

ENSAIO DE BIOCIDAS PARA POÇOS DE PETRÓLEO

Método de Ensaio

Cabe à CONTEC - Subcomissão Autora, a orientação quanto à interpretação do texto desta Norma. O Órgão da PETROBRAS usuário desta Norma é o responsável pela adoção e aplicação dos seus itens.

CONTEC

Comissão de Normas
Técnicas

Requisito Técnico: Prescrição estabelecida como a mais adequada e que deve ser utilizada estritamente em conformidade com esta Norma. Uma eventual resolução de não segui-la ("não-conformidade" com esta Norma) deve ter fundamentos técnico-gerenciais e deve ser aprovada e registrada pelo Órgão da PETROBRAS usuário desta Norma. É caracterizada pelos verbos: "dever", "ser", "exigir", "determinar" e outros verbos de caráter impositivo.

Prática Recomendada: Prescrição que pode ser utilizada nas condições previstas por esta Norma, mas que admite (e adverte sobre) a possibilidade de alternativa (não escrita nesta Norma) mais adequada à aplicação específica. A alternativa adotada deve ser aprovada e registrada pelo Órgão da PETROBRAS usuário desta Norma. É caracterizada pelos verbos: "recomendar", "poder", "sugerir" e "aconselhar" (verbos de caráter não-impositivo). É indicada pela expressão: **[Prática Recomendada]**.

Cópias dos registros das "não-conformidades" com esta Norma, que possam contribuir para o seu aprimoramento, devem ser enviadas para a CONTEC - Subcomissão Autora.

As propostas para revisão desta Norma devem ser enviadas à CONTEC - Subcomissão Autora, indicando a sua identificação alfanumérica e revisão, o item a ser revisado, a proposta de redação e a justificativa técnico-econômica. As propostas são apreciadas durante os trabalhos para alteração desta Norma.

"A presente Norma é titularidade exclusiva da PETRÓLEO BRASILEIRO S.A. – PETROBRAS, de uso interno na Companhia, e qualquer reprodução para utilização ou divulgação externa, sem a prévia e expressa autorização da titular, importa em ato ilícito nos termos da legislação pertinente, através da qual serão imputadas as responsabilidades cabíveis. A circulação externa será regulada mediante cláusula própria de Sigilo e Confidencialidade, nos termos do direito intelectual e propriedade industrial."

Apresentação

As normas técnicas PETROBRAS são elaboradas por Grupos de Trabalho - GTs (formados por especialistas da Companhia e das suas Subsidiárias), são comentadas pelos Representantes Locais (representantes das Unidades Industriais, Empreendimentos de Engenharia, Divisões Técnicas e Subsidiárias), são aprovadas pelas Subcomissões Autoras - SCs (formadas por técnicos de uma mesma especialidade, representando os Órgãos da Companhia e as Subsidiárias) e aprovadas pelo Plenário da CONTEC (formado pelos representantes das Superintendências dos Órgãos da Companhia e das suas Subsidiárias, usuários das normas). Uma norma técnica PETROBRAS está sujeita a revisão em qualquer tempo pela sua Subcomissão Autora e deve ser reanalisada a cada 5 anos para ser revalidada, revisada ou cancelada. As normas técnicas PETROBRAS são elaboradas em conformidade com a norma PETROBRAS N-1. Para informações completas sobre as normas técnicas PETROBRAS, ver Catálogo de Normas Técnicas PETROBRAS.

1 OBJETIVO

1.1 Esta Norma prescreve os métodos para avaliação da eficiência no controle de bactérias redutoras de sulfato (BRS) causadoras da corrosão microbiológica em aço-carbono e da toxicidade de produtos biocidas para fluidos base água na exploração e produção de poços de petróleo (ver normas PETROBRAS [N-2597](#), [N-2700](#) e ANEXO A desta Norma).

1.2 Esta Norma se destina à avaliação biocida e da toxicidade aguda de produtos utilizados no controle da corrosão em aço causada pelas bactérias redutoras de sulfato (BRS).

1.3 A avaliação é realizada pela aplicação dos Métodos A - Avaliação da Eficiência Biocida de Produtos e Método B - Avaliação da Toxicidade Aguda frente aos Organismos *Vibrio fischeri* e *Artemia sp*, Métodos B1 e B2, respectivamente.

