el porcentaje de inóculo del CMBSR a un 20% se incrementa las bacterias sésiles incluso para menores tiempos de exposición, lo cual es razonable puesto que el número de células es mayor.

Crecimiento de BSR con 10% de inóculo en condiciones estáticas

La Figura 1 muestra la curva de crecimiento planctónico y sésil del CMBSR y además el comportamiento de los sulfuros. Se observa un rápido crecimiento exponencial a nivel sésil hasta 10^6 cel/cm² a las 48h, lo cual coincide con el tiempo de máximo de crecimiento planctónico ($\geq 10^{10}$ cel/ml) y la máxima concentración de sulfuro ($55\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) por usar un inóculo concentrado en bacterias de 10^9 cel/ml que permite observar la fase estacionaria rápidamente. Este resultado confirma la importancia de trabajar con un inóculo de mayor concentración para simular en corto tiempo las condiciones naturales potencialmente corrosivas de un sistema cargado con bacterias sésiles.

Luego de las 48h, tanto el crecimiento planctónico como el contenido de sulfuros disminuyeron rápidamente. El crecimiento planctónico disminuyó de $\geq 10^{10}$ cel/ml a 10^7 cel/ml a las 96h y se mantuvo en esta concentración hasta las 240h; mientras que el contenido de sulfuros disminuyó rápidamente de 55 a $23\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ a las 96h y luego lentamente hasta $7\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ a las 240h. También la curva de crecimiento sésil se mantuvo en 10^6 cel/cm² hasta las 168h y luego disminuyó a 10^5 cel/cm² hasta las 240h. Este comportamiento final pareciera reflejar un equilibrio entre las tres variables, pero muy lentamente (condiciones de equilibrio: 10^7 cel/ml de células planctónicas con $7\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ de sulfuros y 10^5 cel/cm² de células sésiles). Este tipo de equilibrio resulta interesante estudiarlo en varios sistemas, ya que en este caso, donde se está simulando una condición de planta con un agua de producción bastante agresiva, bajo condiciones estancadas o sin flujo, se podría decir que al determinar mediante dilución seriada una concentración bacteriana planctónica de 10^7 cel/ml

TABLA III
EFECTO DEL PORCENTAJE DEL INÓCULO Y EL TIEMPO DE ACTIVACIÓN EN EL CRECIMIENTO BACTERIANO SÉSIL

Inóculo (%)	Tiempo de exposición a BSR (h)	BSR sésil (cel/cm ²)
5	192	10^6
10	144	10^5
20	48	$\geq 10^8$

ml significa que muy probablemente a nivel sésil se tenga 10^5 cel/cm²; estableciendo una diferencia de dos órdenes de magnitud. Esto pudiese ayudar a los técnicos de la industria con el seguimiento a través del contejo planctónico, lo cual es lo más económico y fácil de hacer.

La disminución del crecimiento planctónico de las 48 a las 96h en tres órdenes de magnitud, de $\geq 10^{10}$ a 10^7 cel/ml, se debe al agotamiento de los sulfatos en el medio. El contenido de sulfatos muestra una reducción rápida de 153 a $1,3\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ en las primeras 48h, debido a que son consumidos por las BSR presentes en el medio para su crecimiento exponencial. Luego se mantuvo en esta concentración el resto del ensayo. Como se indicó anteriormente, a las 48h las bacterias planctónicas y los sulfuros comenzaron a disminuir. No obstante, las bacterias se mantuvieron luego constantes en 10^7 cel/ml el resto del ensayo, por ~ 200 h, lo cual está asociado posiblemente a que la cantidad de sulfato que requieran para su

proceso desasimilatorio es mínimo, lo que pareciera razonable si se considera que son seres vivos adaptándose a cualquier situación por un periodo de tiempo y sobre todo cuando la fuente orgánica de nutrientes se mantiene.

Al disminuir el crecimiento bacteriano, también disminuye obviamente la desasimilación del sulfato a sulfuro, pero éstos no permanecen constantes; debido a que se combinan con los iones ferrosos del medio, precipitando como sulfuro de hierro y disminuyendo su concentración hasta $23\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ y las bacterias planctónicas alcanzan condiciones estacionarias. Luego, los sulfuros continúan disminuyendo hasta $7\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ al ser constantemente consumidos por la corrosión del metal y no haber producción neta bacteriana.

