



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN



Departamento de Exámenes Profesionales

EVALUACION DE BIOCIDAS

**MEMORIA DE DESEMPEÑO
P R O F E S I O N A L
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A :
GLORIA GUADARRAMA DEL VALLE**

ASESOR :
DR. ENRIQUE ANGELES ANGUIANO

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO

2002

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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).

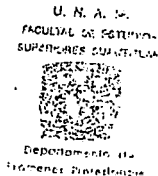
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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



REPUBLICA NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos

La Memoria de Desempeño Profesional; Evaluación de Biocidas,

que presenta la pasante: Gloria Guadarrama del Valle
con número de cuenta: 7212562-5 para obtener el título de :
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 8 de abril del 2002.

PRESIDENTE Q.F.I. Leticia Zúñiga Ramírez
VOCAL Dr. Enrique Angeles Anguiano
SECRETARIO M. en F.C. Ma. Eugenia R. Posada Galarza
PRIMER SUPLENTE Q.F.B. Ma. Esther Revuelta Miranda
SEGUNDO SUPLENTE Dra. Susana E. Mendoza Elvira

[Handwritten signatures and initials over the list of names]

AGRADECIMIENTOS

Desde que se inicia, hasta que se convierte en una realidad ,todo trabajo es fruto de un esfuerzo colectivo.

La dedicación a las siguientes personas ha hecho de este trabajo la que es.

En primer lugar muchas gracias a la Universidad Nacional Autónoma de México por darme la oportunidad de terminar la carrera; a mis maestros por sus esfuerzos puestos en mí; a mi asesor, Dr. Enrique Angeles Anguiano por su visión, su criterio y su apoyo leal a lo largo de esta memoria de desempeño profesioal.

También quiero expresar mi profunda gratitud a Roberto González, por estar siempre allí cada vez que necesité ayuda durante los difíciles momentos que acompañaron a la terminación de este trabajo.

Finalmente a Gerardo y Gabriela González por las muchas y diversas maneras de apoyarme en esta labor.

Gloria

INDICE

1.0	INTRODUCCION	1
1.1	Sistemas de inyección de agua	1
1.2	Sistemas abiertos de inyección de agua	2
1.3	Tipos de microorganismos que causan problemas	3
1.4	Objetivo	4
2.0	GENERALIDADES	5
2.1	Microbiología del campo	5
2.2	Las bacterias en el campo del petróleo	5
2.3	Características de las bacterias	6
2.4	La corrosión provocada por las bacterias	8
2.5	Microbiocidas	14
2.5.1	Tipos de biocidas	14
2.5.2	Compatibilidad de biocidas	17
2.5.3	Método de lote	18
2.5.4	Método de pepitas	18
2.5.5	Método de aplicación	19
2.5.6	Costo de biocidas	19
2.6	Características de los biocidas	20
2.6.1	Glutaraldehido	20
2.6.2	Isotiazolina	22
2.6.3	Sales cuaternarias de amonio	24
2.6.4	Sulfato de tetrahidroximetilfosfonio (THPS)	26
3.0	PARTE EXPERIMENTAL	28
3.1	Estructura Organizacional del laboratorio	28
3.2	Material	29
3.3	Método	30
3.4	Metodología	31
3.5	Diagrama de flujo de evaluación de biocidas	33
4.0	RESULTADOS	35
4.1	Tabla de resultados	35
4.2	Tablas de eficiencia	39
4.3	Gráficas de comportamiento de biocidas	41
4.4	Gráficas de eficiencia de biocidas	45
4.5	Análisis comparativo de biocidas	51
5.0	DISCUSIÓN	53
6.0	CONCLUSIONES	56
7.0	GLOSARIO	57
8.0	BIBLIOGRAFÍA	58

INTRODUCCIÓN

1.0 INTRODUCCION

Por varios años se ha extraído petróleo de formaciones subterráneas logrando extraer la mayor cantidad posible. En general se desarrollan las siguientes fases de producción:

Extracción primaria es la producción de petróleo utilizando presiones normales para que los líquidos emerjan a la superficie.

Extracción secundaria es la producción de petróleo utilizando métodos mas intensos de extracción, como inyección de agua.

Extracción terciaria es la producción de petróleo utilizando métodos de extracción aplicando vapor y dióxido de carbono.

Los microorganismos tienen efectos significativamente adversos a todos los métodos de extracción, ocasionando graves problemas en los programas de extracción secundaria y terciaria.

1.1 SISTEMAS DE INYECCIÓN DE AGUA.

Cuando se selecciona un yacimiento de petróleo se debe encontrar una fuente de agua apropiada. Algunas de las más comunes son:

1. Agua que se produce junto con el petróleo.
2. Agua dulce de las zonas subterráneas.
3. Agua de la superficie de lagos, estanques, arroyos o ríos.
4. Agua de pozo que extraen de las acuíferas superficiales.

Los sistemas de inyección de agua pueden clasificarse más fácilmente como sistemas abiertos, en donde hay oxígeno presente y sistemas cerrados en donde se excluye el oxígeno. Los sistemas abiertos se encuentran en

instalaciones terrestres, pero los sistemas cerrados están en instalaciones marítimas en donde se usa el agua de mar para la inyección en el yacimiento.

1.2 SISTEMAS ABIERTOS DE INYECCIÓN DE AGUA.

En el diagrama 1 se describe un sistema abierto de inyección de agua:

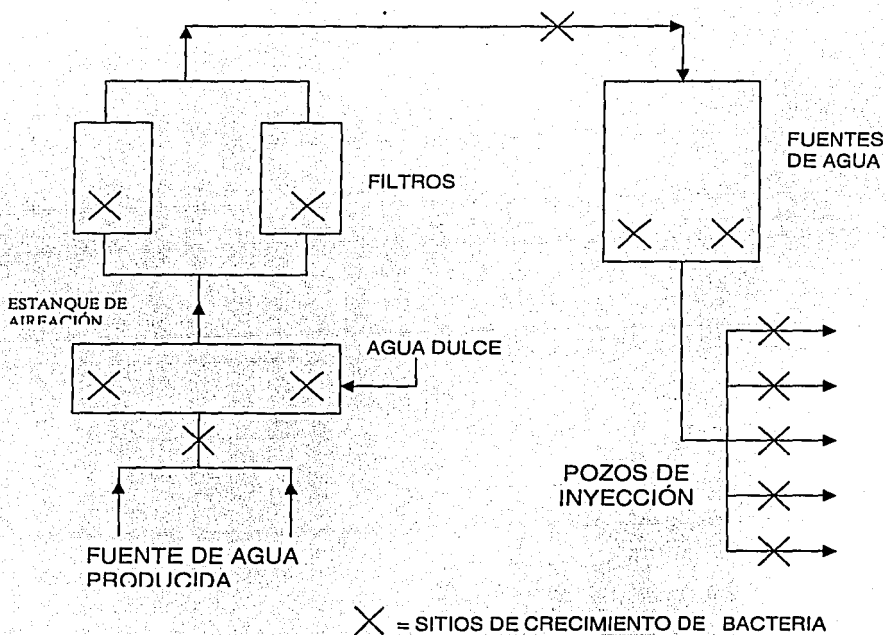


DIAGRAMA 1. Sistema abierto de inyección.

El factor más importante en los sistemas abiertos es la presencia de oxígeno que es la causa de que se estimule el crecimiento de muchos microorganismos. Muchas bacterias que causan los problemas en los yacimientos de petróleo, usan el oxígeno para la oxidación de compuestos orgánicos en el agua, favoreciendo el crecimiento de microbios. Las bacterias obtienen más energía de la oxidación de compuestos orgánicos y así el oxígeno actúa como un estimulante del crecimiento. Esto lleva rápidamente a que aumente la cantidad de bacterias y a veces a que se generen capas viscosas de polisacáridos, que son los responsables de que se tapen los filtros.

El crecimiento de microorganismos puede originar los siguientes problemas:

- a. Que se tapen los filtros.
- b. Crecimiento de bacterias en el fondo de los tanques de almacenamiento de agua que origina la corrosión del metal.
- c. Que se tapen las fuentes de agua, los pozos de inyección y los pozos de eliminación.
- d. Las cañerías de agua pueden tener corrosión del metal debajo de los depósitos.
- e. Crecimiento de microorganismos en los tanques de retención.

1.3 TIPOS DE MICROORGANISMOS QUE CAUSAN PROBLEMAS.

Las especies de bacteria que ocasionan la mayoría de los problemas en los sistemas abiertos de inyección de agua, en algunas ocasiones, algas verdes y marrones causan problemas en los fosos en donde llega mucha luz del sol. Los principales tipos de bacterias que causan problemas en los sistemas de inyección de agua son:

Bacterias Aeróbicas que producen capas viscosas.

- Especie **Pseudomonas**
- Especie **Flavobacterium**
- Especie **Bacillus**
- Especie **Klebsiella**
- Especie **Alcaligenes**
- Especie **Paracoccus**

En resumen podemos establecer que estas bacterias producen capas viscosas de polisacáridos gelatinosos, como consecuencia del crecimiento en presencia de oxígeno ocasionando muchísimos problemas en la producción de petróleo; por lo tanto, el objetivo de mi trabajo es el siguiente:

1.4 OBJETIVO

Presentar una perspectiva de microorganismos que frecuentemente se encuentran en el campo del petróleo y cómo controlarlos eficazmente por medio del uso y la aplicación de biocidas.

GENERALIDADES

2.0 GENERALIDADES

2.1 MICROBIOLOGIA Y SU CAMPO

El hombre ha utilizado los microorganismos desde los tiempos prehistóricos. Hoy día los utilizamos en muchas formas distintas, En la industria de los alimentos, utilizamos bacterias para ayudar en la producción de bebidas alcohólicas y los productos de queso. Se utiliza un polímero del metabolismo bacterial, goma xantana, para espesar el aderezo para ensaladas de bajas calorías y se utiliza también para las salmueras en el campo de petróleo para la inundación de polímeros para recuperar grandes cantidades de petróleo. En el campo de la eliminación de desperdicios, la bacteria en la tierra descompone los desperdicios sólidos en los rellenos de tierra (vertederos de desperdicios) para producir hidrocarburos combustibles que se pueden recuperar para el uso como fuente de energía. Muchas veces se pasa por alto la importancia de la "buena" bacteria en el cuerpo humano tal como *Escherichia coli* que residen en los el tracto intestinal y facilitan la descomposición de los alimentos.

2.2 Las bacterias en el campo de petróleo

En actividades del petróleo cada año se expenden millones de dólares en productos químicos para el control de las bacterias⁽¹⁾. Esto surge del hecho de que los microorganismos están presentes aun en los fluidos y afectan la operación y rendimiento del equipo de superficie y pozo abajo, como el taponamiento en el incremento de arrastre del petróleo y el aumento de la corrosión son algunas de las causas de la infestación de bacteria y el tratamiento para un problema bacterial en la corrosión se complica por el hecho de que las bacterias son un grupo diverso de especies y tienen procesos adaptivos y altamente complejos.

2.3 Características de las bacterias

Tipos / clases de bacterias

Se agrupan las bacterias en género (clase) y especies (tipo) por la labor taxonómica exhaustiva. Estos nombres ocurren juntos como dos palabras, el primero se refiere al género y el segundo la especie. Un ejemplo, *Desulfovibrio desulfuricans*,⁽²⁾ es un nombre específico de la bacteria reductora de sulfato (SRB). La intención de los nombres de la bacteria es de ser descriptiva de la característica principal del organismo. Por lo tanto, el *Desulfovibrio desulfuricans* es una bacteria que tiene la forma de un vibrión (bastoncito curvo) que trabaja para retirar el sulfato.

