

La corrosión influenciada microbiológicamente (CIM) es un proceso por el cual los microorganismos pueden iniciar, facilitar o acelerar la corrosión. Distintas sustancias son empleadas en los ambientes industriales para tratar de controlar la presencia de microorganismos involucrados en CIM. En la industria petrolera se suele utilizar el sulfato de tetrakis (hidroximetil) fosfonio (THPS).

Microorganismos resistentes al THPS con potencial de actividad corrosiva en la industria petrolera

Este trabajo fue seleccionado del 4° Congreso de Integridad y Corrosión en la Industria del Petróleo y del Gas realizado por el IAPG en 2021.



La corrosión es un proceso natural que produce el deterioro de los metales provocado por la interacción con el ambiente. Afecta varios sectores, como la producción, el transporte y refinación de hidrocarburos.

Los microorganismos cambian las condiciones electroquímicas en la interface metal-solución por adhesión de las células a la superficie del metal, la formación de biofilms con la consecuente liberación de metabolitos, lo que induce o acelera el proceso de corrosión influenciada microbiológicamente (CIM) (Moura *et al.*, 2013).

Los microorganismos causales han sido clasificados en grupos microbianos según sus actividades metabólicas, como los procariotas productores de sulfuro que incluyen reductores de sulfato y tiosulfato (Machuca y Polomka, 2018), productores de ácido (Gu, 2014), metanógenos (Uchiyama *et al.*, 2010), oxidantes de hierro (Liu *et al.*, 2014) y bacterias reductoras de hierro (Herrera & Videla, 2009). Estos microorganismos son parte de la microbiota normal de los yacimientos de petróleo (Ollivier & Magot, 2005), que cuando alcanzan la superficie pueden colonizar la infraestructura metálica de las instalaciones de producción durante el proceso de extracción de petróleo y gas.

El monitoreo de la actividad microbiana en las instalaciones de producción es parte de la gestión de la corrosión de los activos de la industria del petróleo y gas. La evaluación microbiológica se realiza rutinariamente para detectar la presencia de microorganismos causantes de la CIM y para evaluar la efectividad de los tratamientos con biocidas utilizados para su mitigación.

Las diferentes formulaciones de biocidas son diseñadas con el fin de eliminar el desarrollo microbiano. Sin embargo, el aumento de la resistencia al biocida es siempre uno de los principales problemas asociado a su uso. El costo del tratamiento con biocida, junto con el transporte al yacimiento son causas que llevan a evitar la aplicación de altas concentraciones durante largos períodos. De este modo, un tratamiento irregular y desordenado termina favoreciendo la aparición de resistencia (Augustinovic *et al.*, 2012). Asimismo,

dada la imposibilidad de eliminar todas las bacterias del biofilm, la interrupción del tratamiento permitirá eventualmente que las células restablezcan sus actividades.

En este contexto, el objetivo del trabajo fue evaluar la eficacia de una aplicación del biocida sulfato de tetrakis (hidroximetil) fosfonio (THPS) sobre las poblaciones bacterianas presentes en agua de tanque de almacenamiento de crudo.

Materiales y métodos

Se dispusieron de 50 frascos que contenían 10 ml de agua de tanque esterilizada por filtración, con dos cupones de acero al carbono tipo SAE 1010 (10x20x1mm) por frasco. Los frascos fueron inoculados con una suspensión bacteriana obtenida por enriquecimiento a partir de una muestra de agua de tanque. Un set de 25 frascos fue tratado con 250 mg.l⁻¹ de THPS (tratamiento ATK+THPS). El resto quedó como control biótico (tratamiento ATK). Finalmente, se agregó crudo en todos los frascos y se incubaron en condiciones anóxicas.

También se realizaron controles abióticos. Se prepararon 30 frascos de la misma manera que para el estudio del efecto del biocida, pero en este caso, los frascos no fueron inoculados. A la mitad de ellos se les agregó el biocida. Estos frascos fueron denominados CAB+THPS y CAB.

Se determinó la concentración de THPS mediante iodometría. Los aniones fueron cuantificados por cromatografía iónica con el uso de un detector de conductividad (Chen *et al.*, 2017) propionate, and butyrate (volatile fatty acids [VFA]). La determinación de carbono orgánico total se realizó en un analizador de carbono de alta temperatura (Martin *et al.*, 2014).

Se realizaron extracciones de ADN de las muestras planctónicas y sésiles con el kit E.Z.N.A Soil DNA (Omega Bio-tek, Norcross, GA, USA) a los 3, 8, 15 y 60 días.

Periódicamente, fue monitoreada la concentración de poblaciones de bacterias y arqueas de muestras de agua y del biofilm desarrollado sobre los cupones metálicos, mediante PCR cuantitativa en tiempo real (q-PCR). Se usaron los primers

Por Lina Dominici^{1, 2}; Marisa Viera^{1, 3}
y María Teresa del Panno^{2, 3}

¹Centro de Investigación y Desarrollo en Tecnología de Pinturas (CIDEPINT), CICPBA-CONICET-UNLP.

²Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI), CONICET-UNLP.

³Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata.

1055F/1392R para la cuantificación del gen 16S rRNA de bacterias y el 344F/519R para el 16S rRNA de arqueas. La cuantificación se llevó a cabo mediante curvas de calibración estándar realizadas a partir de diluciones del plásmido que contenía como inserto el gen de interés. Los resultados se expresaron como N° de copias/ml para muestra líquida o N° de copias/cm² para muestra de cupón para cada gen.

Para estudiar la diversidad del gen 16S rRNA de bacterias y arqueas se realizó secuenciación de última generación de las muestras de agua de tanque de almacenamiento sin inóculo (TK), del tratamiento ATK a los 3, 8 y 60 días y del tratamiento ATK+THPS a los 8 y 60 días. La amplificación se llevó a cabo con los primers 341F/806R para bacterias y 349F/806R para arqueas usando la plataforma Miseq Illumina. Se utilizó Qiime2 para el análisis bioinformático y el software R para el análisis estadístico y la realización de gráficos.

Los datos obtenidos en las medidas de concentración de THPS y de bacterias y arqueas se expresaron como promedios de triplicados con la respectiva desviación estándar. En esta última, la diferencia significativa entre los promedios se evaluó por comparación por medio del test de varianza ANOVA.

Los cupones metálicos fueron retirados de los frascos a las 24 h, 30 y 60 días para realizar medidas electroquímicas. Para la determinación de la resistencia de polarización mediante la técnica de Resistencia de Polarización Lineal (LPR) se realizaron curvas de polarización haciendo un barrido de ± 25 mV alrededor del potencial a circuito abierto (PCA) a una velocidad de barrido de 0,166mV.s⁻¹.