El pH del medio se mantuvo aproximadamente constante en un intervalo ligeramente ácido de 6,2 a 6,4 y el contenido de Fe total se incrementó a partir de las 120h debido al proceso de corrosión de los cupones por efecto de los sulfuros. En el caso de las bacterias sésiles, no se tiene información sobre el contenido de sulfuros y sulfatos a nivel de interfase, donde las interrelaciones son más complejas; pero se observa que también se mantiene en la fase estacionaria por bastante tiempo.

Crecimiento de BSR planctónicas con 10 % de inóculo en condiciones dinámicas

La Figura 2 muestra la curva de crecimiento planctónico del CMBSR junto al comportamiento de los sulfuros en el tiempo. Se observa un rápido crecimiento planctónico hasta un máximo de $\geq 10^{10}$ cel/ml a las 48h y en la concentración de sulfuro ($16,9\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ en promedio); al usar un inóculo concentrado en bacterias de 10^9 cel/ml, que permite observar la fase estacionaria rápidamente. El crecimiento planctónico disminuyó de $\geq 10^{10}$ cel/ml a 10^8 cel/ml luego de las 48h y se mantuvo en esta concentración hasta las 96h de la prueba; mientras que el contenido de sulfuros disminuyó continuamente hasta el final de las pruebas.

Tal disminución del crecimiento se debe al agotamiento de los sulfatos en el medio, el cual se reduce de 163 a $35\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ en las primeras 48h y a $0,6\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ a las 96h, debido a que es consumido por las BSR presente en el medio para su crecimiento exponencial. Las bacterias se

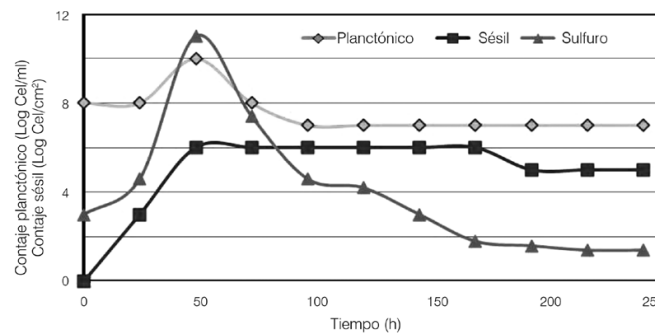


Figura 1. Curva de crecimiento del CMBSR planctónico y sésil, y contenido de sulfuro en APS con 10% de inóculo.

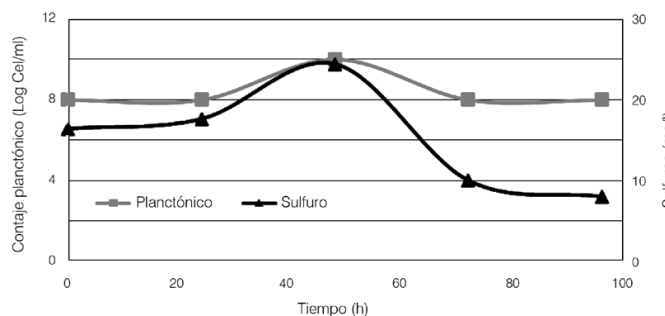


Figura 2. Curva de crecimiento del CMBSR planctónico y contenido de sulfuro en APS con 10% de inóculo en condiciones dinámicas.

mantuvieron constantes en 10^8 cel/ml luego de las 48h, utilizando posiblemente otro compuesto como aceptor de electrones sin producción neta de sulfuros o debido a que en esta etapa la cantidad de sulfato que requieren para su proceso desasimilatorio es mínima, lo que ha sido reportado en otros estudios. (Watkins, 1994; Videla, 1996; Pots, 2002). En concentraciones bajas de sulfato, las BSR oxidan el lactato, utilizando protones como aceptores de electrones y generando H_2 . Con bajas concentraciones de sulfato y en presencia de lactato, las BSR pueden utilizar malato, piruvato, fumarato, entre otros, como aceptores de electrones (Fauque, 2004). En estado estacionario, las células muertas pueden ser fuente de estas sustancias; sin embargo, no lo suficiente como para generar grandes incrementos en la densidad poblacional. (Fauque, 2004).