La mayoría de las bacterias miden aproximadamente 3 micras de diámetro y tienen diversas formas incluyendo el bacilo (bastoncito), vibrión (bastoncito curvo), espirilo (bastoncito curvo helicoidal) y el cócico (esfera). El tamaño de las bacterias es importante, ya que funcionan como agentes de taponado del agujero del pozo en operaciones de inyección de agua, se sabe que tipos específicos de bacteria se filtran por el medio poroso durante el flujo. Obviamente, el tamaño y forma de la bacteria en un agua en particular junto con la permeabilidad de la formación serán determinantes mayores en cuanto si los problemas de taponado serán frecuentes y producen una capa pegajosa o viscosa en su superficie que es la cápsula. Este material capsular contiene sustancias feculosas o pegajosas constituidas principalmente por polisacáridos que ayudan a las bacterias a filtrar los nutrientes y a resistir los efectos del tratamiento químico, ya sea con antibióticos o microbicidas. Los polisacáridos que rodean las células individuales también promueven que las bacterias se peguen una a otra para formar una matriz cohesiva llamada un glucocáliz o biocapa, éste ayuda a proteger a las bacterias de los productos químicos hostiles al sistema. Las bacterias sésiles son, por lo tanto, más difíciles de erradicar que las bacterias de flotación libre o planctónicas.

La variedad facultativa de la bacteria es muy común en las aguas saladas y la temperatura donde se encuentran dichas bacterias también influye para agruparlas. Las bacterias termófilas se definen como los organismos que existen a temperaturas mayores de 50° C (122° F), las mesófilas crecen mejor en la gama mediana de temperaturas desde aproximadamente 20~37° C. Mientras que las llamadas psicrófilos solamente crecen bien a temperaturas de congelación (4-10° C).⁽³⁾

Otra expresión que puede describir mejor el ambiente de las bacterias es el potencial de oxidación-reducción (Eh). Al reducirse el oxígeno en un sistema, la cantidad de formas reducidas de iones de metal (Fe²⁺) aumenta.

Existen métodos convencionales para enumerar las bacterias en el campo de petróleo, pero se debe hacer hincapié que la mayoría de los estudios se han tratado a los organismos planctónicos o de flotación libre presentes en la fase líquida. El monitoreo de los SRB planctónicos (de flotación libre) se ha llevado a cabo tradicionalmente en los sistemas del campo de petróleo para evaluar la posibilidad para la incrustación biológica. Los microorganismos planctónicos son relativamente fáciles de muestrear en aguas voluminosas y se pueden enumerar exacta y rápidamente utilizando una variedad de técnicas disponibles comercialmente.⁽⁴⁾ Se distinguen los microorganismos sésiles (conectados en la superficie) de las bacterias planctónicas en que se asocian con las superficies en una biopelícula en vez de la fase de agua voluminosa. Las bacterias sésiles y planctónicas no necesariamente significan diferencias en el tipo de microorganismo, por lo contrario, se refieren a una diferencia en el ambiente en el cual se diferencian los microorganismos de las bacterias planctónicas en que se asocian con las superficies en una biopelícula en vez de la fase de agua voluminosa. Por otro lado, los microorganismos sésiles no se enumeran tan fácilmente debido a su localización (biopelículas en las superficies interiores de las paredes de los oleoductos, fondos de los recipientes, etc.) y la preparación de la

muestra (creación de una lechada) necesaria para el análisis. Por consecuencia, se desatiende del monitoreo de las poblaciones sésiles en los sistemas del campo de petróleo. Un concepto erróneo común es que el monitoreo y control eficaz de los microorganismos por todo un sistema será preventiva contra todos los problemas asociados con la incrustación biológica. Sin embargo, no existen una correlación clara entre las poblaciones planctónicas y sésiles en un ambiente dado con respecto a los números o especies. Hoy se considera que las poblaciones bacteriales planctónicas se originan generalmente de la población sésil en un sistema de agua, ya que esta población planctónica "derivada" representa solamente una parte de la población sésil original, los estimados de los números bacteriales planctónicas tenderán a disminuir la concentración de bacterias en un sistema. Por lo tanto, sólo el monitoreo planctónico puede no facilitar información esencial cuando la bio-fouling (suciedad provocada por microorganismos y la MIC (Influencia de la Corrosión Microbiológica) son un problema.

Los problemas atribuidos a los microorganismos planctónicos y sésiles son muy distintos. Por ejemplo, las poblaciones planctónicas de la SRB pueden contaminar los sistemas hasta el grado que aumentan las concentraciones de (H_2S), en tanto que las poblaciones de las SRB sésiles pueden dar lugar a la deposición de Fe_3S_4 y el taponamiento.

2.4 La corrosión provocada por las bacterias

En 1923, Von Wolzogen Kuhr descubrió el importante papel que desempeñan estas bacterias. ⁽⁶⁾

Hasta donde se sabe, las bacteria sulfato reductoras únicamente forman parte de un solo grupo de Espiríléas cuyo representante es *Desulfovibrio desulfuricans*, ⁽⁷⁾ puesto que son anaerobias obligadas, a estas bacterias se las encontrará bajo las capas de herrumbre que se hallan en contacto con el metal, ahí donde no llega el oxígeno. Estas bacterias transforman los sulfatos en ácido sulfhídrico, el cual se cambiará con las sales ferrosas para dar un sulfuro negro. Se han comprobado que, además de afectar a los metales ferrosos, el ácido

sulfhídrico ejerce su acción corrosiva de manera muy especial en las tuberías de plomo, independientemente de que éstas se encuentren o no bajo tierra. Son las bacterias del género *Desulfovibrio* que debido a su habilidad para reducir el sulfato a sulfuro, es la causa principal de corrosión en algunos sistemas de inyección de agua. Este tipo de MIC se caracteriza por la presencia de sulfuro de hierro, picaduras profundas y la incidencia de metal lustroso debajo de los productos de corrosión de enlazado flojo. Las raspaduras del área afectada del metal se pueden añadir a un medio adecuado para la identificación positiva de la presencia de organismos del género *desulfovibrio*.

Proceso de corrosión: ⁽⁸⁾ Es en el ánodo donde la superficie metálica de hierro en corrosión pasa del estado metálico al estado iónico y el proceso se puede escribir de esta forma: (Ecuación 1)



Los dos electrones liberados se transfieren por el metal al cátodo y se combinan con los iones de hidrógeno presentes en el agua y forman átomos de hidrógeno que se liberan como hidrógeno. La reacción catódica se escribe de esta forma: (ecuación 2)



De acuerdo con la teoría electroquímica de corrosión, se requiere un ánodo y un cátodo. Sin embargo, el hidrógeno que se forman en el cátodo pueden reducir la corrosión o puede pararla completamente. A este fenómeno se le llama polarización catódica. El oxígeno disuelto en el agua puede reaccionar con el hidrógeno catódico para formar agua y por lo tanto, permitir que proceda la corrosión. En este caso, se dice que el oxígeno actúa como un despolizador catódico.

Cuando la oxidación del hidrógeno ocurre en la presencia de los iones de

sulfato, el efecto neto es el de producir sulfuro libre tal como se muestra en las ecuaciones 3 y 4 :



El sulfuro libre producido en la Ecuación 4 se puede combinar con el Fe^{2+} anódico para formar FeS o reaccionar con el H^+ adicional para formar H_2S . La ecuación equilibrada para la producción del FeS de la SRB se describe en la ecuación 5:



De esta ecuación, es posible calcular la cantidad teórica de FeS que se puede sintetizar por la SRB de una salmuera de concentración conocida de sulfato. Por ejemplo, la cantidad de FeS que se puede formar de una salmuera conteniendo 1200 ppm de SO_4^{2-} es:

$$1200 \text{ ppm } \text{SO}_4^{2-} \times \frac{88 \text{ ppm } \text{FeS}}{96 \text{ ppm } \text{SO}_4^{2-}} = 1100 \text{ ppm } \text{FeS} \quad (6)$$

Aunque este mecanismo electroquímico para la corrosión se ha probado y aceptado, solamente en cepas que producen la enzima hidrogenasa. Otras cepas de SRB que no contienen esta enzima también se han demostrado ser corrosivas y que oxidan los ácidos orgánicos presentes en el agua, ácidos carboxílicos de peso molecular más bajos y ácido sulfhídrico, si el sulfato está presente. Como ejemplo, se muestra la reacción de el lactato de sodio. (ecuación 7)



Se cree que la corrosión que resulta de estas SRB en particular se puede atribuir principalmente al H_2S y su reacción con el Fe^{2+} anódico.

El número de bacterias en una muestra de agua o sistema operativo puede cambiar en forma dramática dentro de pocas horas debido a que cada bacteria pasa por una fisión binaria; es decir, ocurrirá el crecimiento como función de 2^n , donde 'n' es el número de reproducciones. Las tasas de reproducción varían dependiendo de las condiciones de crecimiento pero pueden ser en una cuestión de minutos. En una biopelícula, el crecimiento es desde la superficie hacia afuera.

Se pueden encontrar cantidades abundantes de nutrientes en las salmuera del campo de petróleo. La presencia de hidrocarburos residuales representan una fuente excelente de energía para una bacteria específica. Las bacterias productoras de ácido (BPA), son bacterias que metabolizan hidrocarburos a ácidos orgánicos corrosivos que son metabolizados por las bacteria reductoras de sulfatos (SRB) durante la reducción del sulfato a ácido sulfhídrico. Las SRB crecen en un medio conteniendo hierro ferroso soluble y ácidos orgánicos, normalmente ácido láctico. El hierro ferroso funciona de dos maneras: una, reacciona con el ácido sulfhídrico generado por las BRS para formar el FeS negro y otra, mantiene el potencial de oxido - reducción bajo en el medio, importante para el crecimiento anaeróbico de las SRB, así, las BPA y las SRB se asocian en un fenómeno de simbiosis.

Una muestra gráfica de la afectación producida por bacterias son mostradas en las fotografías I, II, III. En la fotografía I se observa la estructura del biofilm en una ampliación de vista micrográfica en las paredes de una torre de enfriamiento. En la fotografía (II) observamos la morfología de las algas microscópicas y su filamento, con una ampliación de 600X y 3000X. En la fotografía (III) podemos observar una bacteria y material inorgánico con una ampliación de 5000X.⁽⁹⁾

(BACTERIA SESIL)

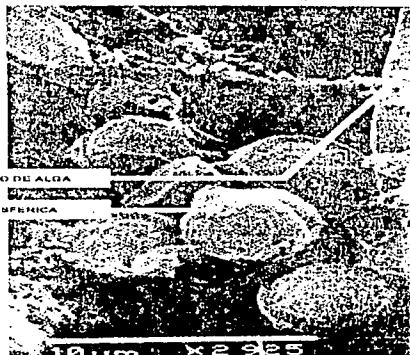
TRONIS CON
FALLA DE ORIGEN



Fotografía (I).- Estructura del Biofilm

AMPLIFICACIÓN 600X

AMPLIFICACIÓN 3000X



Fotografía (II).- Morfología de las algas microscópicas y su filamento

AMPLIFICACIÓN 5000X



Fotografía (III).-Bacteria y material orgánico

El monitoreo de las bacterias sésiles ha sido una práctica común durante los últimos años, al prestarle más atención a estos tipos de bacterias y los problemas que causan en los sistemas del campo de petróleo, se requieren normalmente de 4 a 6 semanas para que se desarrolle una biopelícula estable.

El monitoreo es muy breve para el crecimiento sésil. Todas inician del hecho de que solamente reflejan el crecimiento sésil en las superficies del acero bajo en carbón, solamente en los puntos del sistema donde estén instaladas. Por lo tanto, se debe tener mucho cuidado cuando se utilizan estos dispositivos para determinar el rendimiento del biocida, ya que la mortalidad sésil corriente abajo de la unidad puede no ser tan alta ⁽¹⁰⁾. Por supuesto, un programa eficaz de biocida debe ser el que logra una reducción considerable del crecimiento sésil en los pernos del monitor de la biomasa.