Los barridos potenciodinámicos fueron realizados a la misma velocidad en un rango de ± 500 mV vs. PCA. Los espectros de impedancia electroquímica (EIS) fueron obtenidos aplicando una onda sinusoidal de 10 mV (vs. PCA) entre 0,01 Hz and 20.000 Hz. Todas las medidas electroquímicas se realizaron a temperatura ambiente en una celda de tres electrodos con el cupón de acero SAE 1010 como electrodo de trabajo, un electrodo de calomel saturado como referencia y un alambre

de platino como contraelectrodo. El electrolito usado fue agua de tanque filtrada.

Para la microscopía electrónica de barrido (MEB), los cupones fueron retirados al día 60 y se procedió a la fijación del biofilm sumergiendo el cupón en una solución de glutaraldehído (Sigma-Aldrich) al 2,5% en buffer fosfato salino (PBS) durante 24 horas. Posteriormente, se realizaron pasos sucesivos de deshidratación con etanol desde el 20% hasta el 100% y se dejaron durante 30 minutos en cada solución, secado por punto crítico y metalizado con oro. Las observaciones de MEB se realizaron en un equipo FEI Quanta 200 (ThermoFisher, USA).

Resultados y discusión

En la tabla 1 se presenta la composición del agua de tanque de almacenamiento (TK) utilizada en el experimento. El agua se caracterizó por una baja salinidad y concentración de sulfato. La estabilidad del biocida fue analizada en el agua de almacenamiento, en presencia (ATK+THPS) y ausencia de microorganismos (CAB+THPS) (Figura 1). Bajo ambas condiciones el principio activo disminuyó su concentración hasta un valor no detectable luego de 8 días. Este comportamiento fue atribuido a la composición del agua de almacenamiento, dado que en agua destilada la concentración del

Componente	Valor
pH	7,37
Cloruro	3400 mg.l ⁻¹
Sulfato	15,8 mg.l ⁻¹
Nitrato	< 1 mg.l ⁻¹
Carbono total	542,1 mg.l ⁻¹
Carbono inorgánico	198,7 mg.l ⁻¹
Carbono orgánico	343,4 mg.l ⁻¹

Tabla 1. Composición química del agua de tanque de almacenamiento.

THPS se mantuvo estable en el valor de inicio, durante los 60 días del experimento.

Efecto del THPS sobre la densidad de las poblaciones microbianas

En la figura 2 se muestra la variación del número de copias del gen 16S rARN/ml de bacterias y arqueas en los tratamientos ATK y ATK+THPS. En ella se aprecia que la población de bacterias planctónicas se mantiene estable durante los primeros 10 días del tratamiento ATK, y finaliza en aproximadamente 107 copias/ml a los 60 días. La presencia del THPS produjo un significativo efecto (aunque de corta duración) al reducir un 62% la concentración de la población bacteriana en los primeros días de tratamiento. A los 60 días ya no se registró diferencia entre tratamientos. El descenso apreciado a los 15 días en ambos tratamientos fue atribuido a la adaptación del inóculo a las condiciones del ensayo. En

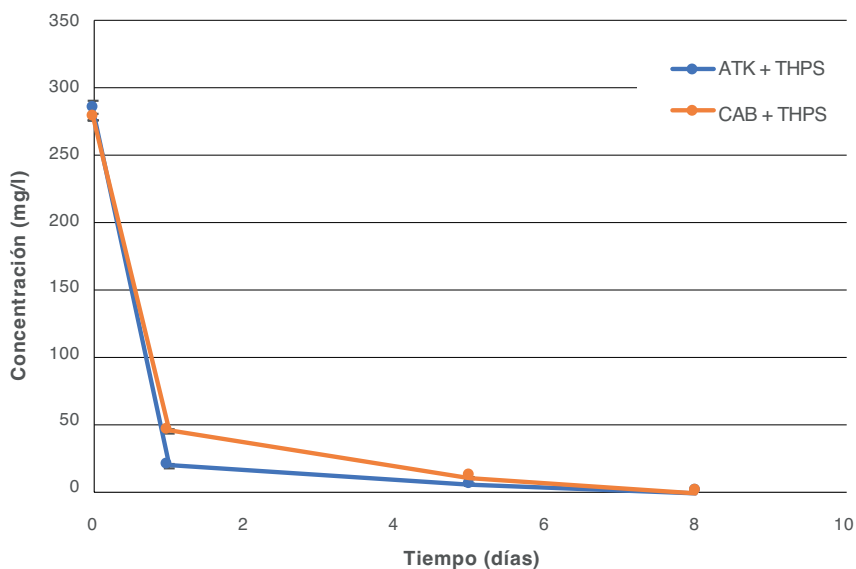


Figura 1. Cinética del biocida THPS durante el tratamiento en batch inoculado (ATK+THPS) y control abiótico (CAB+THPS).

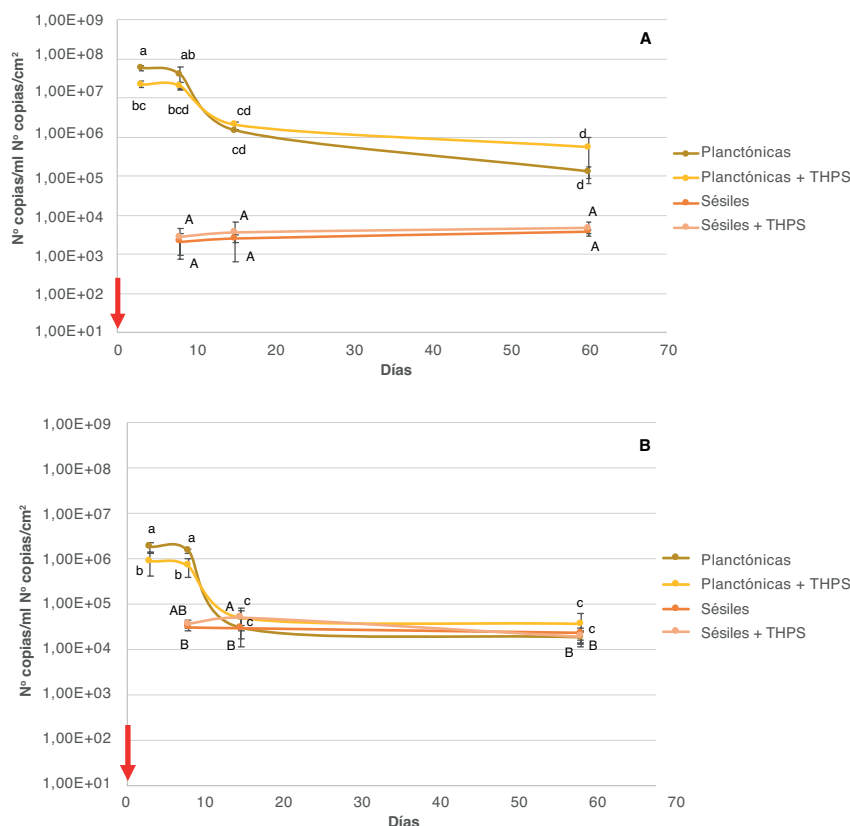


Figura 2. Dinámica del número de copias del gen 16S rRNA de bacterias planctónicas y en biofilm (A) y arqueas planctónicas y en biofilm (B) durante los tratamientos ATK y ATK+THPS. La flecha indica el momento de aplicación del biocida. Distintas letras indican diferencias significativas para la misma población durante los días de tratamiento.

cuanto a la capacidad de adhesión de las células de bacterias al cupón metálico, no fue detectado algún efecto del biocida en comparación con lo observado en el tratamiento control.