1.4 Esta Norma se aplica a métodos iniciados a partir da data de sua edição.

1.5 Esta Norma contém Requisitos Técnicos e Práticas Recomendadas.

2 DOCUMENTOS COMPLEMENTARES

Os documentos relacionados nos itens 2.1 e 2.2 são citados no texto e contêm prescrições válidas para a presente Norma.

2.1 Referência Normativa

PETROBRAS N-2282	- Segurança em Teste de Formação e de Produção na Presença de Gás Sulfídrico (H ₂ S);
PETROBRAS N-2462	- Detecção de Bactérias Redutoras de Sulfato;
PETROBRAS N-2463	- Contagem de Bactérias Redutoras de Sulfato Plantônicas;
PETROBRAS N-2464	- Meios de Cultura e Fluidos para Bactérias Redutoras de Sulfato;
PETROBRAS N-2465	- Microbiologia;
PETROBRAS N-2588	- Determinação da Toxicidade Aguda de Agentes Tóxicos em Relação à <i>Artemia sp</i> ;
PETROBRAS N-2594	- Preparo de Amostra para Teste de Toxicidade;
PETROBRAS N-2597	- Função dos Produtos Químicos na Exploração e Produção de Petróleo;
PETROBRAS N-2700	- Biocidas para Poços de Petróleo;
ASTM - G1/90	- Practice for Preparing, Cleaning and Evaluation Corrosion Test Specimen, Annual Book of Standards Vol. 03.02 - Wear and Erosion, Metal Corrosion, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, 1997;
RT-07-05	- Preparation and Installation of Corrosion Coupons and Interpretation of Test Data in Oil Production NACE Publications RP-0775, Houston, 1975.

2.2 Patente

MICROBICS CORPORATION - *Microtox Manual Volume 3, Condensed protocols*, 1992 edition.

3 APARELHAGEM

3.1 Para o Método A - Avaliação da Eficiência Biocida

3.1.1 384 frascos de penicilina de 10 mL, contendo 9 mL de Meio Postgate “E” modificado e preparado na mesma salinidade do fluido base.

3.1.2 64 frascos de penicilina de 50 mL, contendo 45 mL de Meio Postgate “E” modificado e preparado na mesma salinidade do fluido base.

3.1.3 202 frascos de penicilina de 10 mL, contendo 9 mL de solução salina redutora preparada na mesma salinidade do fluido base.

3.1.4 48 frascos de penicilina de 50 mL estéreis.

3.1.5 48 corpos-de-prova de aço carbono SAE 1020 (dimensões: comprimento - 3,9 cm; largura - 1 cm; espessura - 0,3 cm).

3.1.6 48 septos de borracha butílica (diâmetro: 20 mm).

3.1.7 48 selos de alumínio (diâmetro: 20 mm).

3.1.8 1 seladora manual.

3.1.9 1 deslacrador manual.

3.1.10 48 fios de náilon (nº 06) de medidas de 15 cm (total 7,2 m).

3.1.11 16 pipetas “Pasteur”.

3.1.12 10 seringas estéreis descartáveis de 1 mL.

3.1.13 448 seringas estéreis descartáveis de 5 mL.

- 3.1.14 2 frascos de amostragem (tipo “Schott-Duran” ou similar) de 1 000 mL.
- 3.1.15 12 lâminas microscópicas.
- 3.1.16 12 lamínulas microscópicas.
- 3.1.17 1 micropipeta de volume de 2 mL a 10 mL.
- 3.1.18 1 micropipeta de volume de 10 mL a 100 mL.
- 3.1.19 48 ponteiras de 10 mL de volume.
- 3.1.20 48 ponteiras de 100 mL de volume.
- 3.1.21 1 cilindro de nitrogênio ultra-puro.
- 3.1.22 48 folhas duplas de lenço de papel.
- 3.1.23 48 tiras de papel “Kraft” (dimensões: comprimento - 15 cm; largura - 15 cm).
- 3.1.24 50 g de algodão não hidrófilo.
- 3.1.25 1 rolo de fita gomada (dimensões: comprimento - 50 m; largura - 25 mm).
- 3.1.26 2 pinças de metal.
- 3.1.27 15 espátulas de metal (dimensões: comprimento - 18 cm; largura - 20 mm).
- 3.1.28 1 dessecador PYREX 200 mm ou similar.
- 3.1.29 1 kg de sílica gel com indicador.
- 3.1.30 1 rolo de fita de tetrafluoretileno (dimensões: comprimento - 50 m; largura - 18 mm).
- 3.1.31 10 tubos de borracha de 30 cm.
- 3.1.32 1 microscópio ótico (com objetiva de 1 000 x).