Los sulfuros aumentaron a un máximo de $16,9\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ en promedio, para luego disminuir progresivamente hasta un valor de $6,7\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ al final del ensayo, siendo estos valores menores a los obtenidos en condiciones estáticas en estudios previos de los autores; debido a que por la caja rotatoria se hizo circular un flujo continuo de argón para mantener las condiciones de anaerobiosis en el sistema, lo cual arrastra parte del H_2S generado por las bacterias. El crecimiento bacteriano sésil al final del ensayo (96h) estuvo en el orden de 10^6 cel/cm², similar a lo obtenido a nivel de plantas industriales.

El pH del medio se mantuvo aproximadamente constante en un valor cercano a la neutralidad, de 6,6. El contenido de Fe total se incrementó rápidamente a partir de las 48h debido al proceso de corrosión de los cupones por efecto de los sulfuros.

Evolución con el tiempo de sulfuros de Fe formados por la acción de BSR

En la Figura 3 se muestran los espectros obtenidos por DRX de dos cupones de acero al carbono A-366 expuestos a 5 y 9 días en APS con BSR. En los mismos se observa que la mackinawita es el principal componente forma-

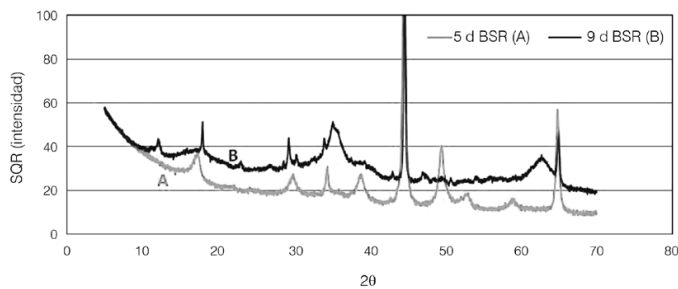


Figura 3. Espectros de DRX para cupones con formación de FeS para diferentes tiempos de exposición a BSR.

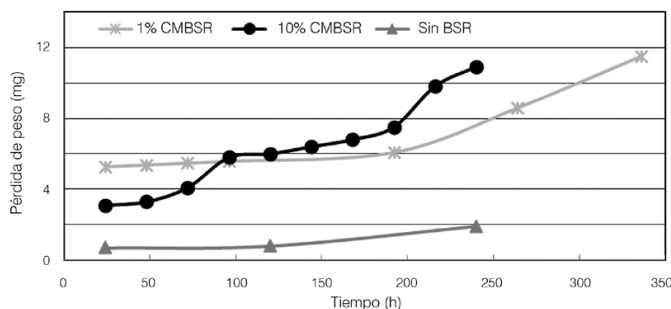


Figura 4. Comparación de la pérdida de masa en cupones de acero al carbono A-366 con y sin presencia de BSR.

do, cubriendo con una monocapa toda la superficie del cupón. Entre los cupones de 5 y 9 días de exposición se observa un incremento en la intensidad de los picos de mackinawita, indicativo de que la proporción de este componente se incrementa en el tiempo.

corrosión uniforme inicial. No obstante, en pocas horas se incrementó hasta igualar a las 96h la pérdida de masa generada por el APS con 1% de inóculo, haciéndose inclusive mayor la pérdida en un menor tiempo, por lo localizado de la corrosión microbiológica generada por las bacterias debajo del exopolímero.

a 24hr en APS sin BSR b 24 hr en APS con BSR

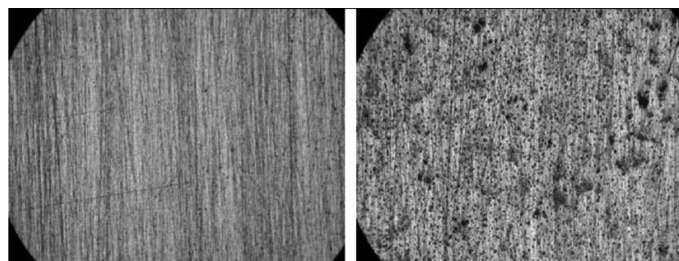


Figura 5. Morfología de ataque realizada con el microscopio óptico a 5x de magnificación en cupones de acero al carbono A-366 expuesto a APS y APS mas BSR.