2.5 MICROBIOCIDAS

2.5.1 Tipos de biocidas⁽¹⁰⁾

Los productos químicos hechos para erradicar la bacteria de los sistemas de agua se llaman bactericidas o microbiocidas (biocidas en forma abreviada) (6) Estos productos pueden ser orgánicos o inorgánicos y están disponibles como líquidos, sólidos, o gases. Algunos de los tipos de biocidas más comunes son:

Compuestos inorgánicos

Cloro gas
Hipoclorito de sodio
Peróxido de hidrógeno
Sulfato cúprico
Dióxido de cloro

Compuestos orgánicos

Isocianuros clorados
Acroleína
Formaldehído
Glutaraldehído
Sales cuaternarias de amonio
Diaminas
Compuestos organobromados
Isotiazolina
Sulfato de tetrahidroximetil fosfonio (THPS)

El modo de acción de los biocidas puede ser la colisión osmótica o la ruptura celular, la inhibición metabólica o el envenenamiento, la oxidación o reacción con componentes celulares claves o una combinación de cualquier de estos modos.⁽¹¹⁾ Se debe reconocer que en un sistema cerrado y suponiendo la compatibilidad con los fluidos del sistema, todos los microbiocidas serán eficaces en alguna dosis o concentración contra los organismos residentes, pero habrá grandes diferencias en el costo de tratamientos individuales.

Las características de un biocida son importantes, si pudiéramos idear un producto óptimo para el control de las bacterias en el campo de petróleo, el biocida deberá poseer algunas de las siguientes propiedades.

- Inocuo para la aplicación / no peligroso para la salud humana
- Eficaz contra todo tipo de bacteria. Solubilidad baja / aceite alta / agua
- Buena acción de penetración en los sólidos (surfactancia)
- Baja adsorción en superficies / buena capacidad de tratamiento
- Inocuo para el medio ambiente

Desafortunadamente, casi todos los biocidas son peligrosos para los humanos en alguna forma como se suministran, hoy día se deben llevar a cabo numerosos estudios demostrando los efectos toxicológicos de los productos en los animales.

Por motivos desconocidos, no siempre se toman en cuenta juntos el costo y el rendimiento del biocida cuando se selecciona un producto, el alto costo por unidad no debe ser un impedimento para el uso del producto si el producto es más eficaz y seguro. Sin embargo, es más fácil, en la práctica, consumir los productos de bajo costo.

Un buen biocida debe ser eficaz contra todo tipo de organismos en un sistema, a los que se les denomina de amplia efectividad.⁽¹²⁾ Muchas veces en la práctica, un tipo de bacteria sobrevive o es más tolerante que el resto de la población bacteriana por lo que cuando este organismo comienza a "establecerse" en el sistema y crecer, las bacterias que se eliminaron eficazmente por el tratamiento del producto serán protegidas por el organismo tolerante y también comenzarán a crecer en la biopelícula.

Otros requisitos importantes de los biocidas son su solubilidad aceite / agua y la surfactancia. Aunque las bacterias requieren agua para vivir, se pueden encontrar en el petróleo y los hidrocarburos (combustibles) donde existen solamente rastros de humedad. Las bacterias tienden a congregarse en las superficies y también como interfases entre el petróleo y el agua. En un sistema predominantemente acuosa, un buen biocida, por lo tanto, óptimamente tendrá algo de solubilidad de petróleo para facilitar la distribución del producto por medio de la interface a la fase del hidrocarburo. La surfactancia o la habilidad del producto para penetrar sólidos humedecidos por petróleo que pueden estar en las superficies obviamente serían útiles para hacer llegar el producto a las bacteria que yacen debajo de los sólidos.⁽¹³⁾ Es principalmente por este motivo que las sales cuaternarias de amonio han tenido un uso amplio. Para que los biocidas sean eficaces en la inyección de agua, deben moverse con poca reducción en su concentración a los pozos de inyección y pozo bajo. No todos los biocidas poseen esta cualidad. Las sales cuaternarias de amonio, en particular, son altamente activas en la superficie y además de penetrar los sólidos se atrapan por la absorción en las superficies haciendo que el producto este menos disponible corriente abajo. Ya que las superficies asociadas con el equipo y los tubulares se

están renovando constantemente durante la inyección de agua, siempre habrá una reducción de sales cuaternarias de amonio a las superficies y los sólidos durante la aplicación.⁽¹⁴⁾ Los aldehídos, en cambio, demuestran baja adsorción y menos pérdida de producto químico al moverse corriente abajo.

Finalmente, un buen biocida será aquél que no perjudica el medio ambiente. Esta es una calidad extremadamente importante ya que los clientes y las agencias gubernamentales cuidan este aspecto ecológico. La mayoría de los productos químicos orgánicos son biológicamente degradables una vez que su concentración cae por de bajo de un valor específico en la tierra o en el agua.

2.5.2 Compatibilidad de los biocidas.

Cada uno de los biocidas tienen propiedades químicas inherentes que la hace inadecuada para el uso en ciertas aguas. Por ejemplo, las sales cuaternarias de amonio tienen una carga positiva que prohíbe su uso en salmueras duras o de alto calcio. Los biocidas de base de cloruro son oxidantes fuertes y pueden ser inapropiados para el uso en aguas que contienen Fe^{2+} u otros iones de metales de transición, porque pueden precipitarse. La oxidación parcial de H_2S al azufre elemental también puede ser un problema grave con los productos de cloruro. La corrosividad de los biocidas oxidantes también pueden limitar su uso si se encuentra un inhibidor adecuado. La acroleína reacciona rápidamente con el H_2S y por lo tanto no puede ser apropiada para el uso como biocida en salmueras de alto ácido sulfhídrico. La mejor forma para saber si un biocida será compatible en una situación en particular, es llevar a cabo una prueba de laboratorio sencilla usando el producto propuesto a la dosis esperada en el agua de campo a la temperatura del sistema.

Existen tres tipos generales de tratamientos para los biocidas que se implementan en la localización del sistema, el tipo de producto y el costo del

programa. Estos métodos se denominan: método de lote, el método de pepita y el método continuo de tratamiento con biocida. Cada uno de estos métodos tiene un tiempo y lugar específico en el campo de petróleo dependiendo de varios factores.⁽¹⁵⁾ Por ejemplo, si la infestación está muy localizada, si hay una cantidad considerable de H₂S libre presente, considerando de qué tipo de organismo se trata, si hay otros productos químicos de tratamiento presentes en los fluidos que se tratarán, si existe un punto de inyección conveniente y finalmente si se sabe cuáles son las metas de tratamiento. Estas son solamente algunas situaciones que necesitamos establecer antes de decidir sobre un tipo de tratamiento.

2.5.3 Método de lote.⁽¹⁶⁾ Uno de los tratamientos más conocidos en el campo de petróleo es el método de lote, que se caracteriza por agregar rápidamente una cantidad específica de biocida al sistema, (ya sea por balde o con bomba), periódicamente. Por ejemplo agregar todas las semanas 5 galones de biocida a un tanque de retención o a un pozo productor de 2000 barriles de agua. Dos de las ventajas de este método son la velocidad de aplicación y la especificidad del tratamiento, por lo que la duración de contacto durante el tratamiento del lote se determinará por el tamaño del recipiente o el volúmen de líquido. Se recomienda que el contacto tenga una duración de 2 horas por lo menos para el tratamiento de los lotes, para permitir que penetren los sólidos y las masas de bacterias. La mezcla incompleta del biocida debido a la canalización, a la hidrólisis del biocida, o a un contacto de menos de 2 horas, producirá una eliminación incompleta de las bacterias. Por lo tanto, no se recomienda este tipo de tratamiento de líneas de inyección y de recipientes en inyecciones de agua en donde los biocidas se agreguen en un solo lugar.

2.5.4 Método de Pepitas. Contrastando con los tratamientos de lote, el método de pepitas está diseñado para enviar concentraciones específicas de biocidas corriente abajo, este método es ideal para el pozo de inyección y el tratamiento de superficie desde el mismo punto de inyección. Por ejemplo, la adición de 50 libras de acroleína al lado de succión de una bomba triplex diariamente a intervalos de 4

horas. La pepita de acroleína en este caso dura 4 horas en una concentración precisa que permite el contacto eficaz con capas viscosas y bacterias sésiles.

2.5.5 Método de aplicación continua de biocidas. ⁽¹⁷⁾

Corresponde a tratamientos en los que se agrega continuamente una dosis específica de sustancias químicas al sistema. Aunque estos tratamientos han sido utilizados extensivamente a través de los años para controlar las bacterias en las inyecciones de agua, este tipo de tratamiento es muy caro porque toda el agua debe ser tratada. El tratamiento continuo con biocidas es una buena manera de reducir significativamente la cantidad de bacteria. Por el mismo costo del programa, sin embargo, el método de pepitas es muy superior en la penetración y la eliminación de bacteria sésil que son la causa de la mayoría de los problemas bacteriológicos en los yacimientos de petróleo.

2.5.6 Costo de biocidas. La eficiencia de los tratamientos de biocidas comparados con el costo del glutaraldehído, Isotiazolina, sales cuaternarias de amonio (cloruro de benzalconio) y THPS, se tiene en la tabla I :

Biocida	Costo /Kg.
Glutaraldehído	\$43.65
Isotiazolina	\$32.98
Sales cuaternarias de amonio (cloruro de benzalconio)	\$39.80
THPS	\$96.00

TABLA 1 : Costos de biocidas

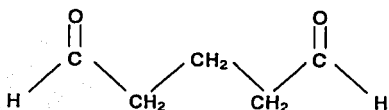
Es aparente que el tratamiento con Isotiazolina genera una disminución en los costos y el tratamiento con THPS nos va a proporcionar un ataque mayor a organismos, pero a un costo mayor. Aquí es necesario la experiencia en el campo

de trabajo para utilizar el mejor biocida y tener el conocimiento de lo que se pretende eliminar

2.6 CARACTERÍSTICAS DE LOS BIOCIDAS

2.6.1 GLUTARALDEHÍDO.⁽¹⁸⁾

1.5 – Pentanodial, Aldehído Glutárico, Glutaral



La compatibilidad química del glutaraldehído en concentraciones usuales es con:

- Sulfato
- Agentes oxidantes
- Agua dura
- Surfactantes catiónicos, aniónicos y no iónicos
- Contaminantes comunes de los aceites y gases

LAS VENTAJAS DEL GLUTARALDEHIDO :

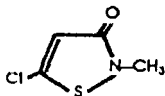
- Inodoro y no corrosivo en concentraciones de uso recomendable
- Biocida rápido y de amplio espectro (contra bacterias aerobios y anaerobios, levaduras y hongos).
- Buena compatibilidad con otros aditivos del sistema
- Compatible con la mayoría de los no oxidantes y oxidantes

- Buen perfil de estabilidad a los varios pHs (larga banda)
- Pruebas de campo para medir la concentración de activos
- Elimina a las bacterias reductoras de sulfatos
- Elimina a las bacterias formadoras de biofilm
- Biodegradable sobre el medio ambiente
- Baja toxicidad oral y percutánea
- Ninguna irritación de piel o dermatitis

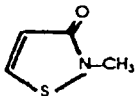
LAS DESVENTAJAS SON MENORES, EN CANTIDAD Y PUEDEN SER:

- De activado por aminos primarios y amonio
- Menor estabilidad en pHs >11
- Olor del concentrado

2.6.2 Isotiazolina.⁽¹⁹⁾



5-CLORO – 2 METIL



3-ISOTIAZOLIDONA

ISOTIAZOLINA:

La Isotiazolina es un agente microbial destacado, estático debido a su extrema rapidez de inhibición de macromoléculas y la muerte celular ocurre después de varias horas de tiempo de contacto, se caracteriza por:

Su efectividad en las torres de enfriamiento.