De forma similar a lo observado en bacterias, el biocida produjo una significativa reducción de la población de arqueas en los primeros días (50%), no se registraron diferencias con el control hacia el final del experimento. Respecto de la población adherida al cupón, se observó un aumento significativo de células adheridas al día 15 en presencia del

biocida. Este comportamiento no se observó al finalizar el tratamiento. Independientemente del estado de la célula (planctónica o sésil) y de la presencia del biocida, las concentraciones celulares al final del experimento fueron similares: $\sim 10^4$.

Efecto del THPS sobre la diversidad de las comunidades microbianas

El resultado del análisis taxonómico de la comunidad de bacterias y arqueas durante los tratamientos con y sin biocida se muestran en la tabla 2. Para su interpretación se uti-

lizaron los índices de alfa diversidad Chao (riqueza), Shannon (diversidad) e inversa del índice de Simpson (uniformidad). Las curvas de rarefacción (dato no mostrado) y el porcentaje de cobertura (>99%) indican que los resultados obtenidos fueron suficientes para cubrir la mayor parte de la diversidad.

El análisis de diversidad evidenció que el inóculo agregado al agua de tanque modificó ambas comunidades nativas, redujo inicialmente la riqueza y diversidad de la comunidad de bacterias y conservó un arreglo equitativo. Respecto de la comunidad de arqueas, la riqueza no se vio afectada inicialmente como era lo esperado, siendo que el inóculo no contenía células de arqueas. Su efecto se evidenció en el aumento de la diversidad y uniformidad de especies. La disminución de la riqueza observada a los 8 días pudo ser consecuencia de la adaptación de la comunidad a las condiciones de incubación.

A los 8 días de iniciado el tratamiento con THPS no se observaron marcados cambios en la riqueza y diversidad de la comunidad de bacteria. Si bien luego de 60 días se registró un incremento en la riqueza, este fue muy bajo comparado con el aumento de dos veces observado en ausencia del biocida. La comunidad finalmente establecida luego del tratamiento con biocida resultó menos diversa y uniforme, comparado con la comunidad del tratamiento control (sin biocida).

El agregado de THPS no afectó inicialmente la riqueza ni la diversidad de la comunidad de arqueas, similarmente a lo observado en bacteria, y rindió un arreglo más equitativo. La comunidad establecida luego de 60 días resultó más rica en especies, diversidad y comparativa-

BACTERIAS

Muestra	BACTERIAS				ARQUEAS			
	Cobertura (%)	Chao	Shannon	Inv. de Simpson	Cobertura (%)	Chao	Shannon	Inv. de Simpson
TK	99,99	385	4,4	24	100	39	0,7	1,3
ATK_3	99,98	108	3,8	25	99,79	42	1,6	2,3
ATK_8	99,95	110	3,8	25	99,91	16	1,5	2,5
ATK+THPS_8	99,97	108	3,9	30	99,94	22	2	5,1
ATK_60	99,99	412	4,8	53	99,99	55	1,7	2,4
ATK+THPS_60	100	193	3,5	15	99,99	62	2,1	3,4

Tabla 2. Análisis de diversidad de las comunidades microbianas en agua de tanque luego de 3, 8 y 60 días de tratamiento sin y con THPS (250 mg.l⁻¹).

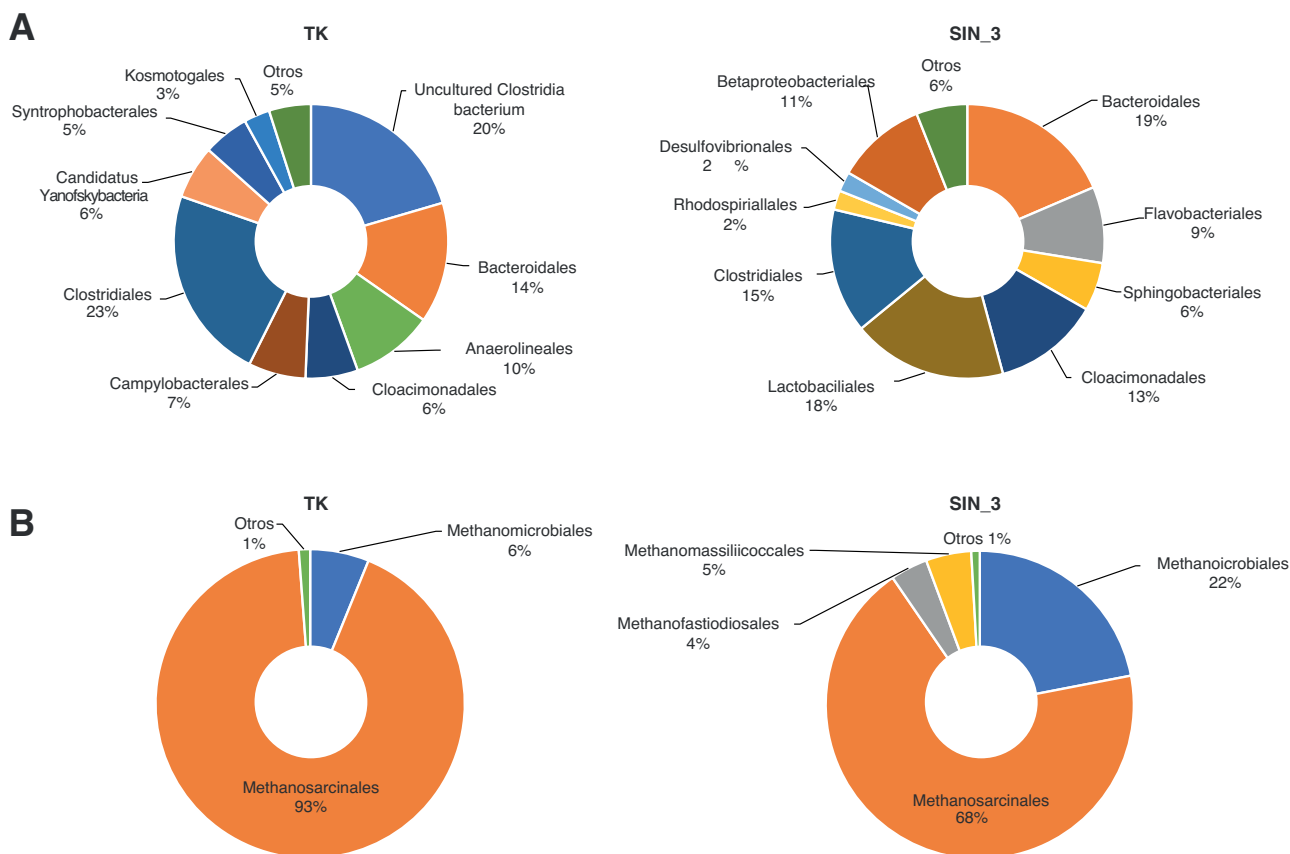


Figura 3. Composición taxonómica de la comunidad de bacterias (A) y arqueas (B) en el agua de tanque (TK) y luego de tres días de realizada la inoculación (SIN_3). El análisis se realizó a nivel de Orden. Los órdenes representados por < 2% se agruparon en "Otros".

mente algo más uniforme respecto del tratamiento control, contrariamente a lo observado en la comunidad de bacteria.