a Cupón sin exposición al medio b Cupón expuesto a APS+BSR

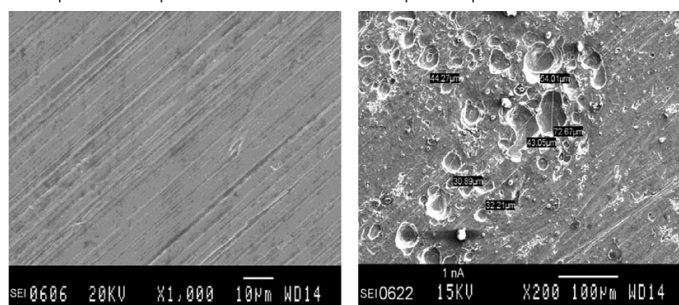


Figura 6. Microfotografías con microscopio electrónico de barrido a 200x para cupón sin exponer y expuesto a APS+BSR

Pérdida de masa de cupones con y sin exposición a BSR

En la Figura 4 se observa un incremento en la pérdida de masa con el aumento del tiempo de exposición para los cupones expuestos al APS inoculada con 10% BSR. Los cupones expuestos al APS sin BSR presentan una pequeña pérdida de masa, ya que el medio estaba desaireado. Así mismo se observa que la pérdida de masa inicial para los cupones con exposición a 1% BSR; obtenida en estudios previos de los autores, es mayor, para los mismos tiempos de exposición, que los cupones expuestos a 10% BSR y a partir de 96h la pérdida de masa asociada al mayor porcentaje de inóculo supera la pérdida de masa determinada con menor porcentaje.

El comportamiento asociado a las primeras 72h se debe al efecto de la mayor cantidad de exopolímero con 10% de inóculo, lo que disminuyó la corrosión uniforme inicial. No obstante, en pocas horas se incrementó hasta igualar a las 96h la pérdida de masa generada por el APS con 1% de inóculo, haciéndose inclusive mayor la pérdida en un menor tiempo, por lo localizado de la corrosión microbiológica generada por las bacterias debajo del exopolímero.

Morfología del ataque a los cupones

En la Figura 5 se presentan las microfotografías de los cupones de acero al carbono con 240h de exposición a APS, con y sin BSR. En los cupones expuestos a APS sin BSR se aprecia una superficie limpia y con marcas propias remanentes del acondicionamiento superficial de los cupones, que cambia de manera importante con tan solo 24h de exposición, observándose puntos de picadura en particular en la parte baja del cupón, coincidente con la mayor acumulación de biopelícula y productos de corrosión en esa zona. En la cara posterior del cupón se observó menor cantidad de puntos de picadura. La cantidad de picaduras sobre la superficie del cupón aumenta con el tiempo de exposición, debido al efecto agresivo del H_2S generado bióticamente por las BSR.

En la Figura 6 se presentan fotomicrografías con microscopio electrónico de barrido con ampliificaciones a 1000X de la superficie de los cupones sin exposición al medio (Figura 6a) y con ampliificaciones a 200X de la superficie de los cupones expuestos a APS+BSR (Figura 6b). En presencia de APS+BSR se obtiene una corrosión mixta moderada principalmente de naturaleza localizada sobre toda la superficie con formación de picaduras importantes ($\geq 50\mu\text{m}$) como se observa en la Figura 6b.

Identificación de depósitos y biopelícula de BSR sobre los cupones

Para las pruebas con APS inoculada con BSR se visualiza que todos los cupones extraídos de los reactores presentaron una coloración negra sobre su superficie, característica de los sulfuros de Fe formados producto de la corrosión. Estos productos de corrosión se disuelven inmediatamente al sumergir el cupón en la solución decapante, desprendiendo un olor a huevo podrido característico del H_2S formado por la acción del HCl de dicha solución.

Adicionalmente, en estos cupones se observa el crecimiento de una biopelícula asociada al crecimiento bacteriano, como se determinó en las fotomicrografías de barrido a 5000 \times , como la que se muestra en la Figura 7. Se observa la presencia de BSR como pequeños bacilos de $1\mu\text{m}$ de largo rodeados del exopolímero generado por acción bacteriana.

En la Figura 8 se presentan fotomicrografías y el espectro analizado con barrido de los productos de corrosión presentes en cupones expuestos a APS+BSR. Los principales elementos presentes en los depósitos además de los componentes del metal base Fe y C fueron S, Cl, Ca, Mg y Na; variando la proporción de estos en las diferentes áreas analizadas.