Ser un excelente medio de control de biofouling, en la industria de sistemas de enfriamiento.

Ser efectivo en rangos de pH básicos y ácidos.

Ser atractivo económicamente, porque a dosis muy bajas se obtienen buenos resultados.

VENTAJAS DE LA IZOTIASOLINA:

Es un biocida de amplio espectro

Efectividad a bajas concentraciones

Muy eficaz contra hongos

Actúa contra el biofilm.

pH amplio

DESVENTAJAS DE LA IZOTIASOLINA:

Extremadamente tóxico

Acción lenta

Manejo y uso difíciles

Contiene sales de Magnesio y Cobre

No actúa sobre las Bacterias Reductoras de Sulfatos

Corrosivo

Causa daño irreversible en ojos

Causa quemaduras en piel (estos efectos pueden ser retardados por horas)

Puede causar reacciones alérgicas en piel

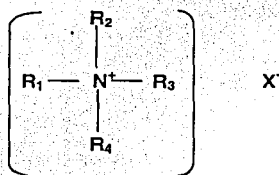
Causa daño si se inhala

Es dañino si es absorbido continuamente por piel

Puede ser fatal si se expone por largos períodos

2.6.3 SALES CUATERNARIAS DE AMONIO ⁽²⁰⁾

Las sales cuaternarias de amonio tienen una gran actividad sobre grampositivos y vibriones. La concentración bactericidas son muy parecidas a las concentraciones bacteriostática (en relación 1:4). Es preciso señalar, además, que estas sustancias son totalmente incompatibles con los cuerpos aniónicos con los que forman complejos de peso molecular elevado. Por otra parte, su actividad sobre las esporas bacterianas es muy moderada o nula.



La primera vez que mencionó la actividad bactericida de las sales cuaternarias de amonio fue en los trabajos de Jacobs realizados en 1916. Las observaciones hechas por Jacobs pasaron inadvertidas durante casi veinte años hasta que en 1945 Domagk⁽²¹⁾ demostró sus propiedades antisépticas. Domagk demostró que dicha actividad se manifestaba cuando por lo menos uno de los sustituyentes R estaba constituido por una cadena hidrocarbonada alifática de ocho a doce átomos de carbono.

A partir de entonces se inició una serie de innumerables investigaciones hasta que primero en Alemania y luego en Estados Unidos. G Breña y Suiza se llegó a la síntesis de numerosas sales cuaternarias de amonio, todas ellas antisépticas.⁽²²⁾ Entre los compuestos de esta serie sintetizados por ellos, destacan las propiedades del cloruro de N-alquildimetilbencilamonio, conocido como cloruro de benzalconio,⁽²³⁾ actuando principalmente contra bacterias.

El modo de acción de un biocida es destruyendo la membrana celular,

causando un rápido y severo daño a la célula provocando su muerte. En la fotografía IV y V se muestran las imágenes antes y después de la aplicación del biocida (24).

ANTES DE APLICAR BIOCIDA



Fotografía IV.- Imagen antes de aplicar biocida.

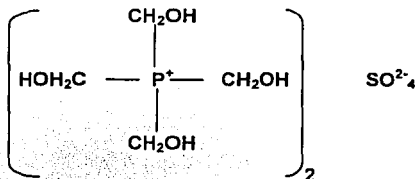
TECIS CON
FALLA DE ORIGEN

DESPUÉS DE APLICAR BIOCIDA



Fotografía V.- Imagen después de aplicar biocida

2.6.4 SULFATO DE TETRAHIDROXIMETILFOSFONIO (THPS)



Este biocida tiene muchas ventajas en la industria de los biocidas, por su actividad contra los microorganismos, ya que es un biocida de amplio espectro y particularmente tiene mucha efectividad contra las Bacterias Reductoras de Sulfatos (SRB) y contra en sistemas de torres de enfriamiento.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Dentro de la industria de los biocidas el THPS es benigno al medio ambiente, rápidamente degradable y no produce compuestos tóxicos. Al aplicarse el THPS la presencia de biodispersantes o penetrantes (Dimethylamidas) puede ayudar a la penetración en el biofilm.⁽²⁵⁾

Este biocida tiene efecto sobre el metabolismo de las bacterias reductoras de sulfatos, *Desulfovibrio desulphuricans* y *Desulfovibrio vulgaris*.⁽²⁶⁾ La formación de ácido sulfhídrico esta fuertemente relacionada con el crecimiento de la SRB y el efecto del THPS sobre el metabolismo de esta bacteria.

El biocida THPS fue probado contra las algas verdes y azul-verde, obteniendo un extraordinario resultado. Se ha podido demostrar que existen biofilms donde se desarrollan más ampliamente las algas (verdes y azul-verde) o de los 2 tipos. Las condiciones optimas de crecimiento son: Temperatura 30-35 C° y pH 5.5-8.9 .Leadbeater & Callow, 1992.⁽²⁷⁾ Por lo tanto las torres de enfriamiento son un excelente hábitat para la colonización, desarrollo y crecimiento de un biofilm de algas. (Boletín técnico 170)

El biofouling se clasifica en 2 formas:

- 1.- Microorganismos fijos (adheridos a la superficie del metal)
- 2.- Plankton (microorganismos libres en el medio acuático)

Algunas especies de algas azul-verdes (*Nostocman* y *Anabaena cilíndrica*) pueden liberar nitrógeno y ésto puede incrementar el deterioro de los inhibidores de corrosión dentro de un sistema de enfriamiento (Drew, 1997).⁽²⁸⁾ El THPS fue probado contra estos biofouling, encontrándose que la concentración requerida para inhibir a estos microorganismos, después de 24 hrs fue en un rango de 100 ppm, dependiendo del microorganismo.

Para determinar la eficiencia del THPS contra las algas azul-verdes se aplicó el biocida en diferentes tiempos y concentraciones, demostrándose ser más susceptible al biocida, la especie azul- verde que la especie verde.⁽²⁹⁾ Por lo tanto podemos establecer que el THPS es un biocida que demuestra ser

PARTE EXPERIMENTAL

muy efectivo contra especies de algas comúnmente asociadas con las torres de enfriamiento.

3.0 PARTE EXPERIMENTAL

La parte experimental de esta memoria de desempeño profesional se llevó a cabo en el Instituto Mexicano del Petróleo en el laboratorio de inhibidores de corrosión durante 18 meses desempeñando el puesto de laboratorista.

3.1 La estructura organizacional del laboratorio se observa en el diagrama 2:

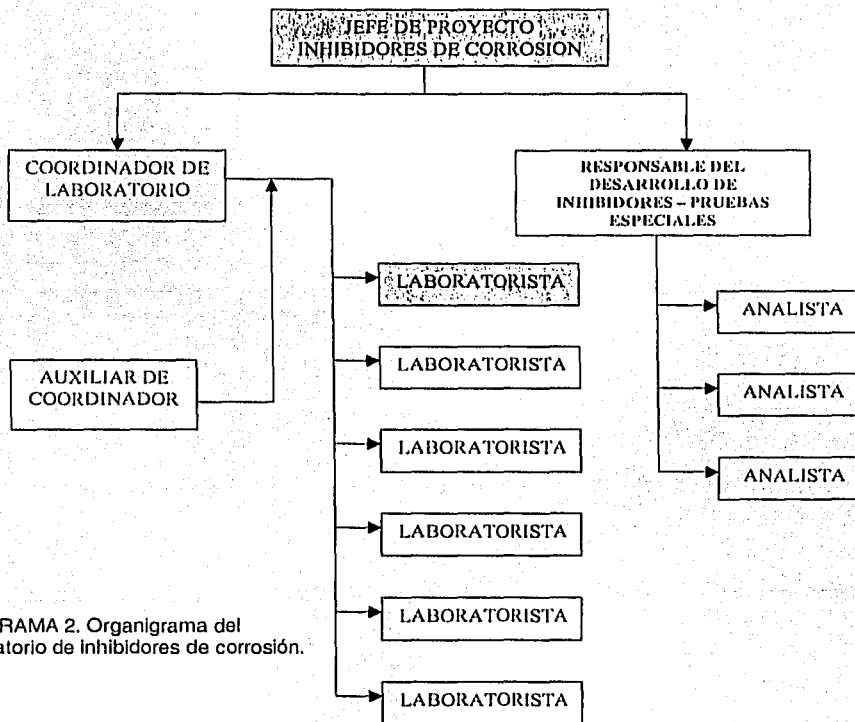


DIAGRAMA 2. Organigrama del laboratorio de inhibidores de corrosión.

3.2 MATERIAL: ⁽³⁰⁾

- Cámara de Esterilidad.
- 2 Gradillas y marcador.
- 10 tubos de ensayo de 10 ml con tapón de hule
- 6 Matraces Erlenmeyer de 250 ml
- 3 Matraces Erlenmeyer de 1 lt.
- 50 Tubos de ensayo de 10 ml.
- Pipetas Automáticas.
- Puntas de pipeta de polipropileno estériles.
- 50 Cajas de Petri estériles.
- Muestra o Cultivo Microbiano.
- Parrilla Eléctrica.
- Cámara de Incubación a 36°C

SOLUCIONES

- Solución salina al 85 %
- Medio de cultivo líquido.
- Medio de cultivo sólido.

3.3 METODO: ⁽³¹⁾

I. PREPARACION DE DILUCIONES.

- En condiciones estériles colocar en cada uno de los tubos estériles 9 ml de diluyente (Solución Salina al 85%), colocarlos en una gradilla y etiquetarlos.
- Lavar con 5 ml de diluyente el inoculo.
- Introducir la pipeta a 1 cm de profundidad, tomar 3 ml del lavado.
- Descargar el contenido en el Matraz Erlenmeyer con 50 ml de diluyente.
- Tapar el Matraz Erlenmeyer y agitarlo mediante movimientos circulares.
- Marcar con números del 1 al 5 los Matraces Erlenmeyer de 250 ml con medio de cultivo.
- Con una pipeta automática y con puntas de polipropileno agregar 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm y 300 ppm de biocida a cada uno de los matraces con los números 1, 2, 3, 4 y 5.
- Del matraz número uno tomar 1 ml y transferirlo al primer tubo (dilución 1) eliminar la punta de la pipeta.
- Agitar vigorosamente el tubo. Con la pipeta y una nueva punta tomar 1 ml del tubo anterior (1) y agregarlo al tubo No. 2 (dilución No. 2), así sucesivamente hasta llegar a la dilución 5.
- Agitar vigorosamente (agitador eléctrico).

VACIADO EN PLACA DE INOCULACIÓN: ⁽³²⁾

El medio de cultivo deberá tener una temperatura aproximada de 45 a 50 grados centígrados hasta el momento de su uso.

- Con una pipeta automática y una punta de polipropileno tomar 1 ml de solución del tubo No. 2 e inocular 2 cajas de Petri estériles.
- Utilizando el mismo procedimiento en los tubos 3 y 4. Etiquetar 50 ppm.
- Este procedimiento se realiza en cada concentración de biocida y cada hora.

- En condiciones estériles añadir a cada una de las cajas inoculadas de 15 a 20 ml. Del medio de cultivo previamente derretido y mantenerlo a una temperatura de aproximadamente 40 a 50 grados centígrados.
- Colocar las cajas en la superficie de la mesa y moverlos suavemente en forma circular, repetir el movimiento en ambos sentidos a delante y atrás y finalmente en sentido lateral.
- Dejar de solidificar el medio invertir las cajas e Inocular a 36 grados por 48 hrs.
- Después de la inoculación cuantificar las placas con la tapa hacia abajo marcando las colonias con un plumón.

