

Corrosivity of H₂S-producing bacteria isolated from formation waters used in secondary crude-oil recovery

Zoilabet Duque^{1,2}, Eduardo Chicote¹, M. Isabel Sarró¹, Diego A. Moreno¹,
Matilde F. de Romero² y Orlando A. Pérez²

¹Departamento de Ingeniería y Ciencia de los Materiales, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales, Universidad Politécnica de Madrid, España.

²Centro de Estudios de Corrosión, Universidad del Zulia, Venezuela.

Telefax: 34-91-3363024/ 58-261-7598175. E-mail: zduque@mat.etsii.upm.es

Abstract

There have been problems in the water-injection systems of the oil industry due to Microbiologically Induced Corrosion (MIC), associated with the presence of Sulphate-Reducing Bacteria (SRB), which produce H₂S. Several investigators consider that this is the principal cause of bacterial corrosion in natural-water storage and distribution systems. Given the fact that other groups of bacteria are not considered in current microbiological treatments and controls, it would be useful to investigate the presence of other anaerobic microorganisms that produce this aggressive metabolite or its derivatives in water-injection systems. This article reports on SRB and Non-SRB strains isolated from injection systems and identified by DNA sequencing, among them, *Desulfovibrio termididis* (SRB) and *Escherichia coli* (Non-SRB). Evaluation of the activity and corrosivity of the two types of bacteria indicated that there was a significant difference in activity in the selective media, mainly that sulphide generation by the sulphate dissimilation process is much greater than that of the group that generates it by fermentation, as well as corrosivity on the carbon steel API 5L grade X65, as determined by open circuit potential, polarization resistance and weight loss during 60 hours' evaluation in selective media with no ferrous salts. Nevertheless, Scanning Electron Microscopy indicated biofilm development and localized attacks on the steel by both types of bacteria, which confirms the need for investigating and considering the role of these Non-SRB anaerobic groups so as to exercise better control over bacterial corrosion.

Key words: MIC, H₂S, Non-SRB, SRB, water injection, oilfield.

Corrosividad de bacterias productoras de H₂S aisladas de aguas de formación utilizadas en la recuperación secundaria de crudo

Resumen

La industria petrolera en sus sistemas de inyección de agua para la recuperación secundaria de crudo ha presentado problemas de Corrosión Microbiana asociados con la presencia de Bacterias Reductoras de Sulfato (BRS), productoras de H₂S; lo cual es considerado por diferentes investigadores como el principal causante de los problemas de corrosión bacteriana en los sistemas de distribución y almacenamiento de aguas naturales. Ante lo anteriormente planteado y dado que en los tratamientos y controles microbiológicos actuales generalmente no son considerados otros grupos bacterianos, resulta significativo investigar la presencia de microorganismos anaerobios productores de este metabolito agresivo o de sus derivados en los sistemas de inyección de agua. En este artículo se reporta la evaluación de la actividad y corrosividad de una cepa BRS y otra No-BRS aisladas de un sistema de inyección e identificadas por secuencia-

ción del ADN como *Desulfovibrio termitidis* (BRS) y *Escherichia coli* (No-BRS). Los resultados establecen una significativa diferencia de actividad en los medios selectivos seleccionados. Principalmente, la generación de sulfuro por el proceso desasimilatorio del sulfato es mucho mayor que la del grupo que lo genera por vía fermentativa, al igual que la corrosividad sobre acero al carbono API 5L grado X65 determinada por los potenciales de corrosión, resistencia de polarización y pérdida de peso durante 60 horas de evaluación en medios selectivos sin sales ferrosas. No obstante, la evaluación por microscopía electrónica de barrido indicó el desarrollo de biopelículas y ataques localizados en el acero por ambas bacterias, lo cual confirma la necesidad de indagar la participación de estos grupos anaerobios No-BRS y su consideración a efectos de realizar un mejor control de la corrosión bacteriana.

Palabras clave: MIC, H₂S, SRB, aguas de inyección, industria petrolera.

Introducción

Las primeras descripciones de corrosión involucrando microorganismos fueron hechas a principios del siglo XX; no obstante, fue en la década de los 80 que se reconoció a nivel mundial que la Corrosión Microbiológica genera serios problemas en la industria petrolera [1], representando esto entre un 50 a 90% de la corrosión localizada y un 30% del total de los costos de corrosión en esta industria [2].

Un ejemplo de esta problemática es la industria petrolera venezolana, donde el 40% de la producción se obtiene por procesos de inyección de agua para la recuperación secundaria de crudo, controlando los problemas de Corrosión Microbiológica principalmente en función de evaluaciones de Bacterias Reductoras de Sulfato (BRS); lo cual ha generado cuantiosas inversiones en el control microbiológico de las aguas de inyección, dada la persistencia de bioensuciamiento y corrosión localizada en las líneas de distribución de aguas para la producción de crudo [3, 4]. Estos importantes daños se deben principalmente a la reacción del H₂S con el acero al carbono, constituyente mayoritario de los sistemas de distribución, formando productos de sulfuro de hierro (Fe_xS_y), los cuales reducen el área de flujo en las líneas y taponan los pozos inyectoros disminuyendo con ello la producción [3-5].