En la figura 3A se muestra la composición taxonómica a nivel de orden (>2%) de la comunidad nativa de la muestra de agua de tanque (TK) utilizada en el experimento. Los órdenes presentes en menos del 2 % se agruparon en "Otros" y los no clasificados como *Unassigned*. En ella se aprecia que la comunidad de bacterias estuvo representada por miembros de los órdenes Clostridiales (un 23%), un grupo no cultivable perteneciente a la clase JS1 del filo Atribacteria (un 20%), Bacteroidales (un 14%) y Anaerolineales (un 10%).

Los órdenes determinados en el agua de tanque son encontrados con frecuencia en aguas de sistemas petroleros (Alireza Bahadori, 2018), e incluyen microorganismos degradadores de hidrocarburos (Anaerolineales) y quimioheterótrofos fermentadores secundarios (Bacteroidales) capaces de utilizar intermediarios de la degradación de hidrocarburos para generar precursores metanogénicos

(Kunapuli *et al.*, 2007).

También han sido detectados en agua de producción y en cultivos de enriquecimiento de degradación de hidrocarburos miembros de Atribacteria. Aunque aún no es claro el rol fisiológico y ecológico, un reciente estudio infirió por herramientas genómicas que este filo tendría el potencial de asimilar varios sustratos heterotróficos permitiéndole competir con otros fermentadores primarios y secundarios, como así también mediante interacciones sintróficas con metanógenos asociados (Lee *et al.*, 2018).

En la figura 3B se muestra la composición taxonómica a nivel de orden de la comunidad de arqueas en el agua de tanque, representada principalmente por miembros del orden Methanosarcinales (un 93%). Su marcada abundancia esta en relación con la capacidad de miembros de este orden de metabolizar productos de degradación de los fermentadores primarios, como el acetato llevándolo a metano y dióxido de carbono a través de la vía acetoclástica (Kendall & Boone, 2006; Morris *et al.*, 2013)

El agregado de inóculo modificó parcialmente la composición de bacterias, que conservó la presencia de miembros de Bacteroidales (un 19%) y Clostridiales (un 15%) luego de tres días de tratamiento ATK. En el *heatmap* de la figura 6A se aprecia esa semejanza, en la asociación temprana de los perfiles de las muestras a los 3 y 8 días de tratamiento en ausencia del biocida, atribuido principalmente a miembros del orden Lactobacillales (18%-17%), Bacteroidales (19%-15%) y Clostridiales (15%-12%).

El agregado de inóculo redujo la dominancia de Methanosarcinales del 93% al 62%, a expensas del aumento de Methanomicrobiales (un 21%) hasta los ocho días de tratamiento. Miembros de este orden son reconocidos hidrogenótrofos (Browne *et al.*, 2017; Garcia *et al.*, 2006).

El efecto inicial del biocida se observó en la reducción de miembros del orden Lactobacillales (un 10%) y Betaproteobacteriales (un 5%), y en la selección de miembros del orden Bacteroidales (un 32%), conservando la abundancia de Clostridiales