3.4 METODOLOGIA:

Una forma de predecir el comportamiento de los biocidas en campo, son las pruebas en el laboratorio para esto se utilizaron medios de cultivo sólidos o placas útiles para el crecimiento de la bacteria en una muestra de agua. Para la cuantificación de bacterias se utilizó el método de dilución en serie, que utiliza medios convencionales de líquido; es decir, se añade 1ml de agua de campo a 9ml. de solución salina al 85% (tubo No. 1). Después se agita y se toma 1ml de esta disolución y se pone en un segundo tubo de ensayo y se continúa así hasta que se hayan inoculado 5 tubos. Y con un inóculo de bacterias aisladas de un sistema de agua de inyección y sembradas en medio de cultivo sólido son incubadas a 36°C durante 48 hrs. Estas bacterias son aerobias y actualmente no se han identificado como especie, sin embargo a los géneros a los que pertenecen son: vibrio, alteromonas, ferrimonas y dicotum microbium, el crecimiento máximo se obtiene en 10 días, después de este tiempo se somete a un lavado utilizando 5ml de solución salina estéril al 85% y movimientos circulares, se toman 3ml de ésta y la llevamos a un Matraz Erlenmeyer conteniendo 50ml de solución salina estéril. Tomar 5ml de la solución A agregarla a cada uno de los matraces que contienen previamente 150ml de medio de cultivo, incluyendo al testigo, los matraces se etiquetan con la leyenda 50ppm, 100ppm, 200ppm, 300ppm y testigo.

Se inicia el método de dilución en serie en cada una de las concentraciones de biocida, obteniendo 5 diluciones de las cuales se utilizaran 2, 3 y 4 para la

siembra de microorganismos, por duplicado y en cajas de Petri estériles con un ml de muestra y de 15 a 20 mm^l de medio de cultivo, utilizando la técnica de vaciado.

Estas primeras siembras se realizan con la finalidad de saber la cantidad inicial que se llenen de microorganismos antes de aplicar biocida.

Después de 1 hr se dosifican 50ppm, 100ppm, 200ppm y 300ppm de biocida en los matraces 1, 2, 3 y 4 respectivamente, no incluyendo al testigo. En este momento realizamos la primera siembra en cada una de las concentraciones de la misma manera se sembrará cada hora durante 5 hrs. Ver diagrama de flujo No. 3 y No. 4. Terminadas las siembras se llevará a cabo la incubación a 36°C / 48 hrs., para permitir el crecimiento y cuantificar las bacterias.

- Respetar el Procedimiento hasta llegar a la dilución 4.
- El Tubo 5 será nuestro testigo.
- La evaluación se realiza por duplicado, en cada dilución (aproximadamente de 50 a 60 repeticiones)
- Cada evaluación se realiza aproximadamente en 8 días.
- Un biocida se evalúa en diferentes puntos del sistema.
- Los 4 biocidas (glutaraldehído, Sales Cuaternarias de Amonio, Isotiazolina y THPS) se evaluarán en un período de 8 meses.

3.5 DIAGRAMA 3:

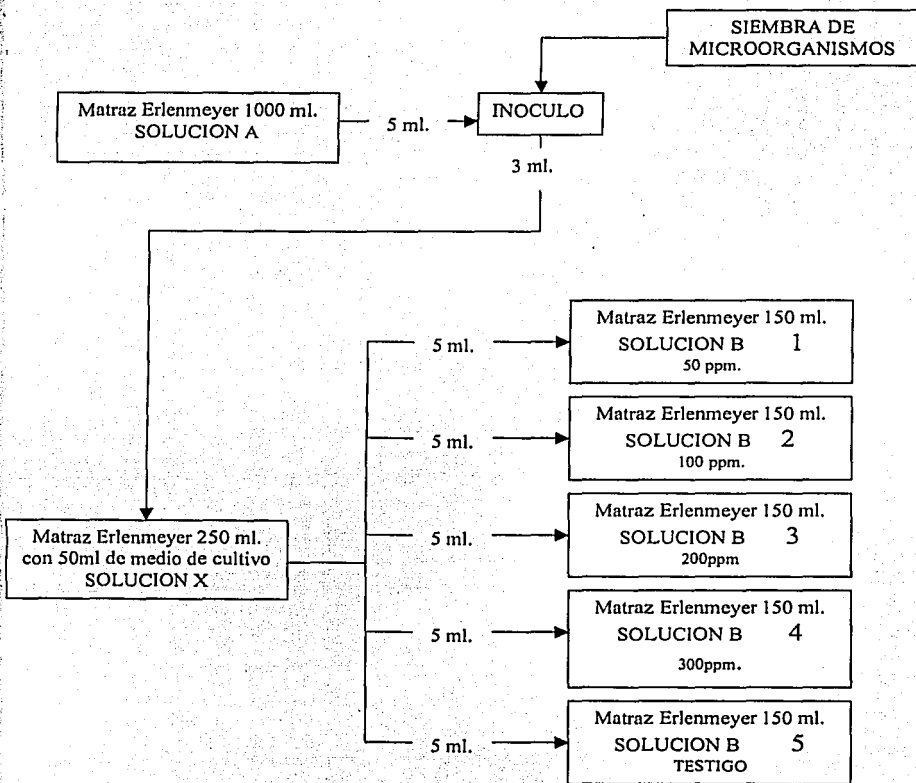


DIAGRAMA 3. Diagrama de flujo de evaluación de biocidas.

NOTA: En los matraces 1,2,3,4 y 5 aplicar técnica de dilución (Diagrama 4)

DIAGRAMA 4:

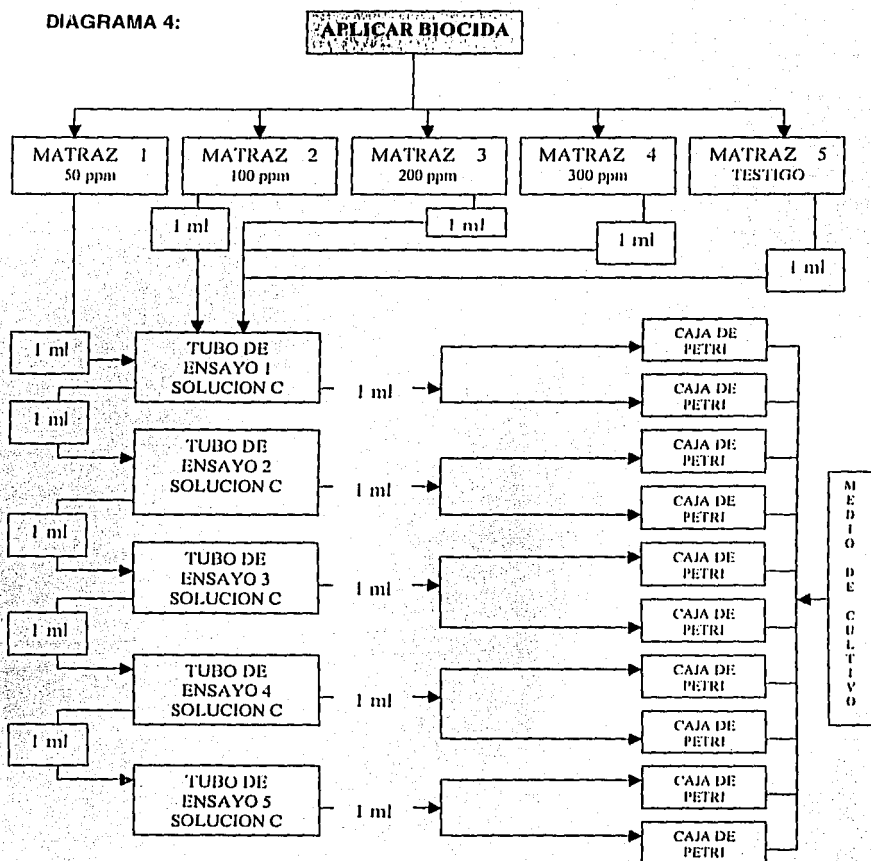


DIAGRAMA 4: Diagrama de flujo de evaluación de biocidas.

Solución A: solución salina estéril al 85%.

Solución B: 150ml de medio de cultivo líquido.

Solución C: 9 ml de solución salina al 85%.

4.0 RESULTADOS.

4.1 TABLAS DE RESULTADOS (CELULAS /ml)

TABLA DE RESULTADOS

Glutaraldehído (hrs.)	Testigo	100 ppm	200 ppm	300ppm
t ₀	282 244 198	320 300 210	420 310 140	390 302 190
t ₁	298 220 252	380 310 200	234 198 58	202 108 72
t ₂	368 288 190	390 280 140	218 150 18	110 84 12
t ₃	504 298 202	330 200 30	198 90 18	40 50 10
t ₄	928 378 314	152 90 18	54 4 8	30 20 8
t ₅	1180 490 370	98 58 10	25 4 4	22 10 6

Tabla 1.- Resultados del Glutaraldehído (células/ml)

TABLA DE RESULTADOS

Isotiazolina(hrs.)	Testigo	100 ppm	200 ppm	300 ppm
t ₀	282 244 196	520 208 84	360 128 50	400 320 102
t ₁	298 220 252	380 272 12	200 110 30	190 100 20
t ₂	368 288 190	500 416 48	108 80 8	80 40 10
t ₃	604 298 202	368 260 10	100 78 8	10 8 0
t ₄	928 376 314	246 196 10	16 20 6	8 8 0
t ₅	1180 490 370	180 150 8	60 22 6	0 0 0

Tabla 2. Resultados de Izotiazolina (células/ml)

TABLA DE RESULTADOS

Sales Cuaternarias (hrs.)	Testigo	100 ppm	200 ppm	300 ppm
10	308 188 156	410 370 130	360 190 100	268 248 90
11	690 458 160	580 362 120	340 156 60	160 102 15
12	732 478 150	190 160 50	156 25 20	126 28 12
13	946 602 158	116 112 30	132 23 11	100 12 4
14	1165 790 242	110 100 20	35 11 3	58 1 1
	1310 870 410	28 8 0	8 1 0	0 0 0

Tabla 3.- Resultados de Sales Cuaternarias (células/ml)

TABLA DE RESULTADOS

THPS (Hrs.)	Testigo	100 ppm	200 ppm	300 ppm
t ₀	368 188 156	580 300 120	480 130 80	220 190 56
t ₁	690 456 160	290 100 70	120 82 16	80 42 8
t ₂	732 478 150	140 68 12	88 53 4	25 23 1
t ₃	946 602 158	60 60 12	29 28 2	18 12 1
t ₄	1165 790 224	40 30 8	36 33 3	12 8 0
t ₅	1310 870 410	25 40 5	32 7 4	0 0 0

Tabla 4.- Resultados de THPS (células/ml)

4.2. TABLAS DE EFICIENCIA

Glutaraldehído	(%)100 ppm	(%)200 ppm	(%)300 ppm
t ₁	47	75	64
t ₂	64	91	89
t ₃	90	90	75
t ₄	89	85	73
t ₅	89	84	72

Tabla 1a.- Eficiencia del Glutaraldehído.

TABLA DE EFICIENCIA

Isotiazolína(hrs.)	(%)100 ppm	(%)200 ppm	(%)300 ppm
t ₁	96	85	89
t ₂	90	92	87
t ₃	97	92	100
t ₄	95	92	100
t ₅	95	90	100

Tabla 2a.- Eficiencia de Isotiazolína.