El contenido de H₂S en estos sistemas de recuperación secundaria puede ser producto de reacciones abióticas por el crudo que acompaña al agua de formación y/o a actividades bacterianas [4-6], involucrando principalmente a las BRS por ser productoras de H₂S en su metabolismo respiratorio [1, 7, 8]. No obstante, Magot [9] y Crolet [10] reportaron cepas No-BRS productoras de H₂S involucradas en los productos de co-

rosión provenientes de tuberías de agua de producción de crudo en África, resaltando la capacidad de estas bacterias de producir cantidades significativas de H₂S y ácidos orgánicos a partir de tiosulfato y péptidos, los cuales pueden ser la única fuente de carbono y energía de algunas especies bacterianas. Estos procesos pudiesen ser más corrosivos que la reducción de sulfato por las BRS, por el gradiente de acidificación generado [10, 11].

Ante todo lo anteriormente planteado, resulta relevante identificar otros grupos anaerobios (No-BRS) productores de H₂S presentes en las aguas de formación utilizadas en los procesos de producción de crudo; soportando las pocas investigaciones presentadas y generando más interés en esta problemática.

Desarrollo Experimental

Toma de muestras en aguas de formación y aislamiento de cepas BRS y No-BRS

Para la evaluación de cepas productoras de H₂S, se extrajeron muestras de las aguas de formación del Estado Zulia-Venezuela utilizadas en los procesos de recuperación secundaria de crudo presentes en las plantas de Bachaquero (A) y Punta de Palma (B), siendo ambas receptoras por separado de aguas de pozos totalmente diferentes y distantes. Es importante resaltar que las características de estas aguas son variables y difieren entre sí, debido a que el proceso de inyección es muy dinámico en cuanto al uso de diferentes pozos, que envían aguas asociadas variando el contenido de crudo y calidad físico química-microbiológica. La Tabla 1 muestra la diferencia en características del agua en ambas plantas, correspondiente cada una a un muestreo específico.

Como se observa, en estas aguas los bajos niveles de O₂ (disuelto) y la presencia de sólidos son condiciones favorables al desarrollo de bacterias anaerobias-facultativas y anaerobias estrictas.

Las aguas extraídas para el análisis microbiológico se inyectaron en medios de cultivo selectivos para la diferenciación de las BRS y No-BRS productoras de H₂S, utilizándose Postgate B (BRS) y medio Peptona/Extracto de Carne (No-BRS), ambos recomendados en *Standard test method* de la NACE TM0194-94 [12, 13], la utilización de un medio rico en péptidos y sin componentes que pudiesen ser utilizados en la respiración de las BRS, permitió garantizar la actividad metabólica diferencial entre las cepas aisladas. Ambos medios fueron desaireados con N₂(g) de alta pureza y ajustados a pH 7,2-7,5, para luego proceder a su purificación mediante diluciones seriadas y tras varias diluciones se sembraron en agar fundido para obtener colonias aisladas de color negro [14].

En la preparación de los viales de dilución para el aislamiento y preservación de ambos medios se colocó dentro de los mismos un clavo de acero al carbono, previa esterilización, dado que el ataque del H₂S sobre el acero genera productos Fe_xS_y de coloración negra; lo cual permite la detección visual de la presencia de estos grupos bacterianos. La adición del clavo en el medio Peptona/Extracto de carne es un indicador fundamental, ya que el medio no contiene iones ferrosos.

Identificación de las cepas bacterianas aisladas

Para la identificación de las cepas se extrajo el ADN, usando el reactivo PrepMan™ sobre el *pellet* de una colonia aislada según protocolo del fabricante (*Applied Biosystems*), luego el ADN extraído de las diferentes muestras se amplificaron por separado utilizando el *kit* de secuenciación *MicroSeq™ 500 16S rDNA Bacterial Sequencing* o el *kit* de *Big Dye® Terminator v1.1 Cycle Sequencing*, aplicando el protocolo facilitado por el fabricante (*Applied Biosystems*). Con el *Big Dye®* se utilizaron los *primers* 385F (5'-CGGCGTCGCTGCGTCAGG-3') y el 907R (5'-CCG TCA ATT CCT TTG AGT TT-3') cada uno a una concentración final de 25 pM con 12,5 µL de PCR *Master Kit* 1X (1,5 mM MgCl₂, 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl, 1,25 U TaqDNA polimerasa,

Tabla 1
Características químicas de las aguas de formación evaluadas

Variable	Plantas	
	A	B
Crudo en agua	5,5 mg/L	0,37 mg/L
Sólidos totales disueltos	6 mg/L	9,3 mg/L
Turbidez	1 NTU	5 NTU
O ₂ (disuelto)	20 µg/L	5 µg/L

sa, 0,2 mM dNTPs; *Roche Diagnostics*), al que se añadió 0,8 µL de MgCl₂ (12,5 µM), y agua hasta un volumen final de 25 µL, siendo sometida la mezcla a una primera PCR. Luego se purificó el ADN y se procedió con protocolo del *kit* para la segunda PCR. Todos los productos de PCR se comprobaron por electroforesis en gel de agarosa 1X, a 120V y 20 minutos. Para la secuenciación se precipitó y preparó la muestra según protocolo del ADN ABI Prism™, 310 *Genetic Analyzer*, secuenciando 500 pares de bases. Finalmente, las secuencias obtenidas se compararon con las depositadas en las bases de datos del NCBI (*Nacional Center of Biotechnology Information*) y del EMBL (*European Molecular Biology Laboratory*).