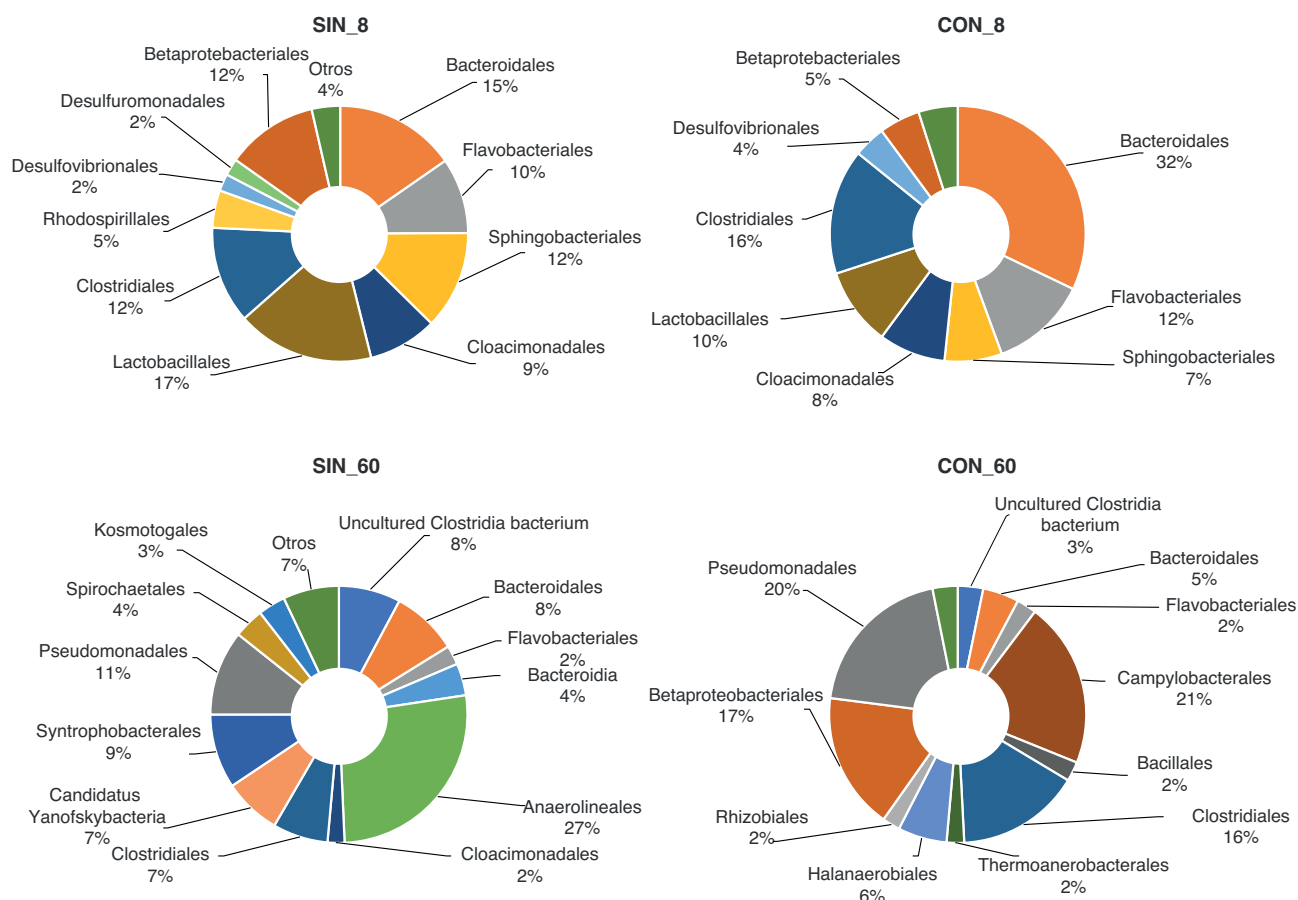


Figura 4. Perfiles taxonómicos de las comunidades bacterianas a los 8 y 60 días de iniciado el tratamiento con THPS y sin el biocida. El análisis se realizó a nivel de Orden (>2%). Los órdenes representados < 2% se agruparon en "Otros". Los tratamientos ATK+THPS se indican con la palabra "CON" y los tratamientos ATK con la palabra "SIN". El número indicado en cada rótulo de los tratamientos señala el día de incubación.

(un 16%) como se muestra en la figura 4. Sin embargo, la asociación de los perfiles sin biocida sugiere que este no produjo un marcado efecto inicial en la abundancia de filos de comunidad de bacteria.

Respecto de la comunidad de arqueas (Figura 5), el biocida redujo aún más la dominancia de Methanosarcinales, llevó la relación a 36:48 y favoreció la selección de Methanomassiliicoccales (un 14%). Miembros de este último orden, metilótrofos, pueden desarrollarse a expensas de metanol y H₂ (Vanwonterghem *et al.*, 2016). Considerando el aporte de metanol producido durante la degradación anaeróbica del THPS (Salgar-Chaparro & Machuca, 2019), es posible atribuir el aumento del 14% de este orden al efecto del biocida.

El tratamiento con el biocida seleccionó luego de 60 días una comunidad representada principalmente por miembros de los órdenes Campylobacteriales (un 21%), Pseudomonada-

les (un 20%), Betaproteobacteriales (un 17%) y Clostridiales (un 17%).

La presencia de miembros de la familia Arcobacteraceae (Campylobacteriales), con actividad oxidante de sulfuros, podría aportar sulfatos como aceptor final de electrones para otros miembros heterótrofos reductores de sulfatos de la comunidad.

La presencia de miembros del género *Acinetobacter* (orden Pseudomonadales) puede ser explicada a través de su descripción como putativo sulfato reductor (Irianni-Renno *et al.*, 2016). Bajo condición anóxica estas células tendrían la capacidad de sintetizar polihidroxialcanoatos a expensas de los ácidos volátiles, como material de reserva (Kim *et al.*, 1997). Esta propiedad también ha sido descrita en miembros del género *Aquabacterium* (Betaproteobacteriales) (Kalmbach *et al.*, 1999) desarrollándose a expensas de ácidos orgánicos, aunque en microaerofilia.

Junto con filotipos de Clostridia-

les y mediante un metabolismo fermentativo, estas poblaciones aportarían ácidos orgánicos volátiles y modelarían, en su conjunto, un ambiente propicio para los microorganismos reductores de sulfato.

Notoriamente, la comunidad finalmente seleccionada no incluyó miembros del orden Anaerolineales, quienes fueron dominantes en el tratamiento sin biocida con un 27% de abundancia.

La comunidad de arqueas recuperó la relación Methanosarcinales: Methanomicrobiales a 55:33 a expensas de la reducción de Methanomassiliicoccales (un 10%), en correlación con la degradación del THPS. El *heatmap* (Figura 6B), evidenció el marcado efecto inicial del biocida asociando el perfil de la comunidad a los 8 días en último lugar, luego del perfil a los 60 días. Esta similitud podría sugerir que el efecto inicial del biocida se extendió a través de los 60 días de tratamiento.