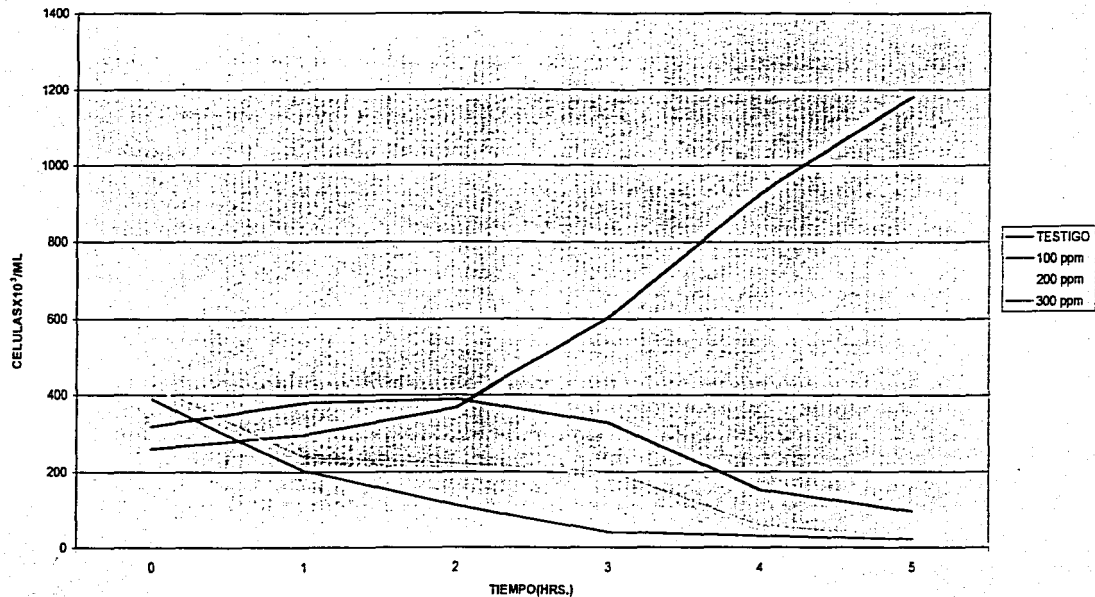
Sales Cuaternarias hrs.	(%)100 ppm	(%)200 ppm	(%)300 ppm
t ₁	79	82	91
t ₂	73	87	90
t ₃	74	91	96
t ₄	81	91	98
t ₅	100	100	100

Tabla 3a.- Eficiencia de Sales Cuaternarias.

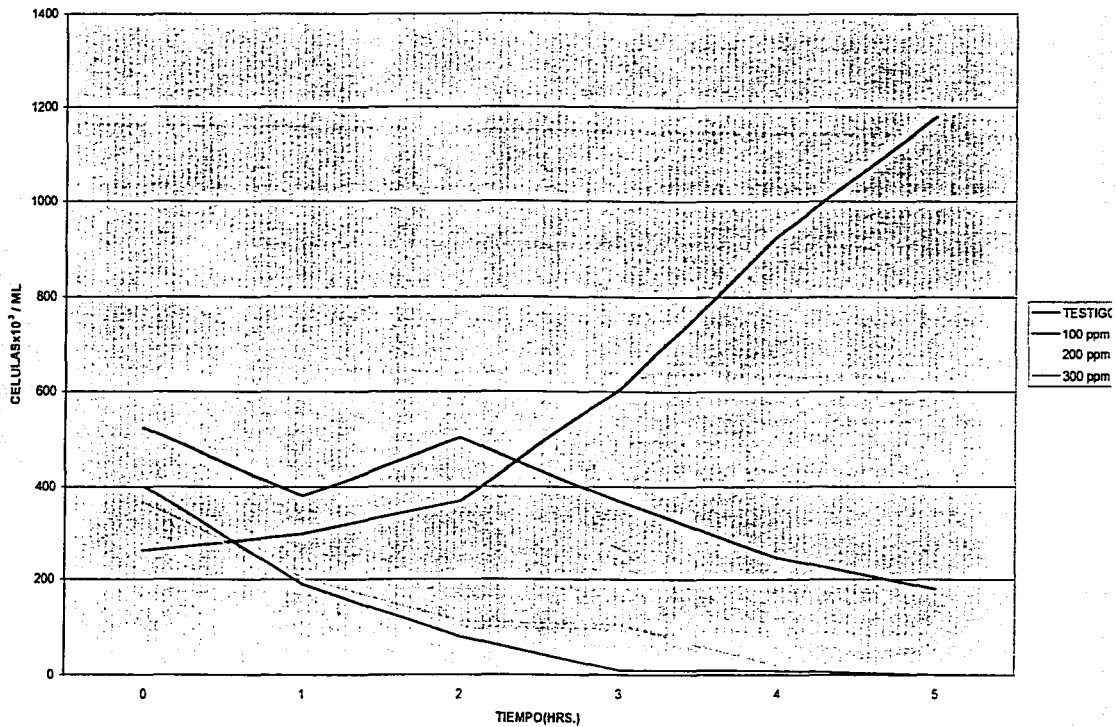
THPS (Hrs.)	(%)100 ppm	(%)200 ppm	(%)300 ppm
t ₁	75	86	90
t ₂	91	95	96
t ₃	80	93	94
t ₄	80	91	100
t ₅	80	87	100

Tabla 4a.- Eficiencia de THPS.

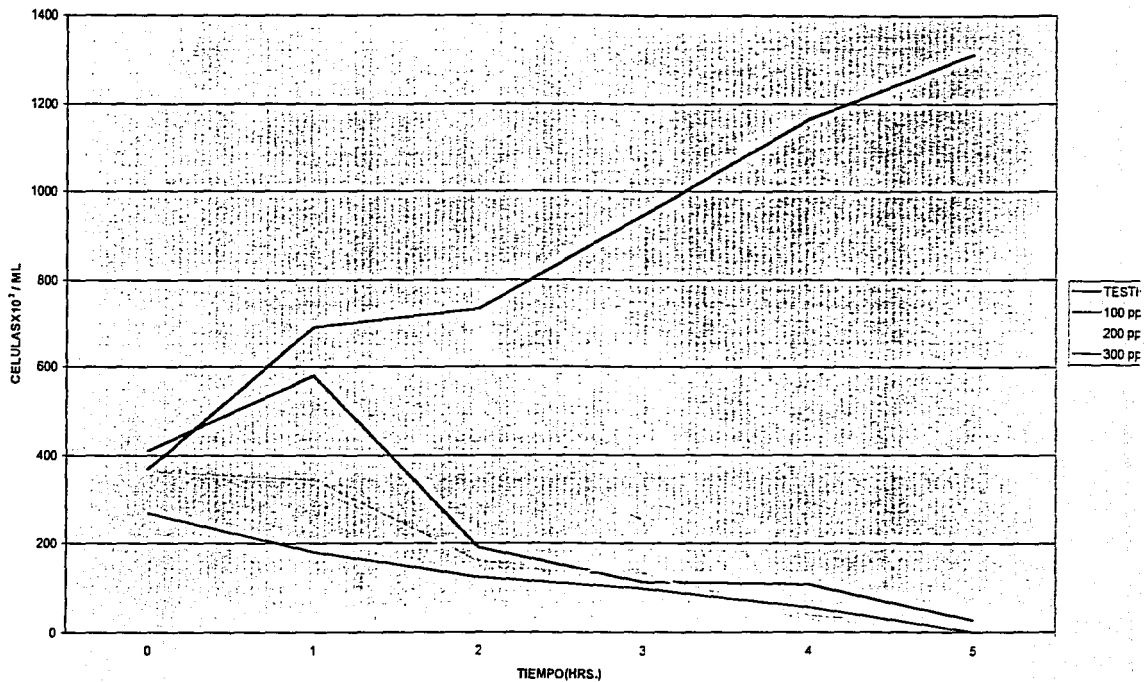
4.3 GRAFICAS DEL COMPORTAMIENTO DE BIOCIDAS



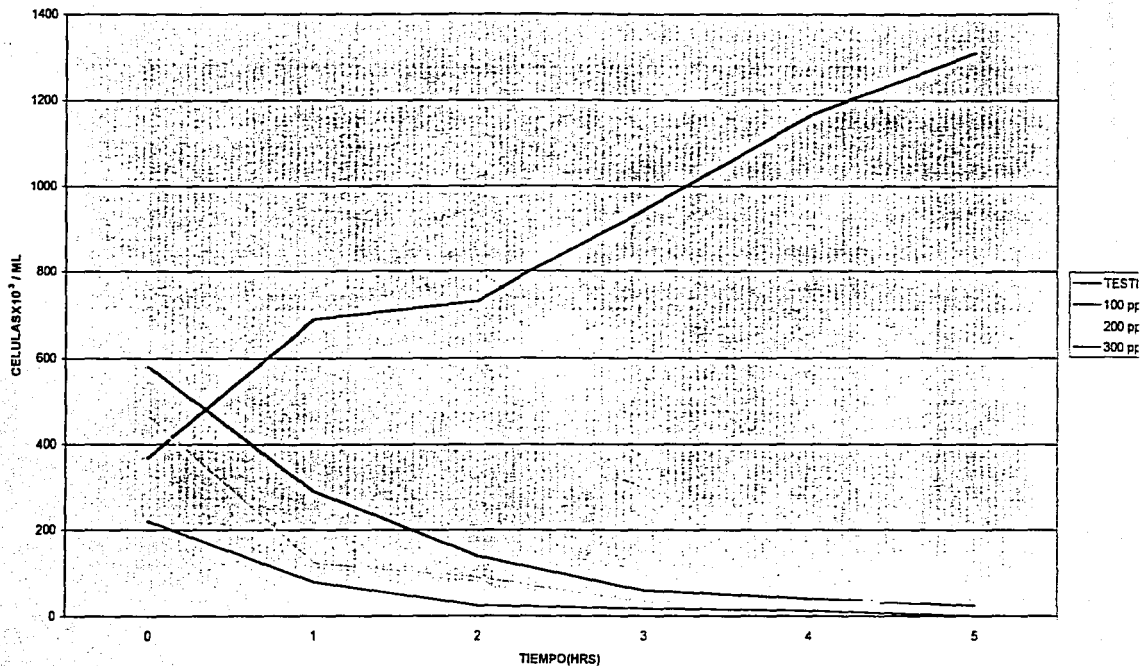
Grafica 1-C Análisis de la concentración de glutaraldehído.



Gráfica 2-C Análisis de la concentración de Isotiazolina.

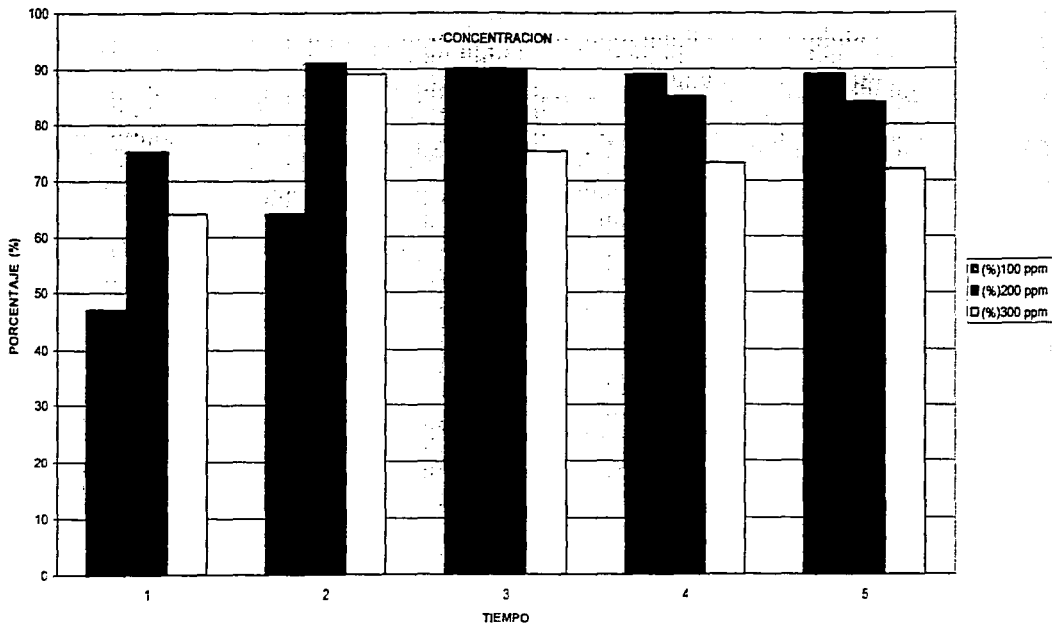


Gráfica 3-C Análisis de la concentración de Sales Cuaternarias.