En la Figura 9 se muestran los espectros obtenidos por DRX para un cupón expuesto a APS y otro expuesto a APS+BSR. Utilizando el programa JADE 9.0 acoplado a las bases de datos de difracción; se identificaron los depósitos formados sobre la superficie de los cupones para cada prueba realizada, como se muestra en la Tabla IV. En esta tabla se muestra el

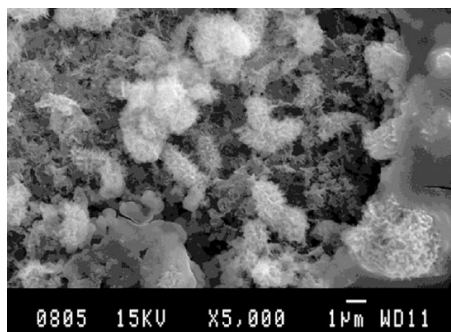
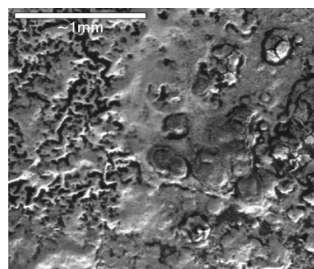


Figura 7. Fotomicrografías con microscopio electrónico de barrido a 5000 \times para cupón expuesto en prueba con APS+BSR donde se observan BSR y la biopelícula formada.

a Zona del cupón analizada por la emisión de electrones secundarios con MEB



b Cupón expuesto a BSR (Área 1)

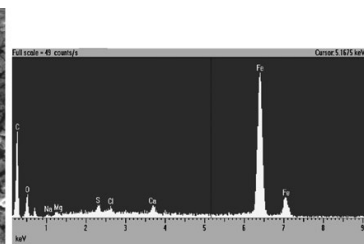


Figura 8. Espectro obtenido con microscopio electrónico de barrido (MEB) para área con productos de corrosión en un cupón expuesto a APS+BSR.

TABLA IV
COMPONENTES IDENTIFICADOS POR DRX

Nº PDF	Componente	2θ	APS	APS + BSR
01-072-2617	$\text{Ca}(\text{SO}_3)_4\text{H}_2\text{O}$	11,048	11,06	-
00-007-0043	$\text{Fe}(\text{HCO}_3)_2$	14,046	13,84	-
01-089-2738	FeS	17,558	-	17,12
04-012-0489	CaCO_3	29,41	29,92	29,76
04-002-8917	Fe	44,581	44,58	44,50
04-002-8917	Fe	64,88	64,82	64,78

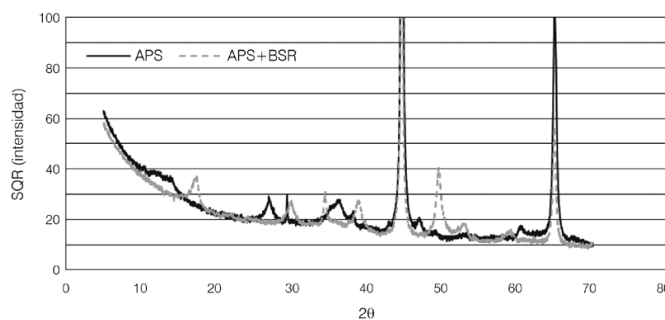


Figura 9. Espectros de DRX para cupones expuestos a APS y APS+BSR.

número PDF correspondiente a la identificación del compuesto en la base de datos, la fórmula química del compuesto identificado, el ángulo 2θ característico del pico principal del espectro coincidente con un componente

específico y el ángulo 2θ obtenido del compuesto identificado para cada prueba realizada el compuesto identificado en la misma.

Además de la presencia del Fe del metal base, se observa la precipitación de CaCO_3 , debido a la tendencia incrustante del APS, acelerado por la presencia del ion bicarbonato en el agua. También se aprecia la precipitación de $\text{Ca}(\text{SO}_3)_4\text{H}_2\text{O}$, sobre todo en la prueba sin BSR, por la presencia de sulfatos en el medio sin ser consumidos por no haber presencia de BSR.

En las pruebas con BSR se observa la formación de sulfuros de Fe, particularmente Mackinawita asociada a la presencia de sulfuros por la acción bacteriana y del Fe producto de la corrosión de los cupones.

Esto confirma la señalada coloración negra de los cupones.

Conclusiones

Una vez colonizada la superficie del metal, ésta se activa y se corroe permanentemente a pesar de que el crecimiento bacteriano sétil permanece constante, siendo esto indicativo de la influencia conjunta de productos de sulfuro de hierro y bacterias interaccionando negativamente sobre el metal, alterando su estructura e incrementando su deterioro.