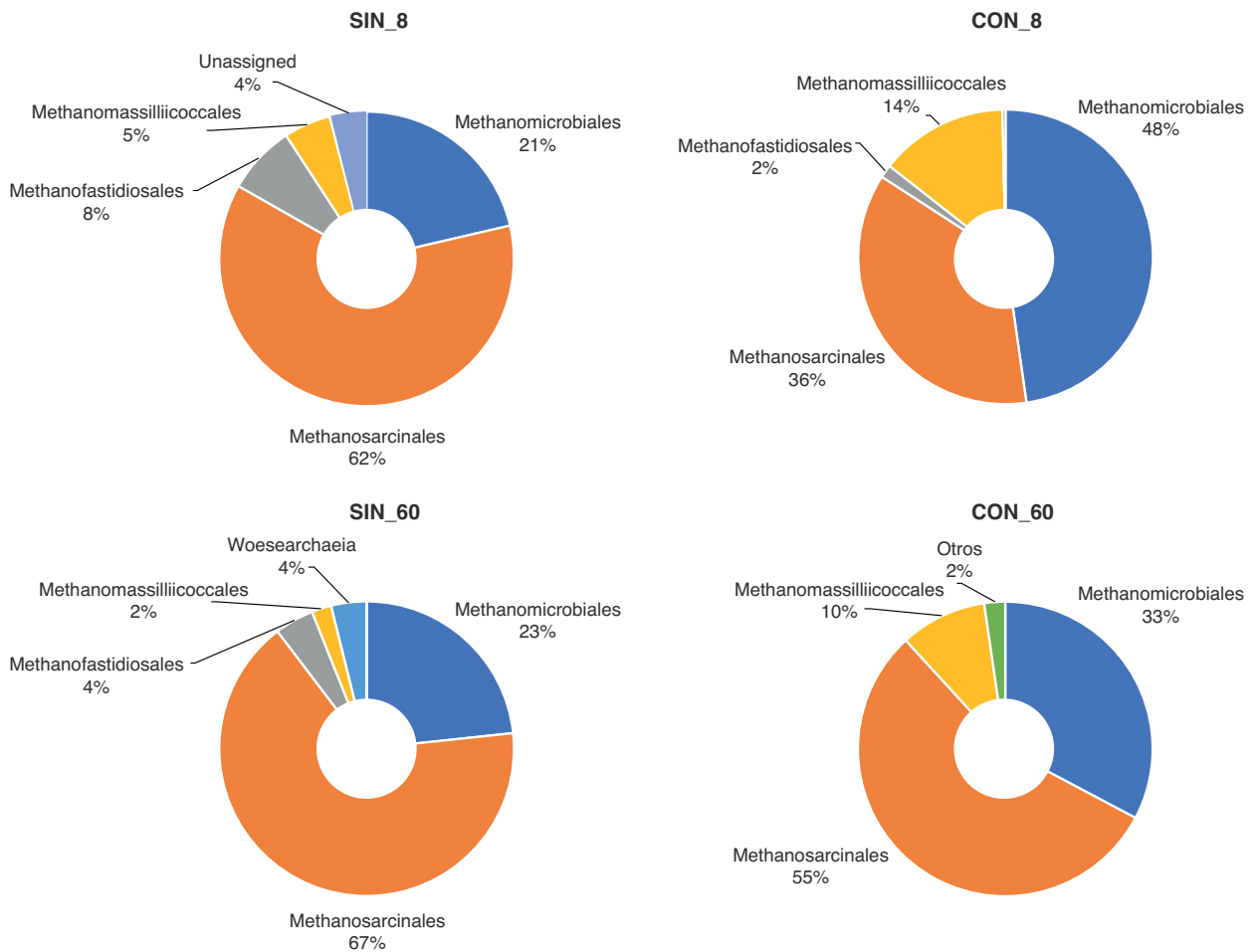
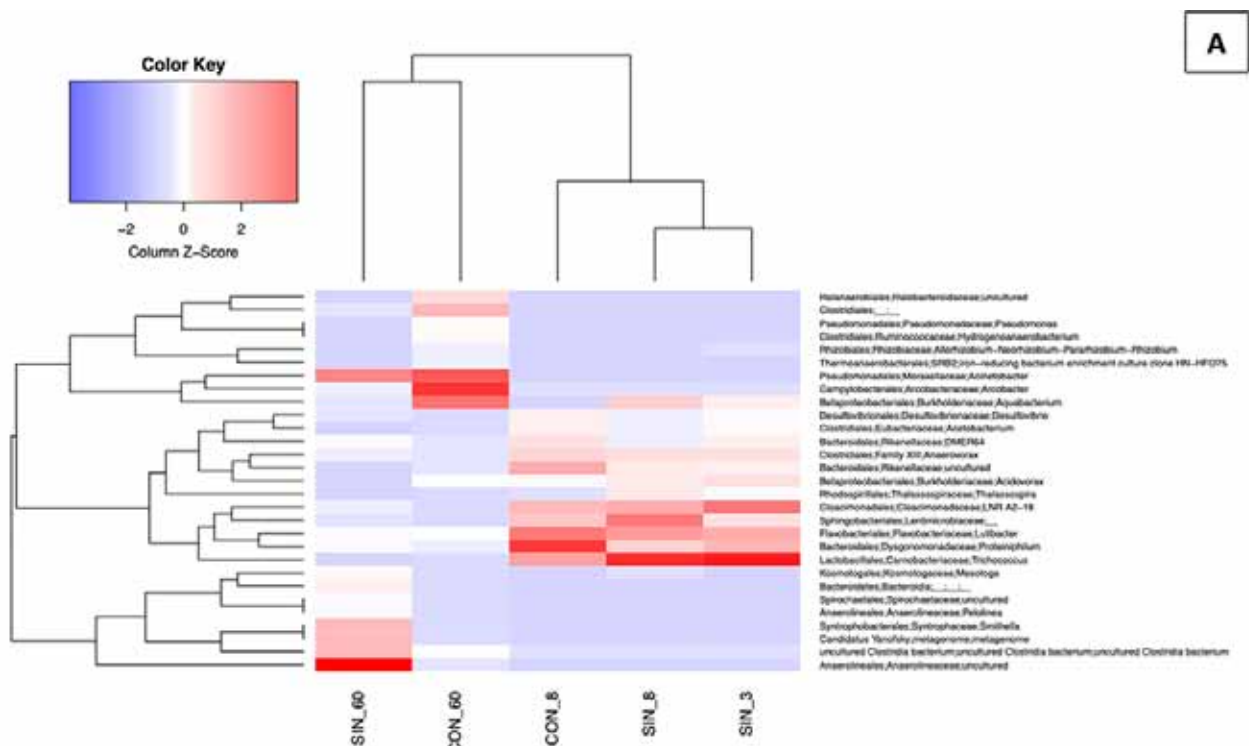


Figura 5. Perfiles taxonómicos de las comunidades de arqueas a los 8 y 60 días de iniciado el tratamiento con THPS y sin el biocida. El análisis se realizó a nivel de Orden (>2%). Los órdenes representados < 2 % se agruparon en "Otros". Los tratamientos ATK+THPS se indican con la palabra "CON" y los tratamientos ATK con la palabra "SIN". El número indicado en cada rótulo de los tratamientos señala el día de incubación.



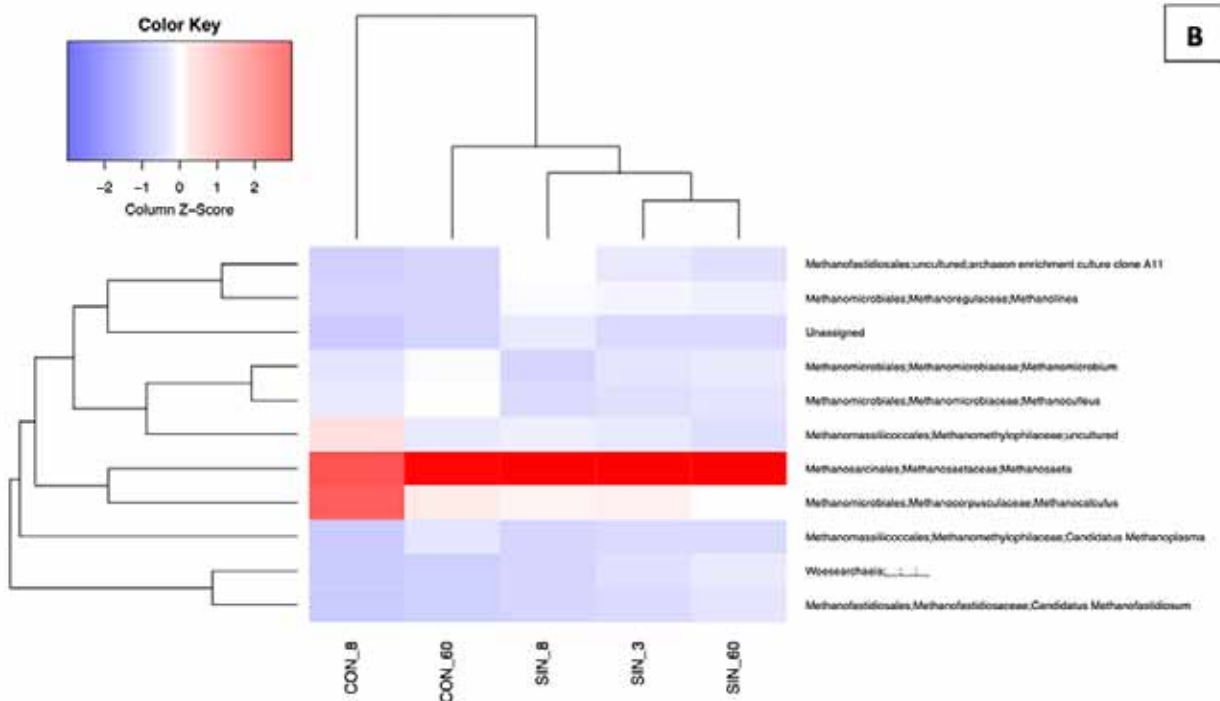


Figura 6. Heatmap de la comunidad de bacterias (A) y arqueas (B). El gráfico describe la frecuencia de cada género (variables agrupadas en el eje Y) en cada una de las muestras (agrupamiento en el eje X). Los valores en el heatmap corresponden a las abundancias relativas de los géneros mayores al 2%, y se encuentran representados por la intensidad del color según la leyenda que se muestra en la figura. Los tratamientos ATK+THPS se indican con la palabra "CON" y los tratamientos ATK con la palabra "SIN". El número indicado en cada rótulo de los tratamientos señala el día de incubación.