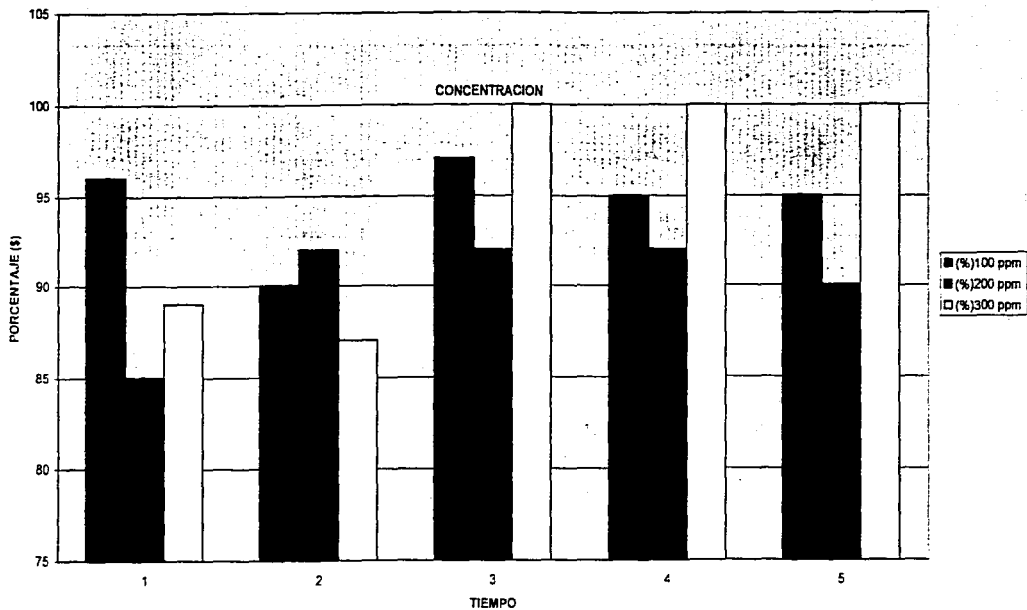


Gráfica 4-C Análisis de la concentración de THPS.

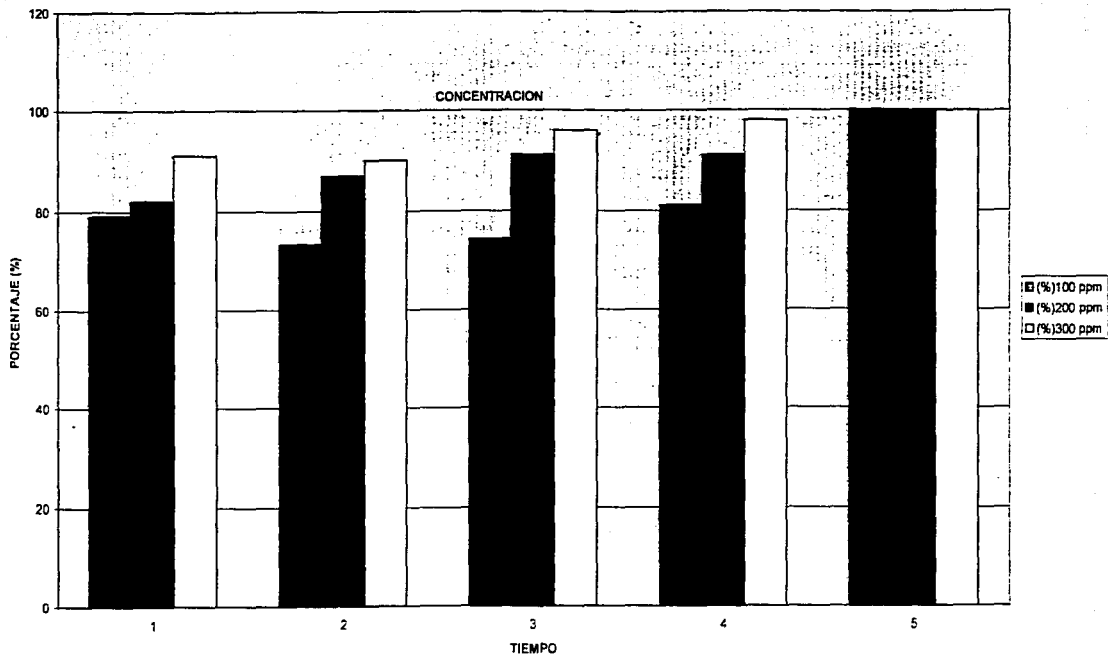
4.4 GRAFICAS DE EFICIENCIA DE BIOCIDAS



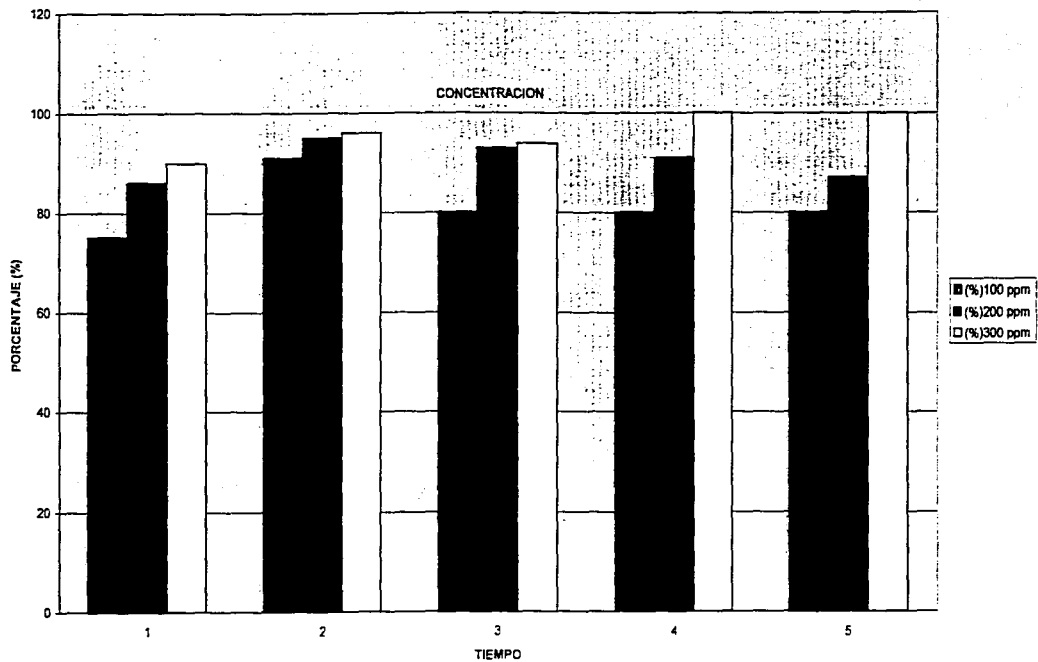
Grafica 1b.- Eficiencia de Glutaraldehido.



Grafica 2b.- Eficiencia de Isotiazolina.



Grafica 3b.- Eficiencia de Sales Cuaternarias.



Grafica 4b.- Eficiencia de THPS.

Los resultados se muestran en las tablas 1,2,3,4, 1a, 2a, 3a y 4a, donde podemos evaluar ampliamente al biocida y mostrar la concentración de mayor eficiencia. En la tabla 1, se muestra que el glutaraldehído a 100ppm y después de 1 y 2 hrs la cuantificación es mayor a la inicial, lo que nos hace pensar en una adaptación de la bacteria a nuestro biocida. Posteriormente observamos una reducción microbiana, sin embargo no es confiable a una concentración de 200ppm/2hrs la disminución de bacterias fue mayor. A 300ppm fue razonablemente mayor. Lo anterior lo mostramos en la tabla 1-a de eficiencia donde se observa que el glutaraldehído tiene una eficiencia mayor a una concentración de 200ppm/2hrs, ampliamente visible en la grafica 1-b.

Después de esta parte experimental se logró llegar a los resultados que a continuación se presentan en tablas y gráficas donde se cuantificaron los microorganismos desde la siembra inicial (t_0) y con lecturas cada hora hasta incubarlos por 5 Hrs. (t_5) Después de obtener los resultados, es sumamente importante en qué tiempo y concentración se pueden lograr los resultados mas óptimos, formando una tabla de eficiencia de la siguiente manera:

$$\frac{\text{CONCENTRACIÓN INICIAL} - \text{CONCENTRACION FINAL}}{\text{CONCENTRACION INICIAL}} \times 100$$

De esta forma logramos utilizar la concentración de biocida y el tiempo de contacto mas eficiente para disminuir considerablemente la cantidad de microorganismos. Ver tablas 4.2.

En la tabla 2 observamos que el biocida Isotiazolina tiene una inhibición total a 300ppm/3hrs; pero es una concentración alta por mucho tiempo, por lo tanto, debemos recurrir a una concentración y tiempos menores. En la concentración de 100ppm se puede detectar una disminución y posteriormente una multiplicación de microorganismos comprobando de esta forma una

adaptación crecimiento y muerte de bacterias. De lo anterior se deduce la confiabilidad de una concentración de Isotiazolina de 100ppm/3hrs (tabla 2-a). Lo anterior se comprueba en la gráfica 2-b.

Para las sales cuaternarias de amonio (cloruro de benzalconio) tabla 3, observamos el mismo fenómeno de adaptación anterior a una concentración de 100ppm; sin embargo podemos decir que la concentración mas eficaz es a 300ppm/1hr con una eficiencia de 91%, indicada en la tabla 3-a y demostrada en la gráfica de barras 3-b.

Para el biocida THPS observamos la tabla de resultados 4, donde la reducción de microorganismos se obtuvo claramente en un tiempo de 2hrs en todas las concentraciones; por lo tanto, debemos utilizar una concentración de 100ppm/2hrs con una eficiencia de 91% demostrado en la tabla de eficiencia 4-a y en la gráfica de barras 4-b.

Las tablas de resultados 1,2,3 y 4 se representan en las gráficas 1-C,2-C,3-C y 4-C donde observamos la cantidad mínima de células / ml en un tiempo determinado.