Evaluación de la actividad bacteriana y corrosividad sobre el acero al carbono API 5L

Estas evaluaciones se realizaron en dos celdas electrolíticas separadas, cada una con un frasco lavador de gases conteniendo solución ferrosa, logrando así eliminar los gases sulfurosos generados por las cepas evaluadas en las celdas. Igualmente, los medios se mantuvieron a 37°C y desaireados con N₂(g) de alta pureza, durante 60 horas continuas, una con medio Postgate C modificado, sin sales ferrosas, para la BRS y la otra con medio Peptona/Extracto de carne para la No-BRS. Ambas celdas fueron inoculadas independientemente al 10% con inóculos de 18 horas, garantizando una fase exponencial al iniciar los ensayos en las celdas electrolíticas. La actividad bacteriana se determinó mediante análisis de sulfuro por el método yodométrico del *Standard*

Methods 4500-S²-E. La corrosividad fue evaluada en electrodos de acero al carbono, revestidos en epoxi con una cara rectangular plana expuesta de 6,0 cm², colocado dentro de la celda en posición paralela al eje x y opuesta a éste. Aplicando para ello registro del potencial de corrosión en circuito abierto (OCP: *Open circuit potential*), Resistencia de polarización (Rp) a ± 10 mV vs OCP en 0,16 mV/s, usando un Potenciostato/Galvanostato PARC 173, y pérdida de peso según la norma ASTM G-1. La morfología de los productos corrosivos, biopelículas y ataques corrosivos fueron observados por Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) en un Philips XL-40.

Resultados y Discusión

Aislamiento e identificación

Los análisis permitieron detectar la presencia de grupos bacterianos anaeróbicos reductores de sulfato y no reductores de sulfato, dado que no hay sulfato en el medio ni sales ferrosas que se correlacionen con la coloración negra obtenida del medio No-BRS incubado, lo que corresponde a la reacción del metabolito generado (H₂S) con el metal (clavo de acero al carbono) confirmado por controles negativos. La producción de H₂S en el caso de la No-BRS es producto de la proteólisis o fermentación anaerobia, a diferencia de la BRS que es por desasimilación del sulfato presente sólo en el medio Postgate B y C [15]. Las BRS y No-BRS secuenciadas y comparadas con el NCBI y EMBL, así como sus porcentajes de homología son reportadas en la Tabla 2.

Las BRS identificadas pertenecen al género *Desulfovibrio*, el cual ha sido comúnmente asociado a la corrosión influenciada microbiológicamente [6-8]. Todas las especies identificadas presentaron 99% en homología molecular.

Con respecto a las No-BRS, se tiene que la participación de la familia *Enterobacteriaceae* en la producción de H₂S ha sido reportada en la literatura bien sea por la reducción de fuentes orgánicas o inorgánicas. En el caso de *Escherichia coli*, con un porcentaje de homología de 100%, la utilización de citrato y producción de H₂S es una característica atípica de ésta; sin embargo, hay variantes de esta especie y en algunos casos la capacidad de producir H₂S ha sido atribuida a la *E. coli* K-12 [16]. Otros investigadores han identificado diferentes grupos productores de H₂S como *Salmonella* sp., *Citrobacter* sp., *Clostridium* sp., *Proteus* sp., *Edwardsiella* sp., *Klebsiella* sp [17].

En este estudio los grupos identificados y seleccionados para la evaluación de corrosividad fueron *D. termitidis* y *E. coli* ya que ambos se extrajeron de una misma muestra de agua y presentaron el mayor porcentaje de homología.

Evaluación de la actividad bacteriana de las cepas seleccionadas

La Figura 1 representa la variación promedio de la concentración de sulfuros y pH de las cepas seleccionadas. Como puede observarse con *D. termitidis* la producción de sulfuro total fue significativa ya que se inició con 134 mg/L proveniente del inóculo, hasta 1087 mg/L a las 24 horas. Luego a las 60 horas disminuyó a 821 mg/L. Con respecto a *E. coli* K-12 se observa una variabilidad en

Tabla 2
Bacterias productoras de H₂S identificadas por ADN

Planta de agua	BRS	No-BRS
A	<i>Desulfovibrio termitidis</i> (99%),	<i>Escherichia coli</i> K-12 (100%)
	<i>Desulfovibrio oryzae</i> (99%)	<i>Clostridium bifermentans</i> (97%)
	N.I.	<i>Clostridium</i> Sp. (98%)
B	<i>Desulfovibrio oryzae</i> (99%)	N.I.
	N.I.	<i>Uncultured Bacteroides</i> sp. (94%).
	<i>Desulfovibrio vulgaris</i> (99%)	N.I.