3.1.33 1 balança analítica com precisão de 0,01 g.

3.1.34 1 estufa incubadora (capacidade 263 L).

3.1.35 1 fluxo laminar ou bico de “Bunsen”.

3.1.36 1 autoclave (capacidade 100 L).

3.1.37 1 destilador (vazão - 10 L/h).

3.1.38 1 misturador de haste única, com copo. A velocidade na haste do misturador deve situar-se na faixa de 16 000 rpm a 20 000 rpm, no ar. O eixo do misturador deve ser provida de 2 palhetas corrugadas, sendo a superior de diâmetro igual a $(2,85 \pm 0,05)$ cm e a inferior de diâmetro igual a $(2,50 \pm 0,05)$ cm. A distância entre elas deve ser de $(2,70 \pm 0,10)$ cm (“Hamilton Beach” ou similar).

3.2 Para o Método B - Avaliação de Toxicidade Aguda Frente aos Organismos *Vibrio* *Fisheri* e *Artemia* sp

3.2.1 B-1 Teste de Toxicidade em *Artemia* sp (8 Concentrações-teste)

3.2.1.1 24 béqueres de 30 mL de vidro borossilicato.

3.2.1.2 1 pipeta Pasteur de ponta longa e arredondada.

3.2.1.3 1 bandeja para acomodação dos frascos.

3.2.1.4 1 caixa de lenço de papel.

3.2.1.5 1 pipeta volumétrica de 10 mL.

3.2.1.6 7 balões de vidro de 100 mL.

3.2.2 B-2 - Teste de Toxicidade com *Vibrio* *Fisheri*

Consultar o manual do equipamento ¹⁾ Microtox® da Microbics Corporation (ver item 2.2).

¹⁾ MICROTOX é o nome comercial de um equipamento distribuído pela MICROBICS CORPORATION. Esta informação é dada para facilitar aos usuários na utilização desta Norma e não significa uma recomendação do equipamento citado por parte da PETROBRAS. É possível ser utilizado equipamento equivalente, desde que conduza a resultado igual.

4 COMPONENTES

4.1 Para o Método A

4.1.1 Água do mar sintética, conforme norma PETROBRAS [N-2464](#).

4.1.2 Meio de cultura para bactérias redutoras de sulfato mesófilas (m-BRS) - Postgate "E" modificado, com a mesma salinidade do fluido base, conforme norma PETROBRAS [N-2464](#).

4.1.3 Solução redutora para diluição e manutenção, com a mesma salinidade do fluido base (ver norma PETROBRAS [N-2464](#)).

4.1.4 Amostra do produto ou base ativa biocida a ser aplicada no fluido.

4.1.5 Reagentes que compõem o fluido que se deseja avaliar.

4.1.6 Água destilada, desmineralizada ou deionizada.

4.1.7 Cloreto de sódio (NaCl), pa.

4.1.8 Cloreto de magnésio (MgCl₂), pa.

4.1.9 Cloreto de cálcio (CaCl₂), pa.

4.2 Para o Método B

Água do mar sintética, conforme norma PETROBRAS [N-2588](#).

5 CONDIÇÕES GERAIS

5.1 Todo material utilizado para o preparo de cultura teste deve ser esterilizado previamente.

5.2 O preparo da cultura-teste deve ser realizado sob condições estéreis em capela de fluxo laminar.

6 ENSAIOS

6.1 Método A - Avaliação da Eficiência Biocida

6.1.1 Preparo dos Materiais

Os septos de borracha butílica, frascos de penicilina previamente selados, espátulas, tubos de borracha, pipetas "Pasteur", béqueres e fios de náilon são esterilizados em autoclave, à 121 °C por 15 minutos.