El crecimiento planctónico del cultivo mixto de BSR relacionado con la producción de sulfuros y el consumo de sulfatos permitió establecer que estas bacterias pueden mantenerse en una fase estacionaria de alto crecimiento con una mínima concentración de sulfato.

La morfología de ataque del cultivo mixto de BSR se manifestó en forma de picaduras distribuidas uniformemente sobre la superficie del metal con un diámetro promedio de $50\mu\text{m}$.

El exopolímero generado por las BSR puede disminuir inicialmente la velocidad de corrosión uniforme del acero, pero una vez establecida la biopelícula e iniciada la interacción del H_2S generado biotécnicamente por las bacterias se incrementa la pérdida de masa del metal, debido a la corrosión por picaduras del metal.

La mackinawita es el principal sulfuro de hierro que se genera por la acción de BSR en APS, cubriendo toda la superficie del cupón con una monocapa que se incrementa en función del tiempo de exposición.

REFERENCIAS

- ASTM (2003) *Standard Practice for Preparing, Cleaning, and Evaluating Corrosion Test Specimens*. ASTM G-1-03. American Society for Testing and Materials. West Conshohocken, PA, EEUU. 8 pp.
- ASTM (2004a) *Standard Practice for Laboratory Immersion Corrosion Testing of Metals*. ASTM G 31-72. American Society for Testing and Materials. West Conshohocken, PA, EEUU. 8 pp.
- ASTM (2004b) *Standard Guide for Applying Statistic to Analysis of Corrosion Data*. ASTM G 16-95. American Society for Testing and Materials. West Conshohocken, PA, EEUU. 13 pp.
- ASTM(2005) *Standard Guide for Examination and Evaluation of Pitting Corrosion*. ASTM G 46-94. American Society for Testing and Materials. West Conshohocken, PA, EEUU. 7 pp.
- ASTM (2006a) *Standard Guide for Evaluating and Qualifying Oil Field and Refinery Corrosion Inhibitors in the Laboratory*. ASTM G 170-06. American Society for Testing and Materials. West Conshohocken, PA, EEUU. 16 pp.
- ASTM (2006b). *Standard practices for Evaluating and Qualifying Oil Field and Refinery Corrosion Inhibitors Using Rotating Cage*. ASTM G 184-06. American Society for Testing and Materials. West Conshohocken, PA, EEUU. 6 pp.
- ASTM (2008) *Standard Practice for the Preparing of Substitute Ocean Water*. ASTM D-1141-98. American Society for Testing and Materials. West Conshohocken, PA, EEUU. 15 pp.
- ASTM (2009) *Standard Test Method for Using Atmospheric Pressure Rotating Cage*. ASTM G 202-09. American Society for Testing and Materials. West Conshohocken, PA, EEUU. 5 pp.
- Fauque G, Ollivier B (2004) Anaerobes: the sulfate-reducing bacteria as an example of metabolic diversity. En Bull AT (Ed.) *Microbial Diversity and Bioprospecting*. ASM Press. Washington, DC, EEUU. pp. 169-176
- Kemmer FN, McCallion J (1989) *Manual del Agua su Naturaleza, Tratamiento y Aplicaciones*. Vol. III. Nalco Chemical Co. McGraw Hill. México. pp. 1-20.
- Hernández MJ, Zabala G, Ruiz N, Juárez C, García R, Padilla A (2004) Microbial consortium influence upon steel corrosion rate, using polarization resistance and electrochemical noise techniques. *Electrochim. Acta* 49: 4295-4301.
- Javaherdashti R (2008) *Microbiologically Influenced Corrosion: an Engineering Insight*. Springer. Londres, RU. pp. 29-54
- NACE (2004) *Standard Test Method TM0 194-94. Field Monitoring of Bacterial Growth in Oilfield Systems*. Item N° 21224. NACE International. Houston, TX, EEUU. pp 1-15
- Pots BFM, Kapusta SD, John RC, Simon Thomas MMJ, Rippon IJ, Whitham TS, Girgis M (2002) Improvements on de Waard-Milliams corrosion prediction and applications to corrosion management. *Corrosion* 2002 (7-11/04/2002). Denver, CO, EEUU. 19 pp.
- Revie RW, Uhlig H (2011) *Uhlig's Corrosion Handbook*. 3ª ed. Wiley. Hoboken, NJ, EEUU. 1288 pp.
- Videla HA (1996) *Manual of Biocorrosion*. CRC Press. Boca Ratón, FL, EEUU. 254 pp.
- Watkins Borenstein S (1994) *Microbiologically Influenced Corrosion Handbook*. Woodhead. Cambridge, RU. pp 1-26.
- Zambrano O (2008) *Tratamiento Químico para el Control de Corrosión e Incrustación en una Unidad de Explotación de Crudo*. Tesis. Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela. 152 pp.