N.I.: No identificada

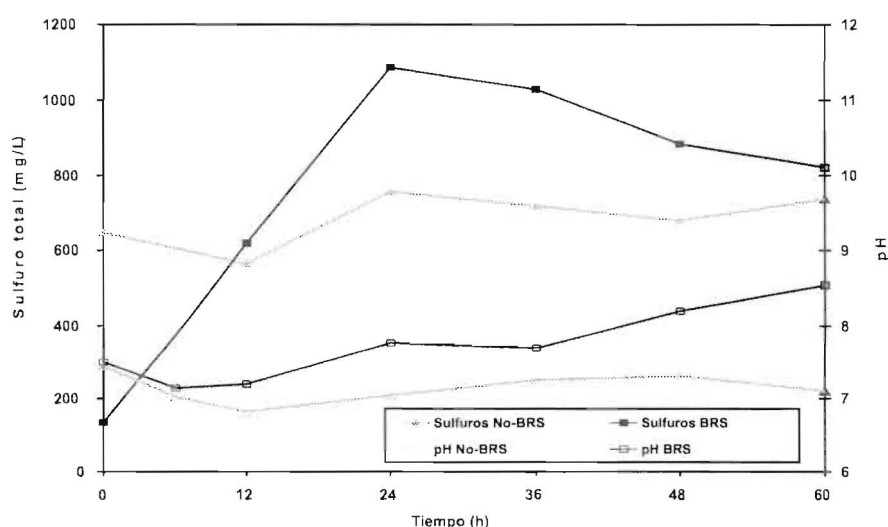


Figura 1. Sulfuro, pH vs tiempo de *D. termitidis* y *E. coli*

concentración de sulfuros, observando un máximo a las 24 horas con 757 mg/L, un descenso a las 36 h y leve incremento a las 60 horas a 737 mg/L. Esta variabilidad y baja concentración, indica que la proteólisis (descomposición proteínica) es compleja no sólo en su proceso enzimático sino por la generación de otros productos (CO₂, NH₄, aminas, H₂O, RCOOH's) además del H₂S [18]. Así la baja concentración del H₂S con respecto a las BRS posiblemente se deba a que éste es un subproducto del proceso fermentativo a diferencia de las BRS cuyo proceso de respiración genera como producto principal el H₂S.

La tendencia del pH para ambas bacterias se observa estable en un rango neutro para *E. coli* mientras que para *D. termitidis* ésta es más alcalina. Sin embargo, dada la relación de disociación del H₂S según el pH ($H_2S \leftrightarrow HS^- + S^{2-}$) en el rango neutro-alcalino la mayor permanencia es del HS⁻ [18, 19].

Tanto *E. coli* como *D. termitidis* generaron compuestos gaseosos sulfurados, lo cual fue comprobado por el ennegrecimiento de la solución ferrosa contenida en el frasco lavador de gases conectado a la celda electrolítica. Según el metabolismo bacteriano de las BRS el gas generado por estas bacterias es el H₂S, mientras que en *E. coli* posiblemente predominó el sulfuro dimetilico o mercaptanos, compuestos volátiles propios de la desulfuración orgánica, además del H₂S, siendo estos olores en conjunto mucho más fuertes que el

H₂S, en lo que a putrefacción se refiere [20]; por lo tanto es probable que la mayor cantidad de sulfuro se desprendió en fase gaseosa lo que explicaría, entre otros factores, los valores bajos a nivel de sulfuro disociado.

Evaluación de la corrosividad de *D. termitidis* y *E. coli*

El registro promedio del potencial de corrosión en circuito abierto del acero al carbono 5L grado X65 expuesto a *D. termitidis* durante 60 horas se observa en la Figura 2. En ésta se utilizó el artificio del tiempo negativo, a fin de darle continuidad al registro y considerar tiempo cero desde que se inoculó la celda. El potencial de corrosión promedio en la condición estéril fue algo estable en -700 mV vs ECS mientras que el inoculado fue inestable con cambios súbitos típicos de la actividad localizada sobre el sustrato en el cual se asocia con la formación de biopelículas y ataques localizados [21, 22]. Es necesario resaltar, que como no hay Fe⁺² en la solución inicial, el H₂S generado por la actividad desasimilatoria de la BRS tanto sésil como planetónica reaccionará directamente con el acero.

La Figura 3 representa el promedio de los registros del potencial de corrosión del acero al carbono expuesto a *E. coli*. Se observa que el desarrollo de la biopelícula promueve pocos cambios drásticos en el acero expuesto, y las fluctuaciones son más estrechas con menos cambios sú-

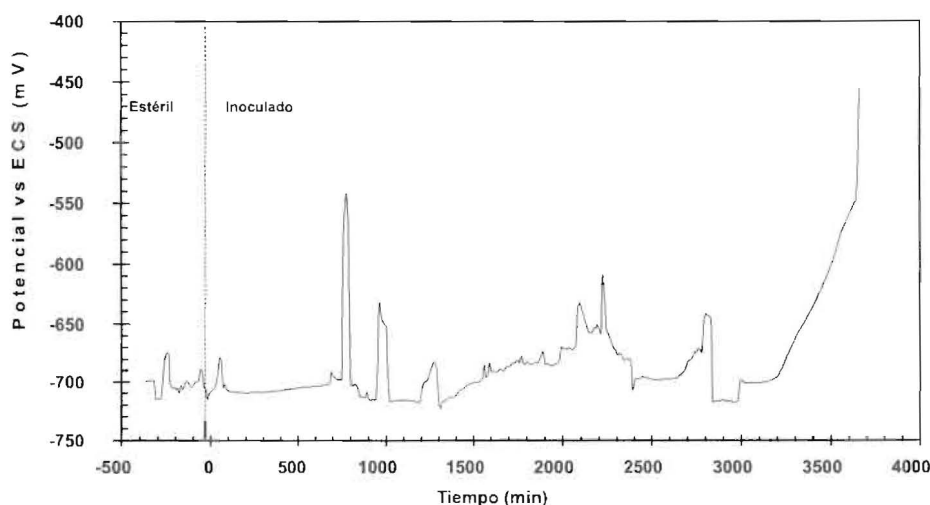


Figura 2. Potencial de corrosión promedio del acero al carbono en medio Postgate C modificado.