Comportamiento electroquímico del acero al carbono SAE 1010

Para caracterizar el proceso corrosivo que sufre el acero SAE 1010 en los sistemas bajo estudio se calculó la velocidad de corrosión instantánea a partir de los valores de Resistencia de polarización (R_p) obtenidos por LPR y EIS. Hay discrepancias menores en los valores calculados por ambas técnicas, pero tanto la magnitud de las propiedades como sus tendencias son similares. En la tabla 3 se muestran los valores de R_p obtenidos y los valores de velocidad de corrosión (en mpy) calculados a partir de R_p .

La velocidad de corrosión calculada fue en todos los casos muy superior al límite recomendado por NACE como valor aceptable (menor a 1mpy para corrosión generalizada y menor a 5 mpy para corrosión localizada) (NACE, 2013). La presencia del biocida tuvo una mayor influencia en la corrosión al inicio del experimento, cuando la superficie del acero estaba aún limpia. Luego de un día de aplicación del THPS se aprecia un descenso de la velocidad de corrosión medida por LRP, respecto de la velocidad medida en los sistemas

sin THPS, independientemente de la presencia de microorganismos. Este comportamiento podría estar relacionado con la adsorción del biocida sobre la superficie, bloqueándola parcialmente. Esta idea se refuerza por el hecho de que la densidad del biofilm determinada sobre cupones fue similar en presencia o ausencia del THPS.

La corta vida del THPS en el agua de tanque hace que su efecto inicial no se pueda mantener en el tiempo. Luego de dos meses de exposición de los cupones a los distintos tratamientos, cuando la superficie de los cupones de acero ya se encontraba cubierta con depósitos de productos de corrosión, compuestos inorgánicos y/o biofilms, la velocidad de corrosión fue similar en todos ellos. El nivel de cloruro en el agua de tan-

que resultó suficiente para promover la corrosión del acero al carbono por picado (Cáceres *et al.*, 2009). Los valores de los potenciales de picado obtenidos a partir de las curvas potenciodinámicas (Tabla 3) estuvieron en el rango de $-0,612$ hasta $-0,650$ V muy próximos a los PCA, lo que es indicativo de una alta susceptibilidad a sufrir corrosión localizada por parte del acero al carbono SAE 1010 durante los tratamientos. Los valores de velocidades de corrosión presentados en la tabla 3 fueron tres órdenes de magnitud superiores a los informados por Rajala *et al.* (2019) para la corrosión de acero al carbono en presencia de bacterias sulfato reductoras y arqueas metanogénicas en un sistema donde la concentración de cloruros era muy baja (525 mg.l^{-1}).

	LRP				Curvas de polarización			
	R_p (Ω/cm^2)		Velocidad de corr (mpy)		Ecorr (V)		Epicado (V)	
	1d	60d	1d	60d	1d	60d	1d	60d
ATK	633	1646	404	180	-0,654	-0,667	-0,612	-0,640
ATK+THPS	1839	1447	138	179	-0,654	-0,668	---	-0,633
CAB	1094	1121	232	232	-0,677	-0,676	-0,615	-0,650

Tabla 3. Parámetros obtenidos a partir de las técnicas electroquímicas: resistencia de polarización lineal y curvas de polarización potenciodinámicas luego de 1 y 60 días de tratamiento sin y con THPS.

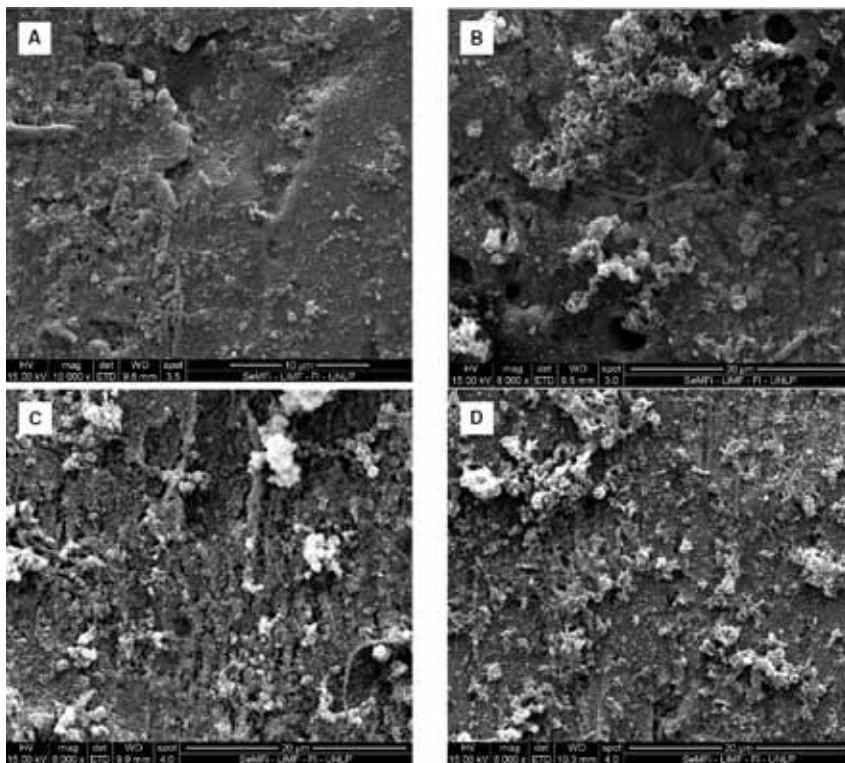


Figura 7. Microfotografías tomadas con el microscopio electrónico de barrido de los cupones de acero SAE 1010 luego de 60 días de tratamiento. A) ATK; B) ATK+THPS; C) CAB; D) CAB+THPS.

Las altas velocidades de corrosión medidas se correspondieron con las observaciones de la superficie de los cupones expuestas por 60 días al agua de tanque con y sin THPS realizadas a través del microscopio electrónico de barrido (Figura 7 A-D). En las microfotografías se aprecia una gran cantidad de productos de corrosión formado sobre los cupones de acero al carbono SAE 1010. En el caso de los cupones expuestos al agua de tanque inoculada, es posible distinguir microorganismos entre los depósitos inorgánicos.