CORROSIVE AGGRESSIVENESS OF PRODUCTION WATER BY EFFECT OF SULFATE-REDUCING BACTERIA

Antonio J. De Turrís S., Matilde F. de Romero, Sankara Papavinasam and Lisseth Ocando

SUMMARY

The corrosive aggressiveness on carbon A-366 steel exposed to a mixed culture of sulfate-reducing bacteria (MCSR) isolated from production water in a flow station of the Venezuelan oil industry was analyzed. Different conditions that influence the growth of the MCSR in a synthetic production water (SPW) were studied, simulating the conditions of plant water. Plankton and sessile growth curves for 10% MCSR in SPW inoculums were obtained. The dependence on pH, sulfur, sulfate and iron in the medium was analyzed, as well as the loss of weight in time and the morphology of the attack on the exposed steel. The time course of iron sulfurs' production by effect of SRB was

determined and samples were taken for X ray diffraction analysis. It was determined that with 10% initial inoculums, maximal SRB plankton (10^8 cell/ml) and sessile (10^6 cell/cm²) growths were reached, similar to those in the plant after a 48h exposure. The local attack by SRB on steel pieces is characterized by small bites ($\pm 50\mu\text{m}$) uniformly distributed on the metal surface. This shows that once the bio-pellicule is formed on the metal surface, this is activated and permanently corroded, being indicative of the joint influence of iron sulfur products and bacteria, negatively interacting on the material and leading to its corrosion.

AGRESSIVIDADE CORROSIVA DE UMA ÁGUA DE PRODUÇÃO POR EFEITO DE BACTÉRIAS SULFATO-REDUTORAS

Antonio J. De Turrís S., Matilde F. de Romero, Sankara Papavinasam e Lisseth Ocando

RESUMO

Analisou-se a agressiva corrosividade do carbono A-366 sobre o aço, exposto a um cultivo misto de bactérias sulfato-redutoras (CMBSR) isolado de uma água de produção de uma estação de fluxo da indústria petrolífera venezuelana. Para isto, se analisaram diferentes condições que influem no crescimento do CMBSR em uma água de produção sintética (APS), simulando as condições da água de planta. Construíram-se curvas de crescimento planctônicas e sésseis para 10% de inóculo do CMBSR em APS, analisando o comportamento do pH, sulfuro, sulfatos e ferro no meio, igual que a perda de peso no tempo e a morfologia de ataque de cupons expostos. Analisou-se a evolução com o tempo de sulfetos de ferro pela ação de BSR e foram colhidas amostras para análises por difração de raios X. Determinou-se que com 10% de inóculo inicial se alcança um máximo crescimento de BSR planctônico (10^8 cel/ml) e sésil (10^6 cel/cm²) similar ao de planta em 48h de exposição, observando-se sobre os cupons um ataque localizado pela ação das BSR caracterizado por pequenos pontos de corrosão ($\pm 50\mu\text{m}$) distribuídos de maneira uniforme sobre a superfície do metal. Isto demonstrou que uma vez formada a biofilme sobre a superfície do cupom; esta se ativa e se corrói permanentemente, sendo isto indicativo da influência conjunta de produtos de sulfeto de ferro e bactérias interagindo negativamente sobre o material e fazendo que este se corra.

tras para análises por difração de raios X. Determinou-se que com 10% de inóculo inicial se alcança um máximo crescimento de BSR planctônico (10^8 cel/ml) e sésil (10^6 cel/cm²) similar ao de planta em 48h de exposição, observando-se sobre os cupons um ataque localizado pela ação das BSR caracterizado por pequenos pontos de corrosão ($\pm 50\mu\text{m}$) distribuídos de maneira uniforme sobre a superfície do metal. Isto demonstrou que uma vez formada a biofilme sobre a superfície do cupom; esta se ativa e se corrói permanentemente, sendo isto indicativo da influência conjunta de produtos de sulfeto de ferro e bactérias interagindo negativamente sobre o material e fazendo que este se corra.