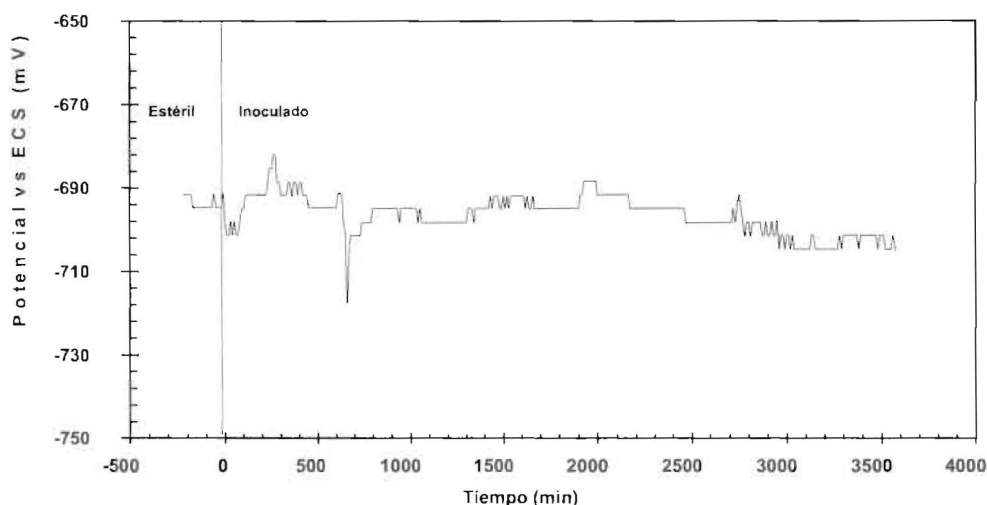


Figura 3. Potencial de corrosión promedio del acero al carbono en medio Peptona/Extracto de carne.

bitos que *D. termitidis*, indicando la formación de productos más estables.

La Figura 4 muestra los valores inversos de la Resistencia de polarización, los cuales reflejan la velocidad de corrosión general del material, destacándose como disminuye la corrosividad general del acero de 12 a 60 horas de actividad en ambas cepas, debido a la formación de productos que de alguna manera están funcionando como barrera a las especies corrosivas.

No obstante, es la evaluación de la superficie del material la que determinará la agresividad de cada una de las cepas ya que como es conocido entre las especie agresivas que ellas generan el

H_2S actúa localizadamente. Por otro lado, llama a atención el hecho de que la R_p haya sido comparable para ambas cepas cuando la producción de sulfuros fue superior en la BRS con respecto a la No-BRS, posiblemente debido a la resistencia de los productos formados sobre la superficie.

La evaluación duplicada por pérdida de peso, de los cupones extraídos de las celdas electroquímicas, reportó una velocidad de corrosión promedio para el acero de 182,21 y 107,72 mg/dm^2 día (mdd) expuesto a *D. termitidis* y *E. coli*, respectivamente (Figura 5). Esto, aunque también es general (Corrosión uniforme) refleja una diferencia importante entre ambas cepas

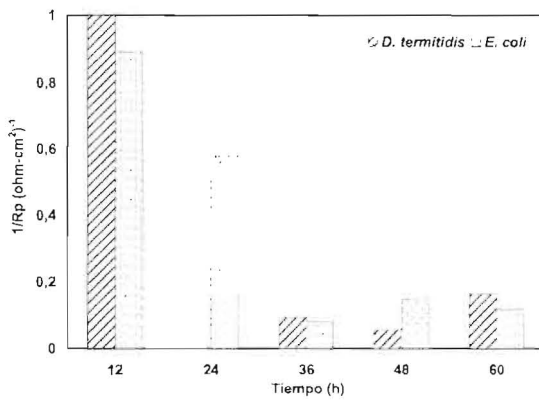


Figura 4. Inversa de la Resistencia de polarización del acero expuesto a *D. termitidis* y *E. coli*.

como era lo esperado en función de la producción de H₂S.

Evaluación de la superficie del material mediante MEB

La evaluación morfológica de los productos formados sobre el acero al carbono inmerso en medio con *D. termitidis* por 60 horas, indicó la formación de un producto frágil, estratificado y heterogéneo sobre toda la superficie (Figura 6); mientras que el producto generado por la cepa *E. coli*, presenta formaciones circulares, con una película más compacta y homogénea (Figura 7).

La Figura 8 muestra la biopelícula de *D. termitidis* formada a las 60 h, nótese la gran cantidad de productos entramados entre las células con morfología típica de vibrio y la Figura 9 a *E. coli*, con una morfología atípica, para el género, de espirilos entre los extractos del producto.

Las descripciones morfológicas de especies que exhiben variación fenotípica puede ser relacionado directamente a las condiciones ambientales en las que se desarrollan, las cuales pudiesen alterar el balance del sistema enzimático, en tal sentido la elongación compensaría las condiciones desfavorables. Estos eventos no implican de forma necesaria cambios genotípicos [23]. Así mismo, otros análisis aún no claros del todo asocian la morfología espirilo como un estado morfológico final, dado solo en grupos Gram negativos [23], tal como *E. coli*.