Conclusiones

El tratamiento con THPS (250 mg.l⁻¹) resultó efectivo. inicialmente redujo la concentración de poblaciones microbianas, tanto bacterias (63%) como arqueas (50%) en agua de tanque de baja salinidad.

El efecto inicial del THPS también se apreció en la reducción de la velocidad de corrosión, aun en presencia de biofilm, lo que sugirió una acción inhibitoria de la corrosión microbiana.

No obstante, la significativa reducción de la densidad de pobla-

ciones planctónicas, su aplicación no tuvo un mayor impacto sobre la diversidad de bacterias, lo que favoreció la selección de órdenes de arqueas involucrados en procesos de corrosión.

Debido a la corta duración del principio activo en agua de tanque, luego de 60 días la diversidad de bacterias y arqueas sugirió un ambiente propicio para el desarrollo de microorganismos reductores de sulfato.

Referencias

Augustinovic, Z., Birketveit, Ø., Clements, K., Freeman, M., Gopi, S., Isohoy, T., Sunde, E. (2012). Microbes-oilfield enemies or allies? *Oilfield Review*.

Bahadori, A. (2018). *Fundamentals of Enhanced Oil and Gas Recovery from Conventional and Unconventional Reservoirs*. Gulf Professional Publishing. Elsevier. 1st Edition.

Browne, P., Tamaki, H., Kyrpides, N., Woyke, T., Goodwin, L., Imachi, H., Cadillo-Quiroz, H. (2017). Genomic composition and dynamics among Methanomicrobiales predict adaptation to contrasting environments. *ISME Journal*, 11(1), 87-99. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.104>

Cáceres, L., Vargas, T., Herrera, L. (2009).

Influence of pitting and iron oxide formation during corrosion of carbon steel in unbuffered NaCl solutions. *Corrosion Science*, 51(5), 971-978. <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2009.02.021>

Chen, C., Shen, Y., An, D., Voordouw, G. (2017). Use of acetate, propionate, and butyrate for reduction of nitrate and sulfate and methanogenesis in microcosms and bioreactors simulating an oil reservoir. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(7), 1-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.02983-16>

Garcia, J.-L., Ollivier, B., Whitman, W. B. (2006). The Order Methanomicrobiales. In *The Prokaryotes* (208-230). https://doi.org/10.1007/0-387-30743-5_10

Gu, T. (2014). Theoretical Modeling of the Possibility of Acid Producing Bacteria Causing Fast Pitting Biocorrosion. *Journal of Microbial and Biochemical Technology*, 6(2), 6874. <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000124>

Herrera, L. K., Videla, H. A. (2009). Role of iron-reducing bacteria in corrosion and protection of carbon steel. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 63(7), 891-895. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2009.06.003>

Irianni-Renno, M., Akhbari, D., Olson, M. R., Byrne, A. P., Lefèvre, E., Zimbron, J., De Long, S. K. (2016). Comparison of bacterial and archaeal communities in depth-resolved zones in an LNAPL body. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(7), 3347-3360. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7106-z>

Kalmbach, S., Manz, W., Wecke, J., Szwedzyk, U. (1999). *Aquabacterium* gen. nov., with description of *Aquabacterium citratophilum* sp. nov., *Aquabacterium parvum* sp. nov. and *Aquabacterium commune* sp. nov., three in situ dominant bacterial species from the Berlin drinking water system. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 49(2), 769-777. <https://doi.org/10.1099/00207713-49-2-769>

Kendall, M. M., Boone, D. R. (2006). The Order Methanosarcinales. In *The Prokaryotes* (244-256). https://doi.org/10.1007/0-387-30743-5_12

Kim Michael H., Hao Oliver J., W. N. S. (1997). *Acinetobacter* isolates from different activated sludge processes: characteristics and neural network identification.



- FEMS Microbiology Ecology, 217-227. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Kunapuli, U., Lueders, T., Meckenstock, R. U. (2007). The use of stable isotope probing to identify key iron-reducing microorganisms involved in anaerobic benzene degradation. *ISME Journal*, 1(7), 643–653. <https://doi.org/10.1038/ismej.2007.73>
- Lee, Y. M., Hwang, K., Lee, J., Kim, M., Hwang, C. Y., Noh, H. J., Shin, S. C. (2018). Genomic insight into the predominance of candidate phylum Atribacteria JS1 lineage in marine sediments. *Frontiers in Microbiology*, 9(NOV), 1-14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02909>
- Liu, H., Chen, B., Zhang, F., Qin, S., Zhang, G., Liu, H. (2014). Effects of iron-oxidizing bacteria on carbon steel in oil-field produced water Hong-wei. *ECS Transactions*, 409-420. <https://doi.org/10.1149/05901.0409ecst>
- Martin, M. V., Gebühr, C., Mártire, D. O., Wiltshire, K. H. (2014). Characterization of a humic acid extracted from marine sediment and its influence on the growth of marine diatoms. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 94(5), 895-906. <https://doi.org/10.1017/S0025315414000368>
- Morris, B. E. L., Henneberger, R., Huber, H., Moissl-Eichinger, C. (2013). Microbial syntrophy: Interaction for the common good. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(3), 384–406. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12019>
- Moura, M., Pontual, E., Paiva, P., Coelho, L. (2013). An outline to corrosive bacteria. *Microbial Pathogens and Strategies for Combating Them: Science, Technology and Education*, 11-22.
- NACE. (2013). Standard Practice: Preparation, installation, analysis, and interpretation of corrosion coupons in oilfield operations. SP0775-2013, Item no. 21017, SP0775-201(Item No 21017).
- Ollivier, B., Magot, M. (2005). *Petroleum Microbiology*. Washington, D.C: ASM Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012373944-5.00171-1>
- Rajala, P., Huttunen-Saarivirta, E., Bomberg, M., Carpén, L. (2019). Corrosion and biofouling tendency of carbon steel in anoxic groundwater containing sulphate reducing bacteria and methanogenic archaea. *Corrosion Science*, 159 (April), 108148. <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2019.108148>
- Salgar-Chaparro, S. J., Machuca, L. L. (2019). Complementary DNA/RNA-Based Profiling: Characterization of Corrosive Microbial Communities and Their Functional Profiles in an Oil Production Facility. *Frontiers in Microbiology*, 10(November), 1-18. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02587>
- Uchiyama, T., Ito, K., Mori, K., Tsurumaru, H., Harayama, S. (2010). Iron-corroding methanogen isolated from a crude-oil storage tank. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(6), 1783-1788. <https://doi.org/10.1128/AEM.00668-09>
- Vanwonterghem, I., Evans, P. N., Parks, D. H., Jensen, P. D., Woodcroft, B. J., Hugenholtz, P., Tyson, G. W. (2016). Methylophilic methanogenesis discovered in the archaeal phylum Verstraetearchaeota, 1(October), 1-9. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.170>