La menor cantidad de bacterias / ml se obtuvieron en las siguientes concentraciones y tiempos:

- Glutaraldehído.....200ppm/2hrs
- Izotiasolina.....100ppm/3hrs
- Sales Cuaternarias de Amonio.....300ppm/1hr
- THPS.....100ppm/2hrs

4.5 El análisis comparativo de dos diferentes biocidas se resume en la tabla 5.

ANÁLISIS DE LOS BIOCIDAS

	GLUTARALDEHIDO	IZOTIAZOLINA	SALES CUATERNARIAS DE AMONIO	THPS
Concentración óptima	200 ppm/2hrs	100 ppm/3hrs.	300 ppm/1hr	100 ppm/2hr
Eficiencia (BRS)	Regular	Regular	Alta	Alta
pH	>Muerte> pH	Amplio	Amplio	>Muerte> pH
Estabilidad	pH bajos	pH bajos	pH bajos	pH bajos
Toxicidad Humana	Tóxico	Muy tóxico	Tóxico	Muy tóxico
Toxicidad acuática	Menos tóxico a plantas y aves	Tóxico para peces	Menos tóxico para peces y plantas	Menos tóxico para peces
Toxicidad ambiental	Rápida degradación	Lenta degradación	Rápida degradación	Rápida degradación
Elimina microorganismos	Bacterias hongos y levaduras	Hongos	Bacterias	Algas
COSTOS	\$43.65	\$32.98	\$39.80	\$96.00

TABLA 5.- ANÁLISIS COMPARATIVO DE BIOCIDAS

En donde podemos mencionar lo siguiente:

Por la concentración de biocida su eficiencia, pH y menor toxicidad el mejor será el THPS; ya que a menos concentración y poco tiempo la cantidad de microorganismos disminuye considerablemente, su eficiencia es muy alta, a mayor pH mayor muerte de microorganismos, menos toxico para peces, rápida degradación y es muy soluble en agua.

DISCUSIÓN

5.0 DISCUSIÓN

Una vez analizados los resultados podemos establecer que la cuantificación de los microorganismos tratados fueron aumentando constantemente durante una hora, después de comenzar el tratamiento se obtuvieron en cada muestra analizadas reducciones significativas de bacterias. Sin embargo, al analizar las gráficas observamos que las bacterias tratadas con los biocidas glutaraldehído e Isotiazolina la dosis de 100PPM permite a la bacteria tener la capacidad de adaptarse y evolucionar a un ambiente variable. Por lo tanto, utilizando muy poco biocida podría resultar un aumento rápido e inesperado de bacteria que empeorara gradualmente al evolucionar la población. La única alternativa en esta etapa del tratamiento es aumentar la dosis o la frecuencia, o ambos, de los biocidas. Se puede observar que a la concentración de 200ppm en 2 horas tendríamos una reducción considerable de bacterias y a 300ppm a un mayor. Ahora el comportamiento como biocida de las sales cuaternarias de amonio y THPS se detectan desde una concentración de 100ppm, aumentando considerablemente a 300ppm.

La capacidad de penetración del biocida podrá contribuir a la resistencia del Biofilm principalmente al Glutaraldehído, en sistemas en donde el espesor es mayor los biocidas podrán penetrar fácilmente. De lo contrario podría unirse una concentración mayor de biocida o un penetrante (Dematel- Amida) el cual forma una película en la superficie de metal limpiándola e impidiendo el desarrollo de la bacteria sessile. Pero es importante considerar que los penetrantes no inhiben la acción bacteriana solo permiten la penetración de los biocidas y cuando ésta se lleva a cabo totalmente, la acción de matar se acelera notablemente. Se puede eliminar el Biofilm con dosis bajas por tiempos muy prolongados pero se tendrá que tomar en cuenta el espesor de ese Biofilm es decir que a mayor espesor menor efectividad de los biocidas.

El seleccionar el "mejor" biocida para un sistema específico es una tarea difícil. Además de los análisis para determinar costo / efectividad, la experiencia ganada en el campo de trabajo es sumamente determinante para seleccionar el mejor producto. Durante muchos años han usado inapropiadamente biocidas que eran potencialmente muy eficaces, algunos biocidas son más potentes a una concentración determinada que otros pero todos los productos son efectivos en condiciones particulares. Aunque las pruebas en el campo en última instancia nos dice todo, las pruebas de evaluación de biocidas pueden ser una guía preliminar para seleccionar el producto.

Finalmente se establece que el tratamiento exitoso para eliminar microorganismos en las inyecciones de agua y almacenamiento, no sólo dependen de la elección del biocida; sino que tendría que hacerse un estudio mas completo del sistema tomando en cuenta un análisis físico y químico de las aguas, se debe llevar a cabo un análisis en todos los puntos de muestreo posibles, situación que en el campo del trabajo no se hace. Una vez que se hayan realizado todas las pruebas microbiológicas, químicas y físicas se debería de efectuar una prueba de extinción en los puntos de mayor problema.

Habiendo establecido cual biocida es mas eficaz en un sistema, es importante seleccionar el punto para la aplicación éste; generalmente será antes del área del problema y en la mayoría de los casos a principios del sistema; sin perder de vista la adaptación de la bacteria al producto químico. Es conveniente requerir dos o mas puntos de aplicación.

Una vez que se inició la aplicación del biocida, es importante monitorear el sistema cuidadosamente para determinar si el biocida aún es eficaz, debe cambiarse, debe aplicarse en un punto distinto, debe aumentar el tiempo y debe aumentar la concentración.

Lo anterior asegurará que se logre un buen control bacterial en muchos años. Actualmente la experiencia en el campo es determinante, las pruebas de

evaluación de biocidas pueden ser una guía para preeliminar para seleccionar el producto.

CONCLUSIONES

6.0 CONCLUSIONES

No debemos olvidar que además de eliminar la bacteria, el producto seleccionado debe ser estable, fácil de manipular y debe usarse en concentraciones sanas. Se debe seleccionar un programa que equilibre los requisitos del sistema con lo que sabemos funcionará realmente en el futuro. La experiencia establece que "es preferible un programa intensivo de biocidas a uno continuo a bajas concentraciones". Es difícil determinar la duración y frecuencia de contacto antes de utilizar los biocidas, aunque se recomienda una dosis de biocidas de no menos de dos horas por tratamiento. El costo del producto no es un buen criterio ciertamente a menos que se tome en cuenta también su eficacia. Un producto más caro podría ser más eficaz y más barato para usar que un producto barato.

GLOSARIO

7.0 G L O S A R I O

1. **BACTERIA SESIL :** Bacterias fijas adheridas a la superficie metálica.
2. **BIOCIDA:** Sustancia química con actividad antimicrobiana.
3. **BIOFILM:** Capa de microorganismos que se desarrolla en la superficie metálica.
4. **BIOFOULING:** Suciedad o sustancia de desecho producida por microorganismos.
5. **FOSO:** Tanques de retención.
6. **BPA:** Bacteria Productora de Ácido.
7. **MIC:** Influencia de Corrosión Microbiológica.
8. **MICROBIOCIDAS:** Sustancia química capaz de eliminar microorganismos.
9. **PLANKTON:** Microorganismos libres en el medio acuático.
10. **SRB:** Bacteria Reductora de Sulfato.
11. **AGUA PRODUCIDA:** Agua que se produce junto con el petróleo.

BIBLIOGRAFÍA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

8.0 BIBLIOGRAFIA

- (1) *The American Petroleum Institute (API) 1926-1941*
- (2) *The National Association of Corrosion Engineers (NACE)*
1981.P. 89-93.
- (3) *W. Lee, W. G. Characklis, Corrosion 49 (1993) P.186-198.*
- (4) *Corrosion /97 No. 210 (Houston, Tx. NACE International, 1997).*
P. 8,9 y 11
- (5) *Corrosion 2000.- 00402*
Microbiologically Influenced Corrosion in the twentieth Century and
Where Do we go from here. P.23-25.
- (6) *Draft Technical NTP Report prepared at the request of OSHA, NCL.*
18 1983 P. 18-21.
- (7) *Same as a boves, <http://ntp-server-niehs.nih.gov/htdocs/lt-studies/296.htm>. 1980 P. 79*
- (8) *R. W. Lutey, V.M. King, and M. Z. Cleghorn, "Mechanism of Action of*
Dimethylamides as a biodispersant/penetrant in Cooling Water Systems
"- Proceedings International Water Conference, Pittsburgh, PA, October 23,
1989.
- (9) *J. W. Costerton and E. S. Lasher, "Influence of Biofilm on the Efficacy of*
Biocides on Corrosion causing Bacteria". Materials Performance, 23, 2
(1984).
- (10) *Jones, M. V., et al., Letts. Appl. Microbiol., 12, 254 (1991). P. 17 Y 18.*
- (11) *Kramer, J.F., Proc. 8th Internat. Symp. Biodeter. And Biodeg., Windsor, 1991.*
P. 87 - 92.
- (12) *Gilbert, P.D. and Herbert, B.N. Industrial Microbiological Testing,*
Blackwell Scientific, London, 1987., p. 79
- (13) *Dunne, W.M., Jr., Antimicrob. Agents & Chemother., 34, 390 (1990).*
- (14) *BOLETÍN TÉCNICO 390: BIOCIDES. Test Methods Interpretation of*
MicroBiological Kill Data. 1980.

- (15) *BOLETIN TECNICO 170: BIOCIDES. Control and elimination of biofilms. 1978.*
- (16) *Corrosion 2000.- 00390*
Assessment and Control of MIC in the oil industry in the 20th. Century. P.4,6 Y 7.
- (17) *Paulo C. Porta Nova. BIOCIDES Lab. Mgr.*
Unión Carbide Latinoamericana y Sur África. 1975.
- (18) *Petroquímica Pajaritos S.A. de C.V.*
"Objetivo del Control Químico y Microbiológico
de los Sistemas Abiertos de Agua de Enfriamiento" Marzo 16 de 2001
- (19) *KATON NT MICROBIOCIDE*
Rohm and Haas Company 1986. ps. 3,4,7,9,13,19,23,24y25.
- (20) *CLORUROS DE BENZALCONIO*
CAS No. 8001-54-5. P. 3-5
- (21) *Biologically Induced Corrosion. Proceeding of the International Conference on Biologically Induced Corrosion. June 10-2, 1985. P. 89-91.*
- (22) *NACE International. The Corrosion Society Lalincorr 1998. S19-05*
Use of Portable Monitoring Units to Assess Microbial Activity, Corrosion and Souring in Water. Handling and Injection Systems. P.102-106.21
- (23) *BOLETIN TECNICO CB's. OSSAMONIOS – CB's. 1981. P.18-20.*
- (24) *Albright & Wilson. Biocides*
THPSBiocides for Industry. 1975.
- (25) *MECHANISM OF ATTRACTION OF*
DIOMETHYLAMIDES AS A PENETRANT/DISPERSANT.
Richard W. Lutey, Ph. D. Vanja M. King, Ph. D. Maryan Z Cleg.
1978. P. 89-92.
- (26) *BOLETIN TECNICO 180: BIOCIDES. Performance of THPS against Planktonic an sessile algal species. 1981. P. 1-7.*
- (27) *In situ monitoring of biofilm growth Herbert-Guillou, D.*

*Dominique Festy Ifremer, Plouzané, France Tribollet, B.
CNRS/UPR15, Paris, France. 1985.P. 1-7.*

(28) Corrosión Biológica

Dr. Robert G.J. Edyvean. Departamento of Chemical Engineering,
University of Leeds. UK. 1979. P. 13-15.

Dr. Hector A. Videla. Biochemistry section, Inifta, University of
La Plata, Argentina. P.142-143.

**(29) BOLETIN TECNICO 160: BIOCIDES. Microbiological Screening
Tests. 1977.**

(30) MANUAL DE PRACTICAS DE MICROBIOLOGIA GENERAL.

R. M. Ramírez – Gama B. Luna Millán. A. Mejía Chávez. O.

Velásquez Madrazo. G. Tsuzuki Reyes

L. Viena García. Luciano Hdez.

UNAM 1996. P. 141-143, 154 Y 155.

(31) METODOS MICROBIOLÓGICOS

A Cribia, Zaragoza M. España 1969

Collins, C.H. P. 301-302.

(32) GENERAL MICROBIOLOGY

The C.V. Mosby Company. Saint Louis

U.S.A. 1977 Hunter, P.224 Y 225.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**