Las morfologías anteriores indican que ambos grupos desarrollaron biopelículas y ataques localizados, siendo mayores en el acero expuesto a *D. termitidis*, como era lo esperado según la pro-

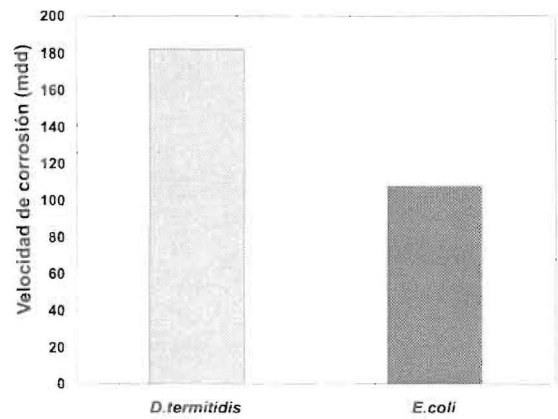


Figura 5. Velocidad de corrosión del acero expuesto a las cepas bacterianas.

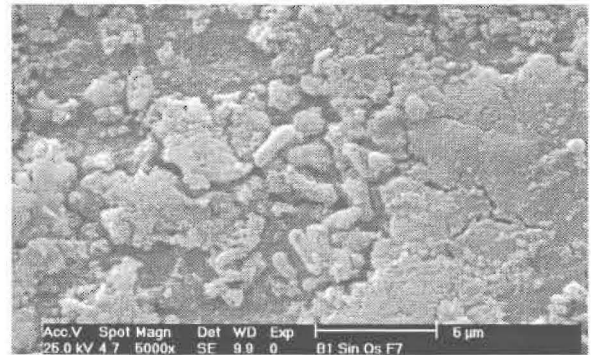


Figura 6. Productos sobre el acero expuesto a *D. termitidis* (5000X).

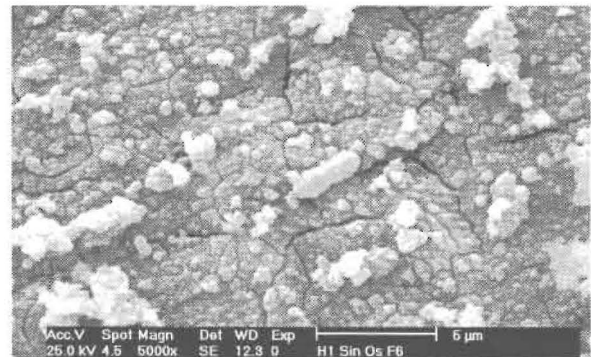


Figura 7. Productos sobre el acero expuesto a *E. coli* (5000X).

ducción de sulfuro y la pérdida de peso; no así con el estudio de Resistencia de polarización.

Las morfologías de ataque presentes en las muestras de acero expuestas por 60 h a las diferentes cepas se observan en las Figuras 10 y 11 destacando con mayor generalidad la severidad del acero expuesto a *D. termitidis*.

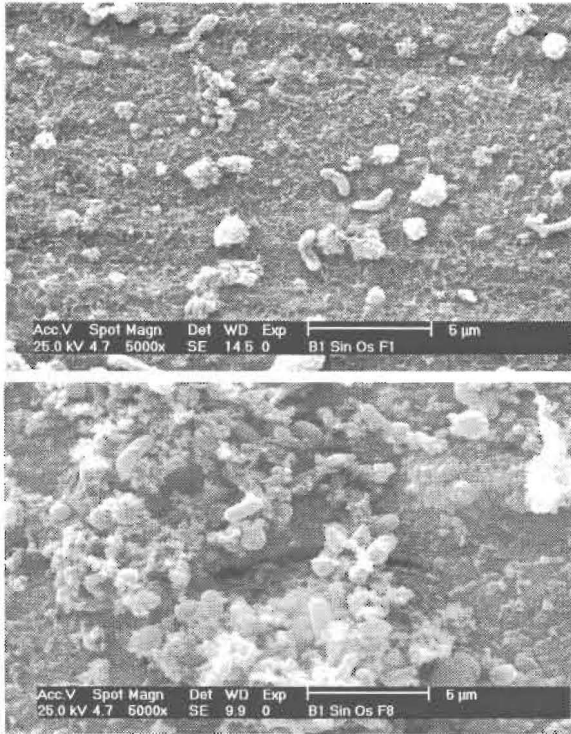


Figura 8. *D. termitidis* en acero expuesto por 60 h. (5000X).

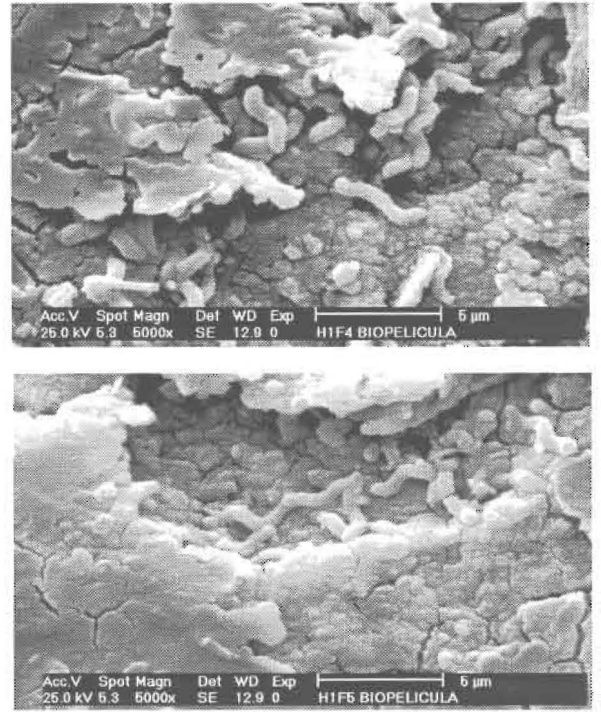


Figura 9. *E. coli* en acero expuesto por 60 h. (5000X).

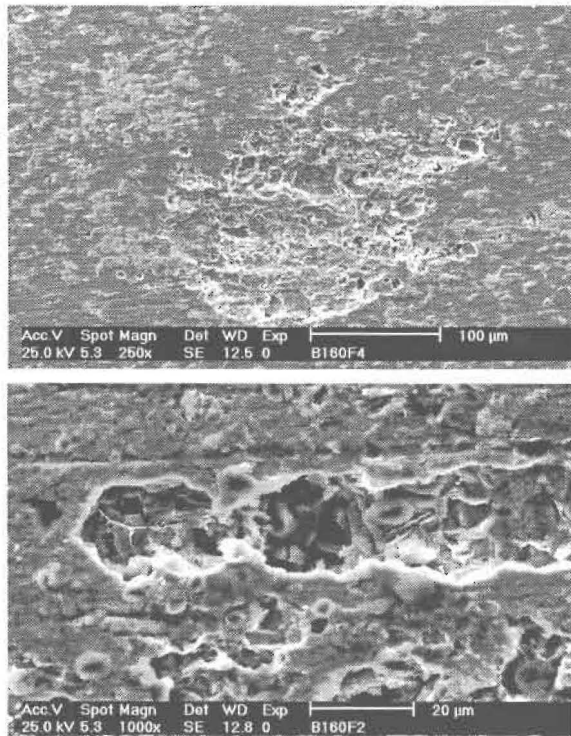


Figura 10. Acero expuesto a *D. termitidis*. (250X) y (1000X).

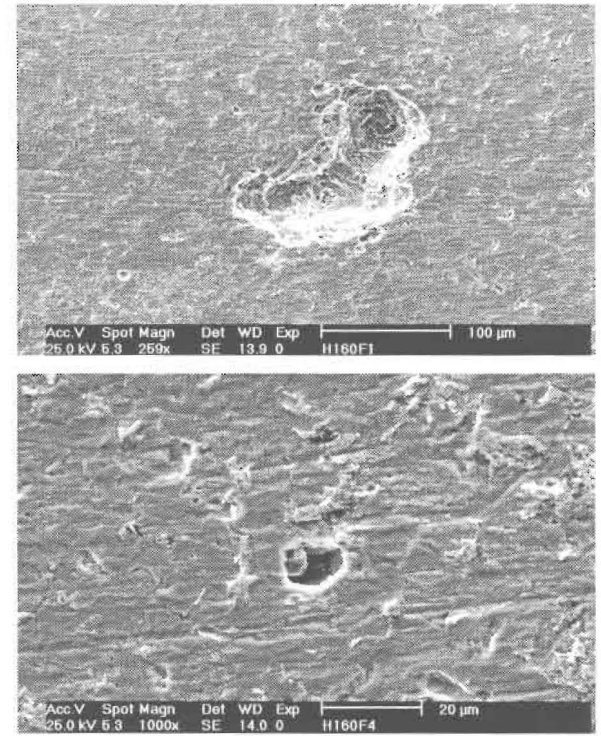


Figura 11. Acero expuesto a *E.coli*. (259X) y (1000X).

Conclusiones

En el agua de formación procedente, en este caso, de formaciones geológicas del occidente venezolano coexisten diferentes grupos anaerobios y anaerobios facultativos productores de H₂S, que incluyen especies BRS y No-BRS, entre los cuales se identificaron especies del género *Desulfovibrio*, *Escherichia coli*, *Clostridium* y *Bacteroides*. Cada una como cepas dominantes en muestras de aguas en periodos diferentes.

Las cepas *Desulfovibrio* *termitidis* y *Escherichia coli* K-12, identificadas de una misma muestra de agua, son capaces de afectar la resistencia a la corrosión del acero API 5L grado X65.

En este estudio la Resistencia de polarización no fue una técnica muy útil para diferenciar la corrosividad bacteriana sobre el acero API 5L grado X65.

La pérdida de peso en conjunto con MEB son técnicas útiles para establecer diferencias de corrosividad bacteriana (la pérdida de peso solo es utilizable en aceros al carbono).

La actividad corrosiva resultó ser mayor sobre el acero expuesto a la BRS evaluada (*D. termitidis*) que a la No-BRS (*E. coli*); no obstante, el significativo ataque localizado de la No-BRS y su metabolismo es importante tenerlo en cuenta para controlar los problemas de MIC.

Agradecimientos

Al laboratorio de Biodeterioro de la Universidad Politécnica de Madrid, por el soporte científico-económico en toda la investigación, así como al Proyecto FONACIT G2000001606 del Centro de Estudios de Corrosión de La Universidad del Zulia por financiar y respaldar una fase de esta investigación, al Centro de Investigaciones del Agua de La Universidad del Zulia, por cedernos un espacio para el desarrollo de la segunda fase experimental, al Ing. Ciro Gutiérrez del consorcio SIMCO por el apoyo logístico ante los requerimientos de muestreo en las instalaciones petroleras, a Edgar Valle de la empresa VALLE INSTRUMENTS y al Ing. Douglas Linares, Investigador del Centro de Estudios de Corrosión-LUZ, por todo el apoyo técnico con la instrumentación electrónica empleada.

Referencias Bibliográficas

1. Prasod R.: "Assessment and control of MIC in the Oil Industry in the 20th century". CORROSION'2000. Paper N° 390 (2000) 1-4.
2. Jones J., Little B., Mansfeld F.: "ESEM/EDS, SEM/EDS and EIS studies of coated 4140 steel exposed to marine, mixed microbial communities including SRB". International Power Generation Conference, Atlanta-Georgia. pp. 1-2, 1992.
3. Andrade S., Barillas E.: "Control y Monitoreo de Bacterias Sulfato Reductoras en aguas de Formación y agua del Lago de Maracaibo". Tesis Ingeniería, Universidad del Zulia, Venezuela. pp. 5-6, 1992.
4. Ávila A.: "Elaboración de estrategias para el control de corrosión en una plataforma de producción de crudo ubicada en el Lago de Maracaibo". Tesis Ingeniería, Universidad del Zulia, Venezuela. pp. 26-32, 1999.
5. Farquhar, G.: "Review and update of technology related to formation souring". CORROSION'97. Paper N° 210. pp. 1-9, 1997.
6. Revie R.W.: Uhlig's "Corrosion Handbook". 2da. Edition. (Electrochemical Society Series, John Wiley&Sons, INC, pp. 482-483, 2000.
7. Nemati M., Voordouw G.: "Identification and Characterization of Sulfate-Reducing Bacteria involved in Microbially Influenced Corrosion in Oil Fields". CORROSION'2000. Paper N° 126. pp. 1-2, 2000.
8. Rainha V., Fonseca T.: "Kinetic studies on the SRB Influenced Corrosion of Steel: A first approach". Corrosion Science, Vol. 39, N° 4. pp. 807-813, 1997.
9. Magot M., Carreaul L., Cayol J., Ollivier B., Crolet J.: "Sulphide-Producing, not Sulphate-Reducing Anaerobic Bacteria Presumptively Involved in Bacterial Corrosion". Proceedings of the 3rd International EFC workshop on Microbial Corrosion. The Institute of materials. London. pp. 293-300, 1994.
10. Crolet J., Magot M.: "Observations of Non SRB Sulfidogenic Bacteria from Oilfield Production Facilities". CORROSION'95. Paper N° 188, 1995.

11. Lie T., Godchaux W., Leadbetter E.: "Sulfonates as Terminal Electron Acceptors for Growth of Sulfite-Reducing Bacteria (*Desulfotobacterium* spp.) and Sulfate-Reducing Bacteria: Effects of Inhibitors of Sulfidogenesis". *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 65, N° 10, pp. 4611-4617, 1999.
12. NACE Publication "Microbiologically Influenced Corrosion and Biofouling in Oilfield Equipment". TPC3 1990.
13. NACE International. "Field Monitoring of Bacterial growth in oilfield systems". Standard test method. NACE TM0194-94, Item N° 21224. pp. 3-6, 1994.
14. Díaz R., Gamazo C., López-Goñi, I.: "Manual práctico de Microbiología". 2ª edición. MASSON, S.A. España. pp. 14-15, 2000.
15. Postgate J.R., FRS, "The Sulphate-reducing bacteria". Second edition. Cambridge university Press 1984.
16. Harnett N., Mangan L., Brow S., Krishnan C.: "Thermosensitive transfer to antimicrobial resistances and citrate utilization and co-transfer of H₂S production from a *Escherichia coli* isolate". *Diagnostic Microbiology Infect. Dis.*, Vol.24. pp. 173-178, 1996.
17. Pillai S., Widmer K., Dowd S., Ricke S.: "Occurrence of airborne Bacteria and Pathogen indicators during land application of sewage sludge". *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 62, N° 1. pp. 296-299, 1996.
18. Brock T. Madigan M.: "Microbiología". 6ª Edición. Editorial Prentice Hall Hispanoamericana C.A. México. pp. 630-635, 1993.
19. Rozenfeld J.L.: "Corrosion Inhibitors". McGraw-Hill Internacional. pp 276, 281, 1981.
20. Atlas R., Bartha R.: "Ecología microbiana y Microbiología ambiental". 4ª Edición. Editorial Addison Wesley, España. 422-425, 2002.
21. Dexter S., Duquette, Siebert O., Videla H.: "Use and limitations of electrochemical techniques for Investigating microbiological corrosion". *CORROSION*, Vol. 47, N° 4. 309, 1991.
22. Mansfeld F., Little B.: "A Technical review of electrochemical techniques applied to microbiologically influenced corrosion". *Corrosion Science*, Vol. 32, N° 3, 248, 1991.
23. Siefert J., Fox G.: "Phylogenetic mapping of bacterial morphology". *Microbiology*, Vol. 144, 2807, 1998.

Recibido el 10 de Marzo de 2003
En forma revisada el 04 de Mayo de 2004