



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS TABASCO

POSTGRADO EN PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO

**COMPOSICIÓN GLOBAL DE HIDROCARBUROS DERIVADOS DEL  
PETRÓLEO EXTRAÍDOS DE SUELOS CONTAMINADOS POR EL MÉTODO  
QuEChERS**

**BERTHA LILA DE LOS SANTOS RICARDEZ**

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS**

H. CÁRDENAS, TABASCO, MÉXICO

2014

La presente tesis titulada: **COMPOSICIÓN GLOBAL DE HIDROCARBUROS DERIVADOS DEL PETRÓLEO EXTRAÍDOS DE SUELOS CONTAMINADOS POR EL MÉTODO QuEChERS**, realizada por la alumna: **BERTHA LILA DE LOS SANTOS RICARDEZ**, bajo la dirección del consejo particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS**

**EN PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO**

**CONSEJO PARTICULAR**

**CONSEJERO:**

  
**DR. ARMANDO GUERRERO PEÑA**

**ASESOR:**

  
**DR. JOEL ZAVALA CRUZ**

**ASESOR:**

  
**DR. ALEJANDRO ALARCON**

H, Cárdenas, Tabasco, México, 31 de Julio de 2014

## AGRADECIMIENTOS

A DIOS por su gran y maravilloso amor, por sus bendiciones recibidas y porque me permitió concluir este proyecto.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento económico otorgado para la realización de mis estudios de Maestría en el Colegio de Postgraduados.

Al Colegio de Postgraduados, por darme la oportunidad de continuar con mi formación profesional y por su infraestructura proporcionada.

A los docentes que compartieron sus conocimientos y al personal administrativo siempre dispuesto ayudar.

Al Dr. Armando Guerrero Peña, por su apoyo, paciencia y el tiempo dedicado al desarrollo de esta investigación, así como su amistad.

Al Dr. Joel Zavala Cruz por su amable colaboración y sus valiosos comentarios para la mejora de este proyecto.

Dr. Alejandro Alarcon por su contribución al bien de este trabajo.

Al personal del Laboratorio de Suelos (LASPA) del Campus Tabasco, en especial a la Sra. Martha, Sr. Bernardo y Sr. Esteban, por su sincera amistad, sus sabios consejos, por compartir sus conocimientos y por el apoyo brindado durante mi estancia.

A Iliana por su valiosa amistad y porque siempre en cada momento estuvo dispuesta apoyarme profesional y moralmente.

A todos mis compañeros de generación por los buenos y malos momentos compartidos, gracias por su amistad (Gaby, Evelin, Nelva, Nohemí, Ana, Roger, Luis, Alejandro, Julio...).

A mis queridos amigos que conocí en este caminar, gracias por su apreciada amistad.

A todas y cada una de las personas que han estado conmigo cuando más los he necesitado  
MIL GRACIAS.

## DEDICATORIA

A Dios por estar conmigo todo este tiempo, por cuidarme y por otorgarme la capacidad de aprender cosas nuevas.

A mis padres Efrain y Olga, que sin dudar me han brindado su amor y confianza, porque cada momento han estado conmigo, por sus sabios consejos los cuales han sido clave para mi crecimiento como hija, hermana, persona y profesionista. Gracias...Los Amo.

A mis hermanos Esau y Adi que son parte importante en mi vida, por estar unidos a pesar de todo y son ellos que me inspiran para seguir creciendo.  
¡Los amo mucho!

A aquellas personas que por alguna razón no pudieron ver concluido su proyecto.

## CONTENIDO

|  |      |
|--|------|
| AGRADECIMIENTOS.....   | iii  |
| DEDICATORIA.....   | iv   |
| ÍNDICE DE CUADROS .....  | viii |
| ÍNDICE DE FIGURAS .....  | ix   |
| RESUMEN.....   | xi   |
| ABSTRACT .....   | xii  |
| CAPÍTULO I.....  | 1    |
| INTRODUCCIÓN GENERAL .....   | 1    |
| 1.1. OBJETIVO GENERAL.....   | 3    |
| 1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....   | 3    |
| 1.3. HIPÓTESIS .....   | 3    |
| CAPÍTULO II.....   | 4    |
| REVISIÓN DE LITERATURA .....   | 4    |
| 2.1. Definición y características del petróleo crudo.....  | 4    |
| 2.2. El suelo y sus propiedades .....  | 8    |
| 2.3. Contaminación del suelo por hidrocarburos del petróleo .....  | 10   |
| 2.4. Normatividad ambiental .....  | 12   |
| 2.5. Técnicas para la extracción, análisis, cuantificación y clasificación de hidrocarburos<br>totales y derivados del petróleo en suelos..... | 13   |
| 2.6. Fundamentos de la espectroscopia ultravioleta visible (UV-VIS).....   | 15   |
| 2.6.1. Regiones del espectro Ultravioleta-Visible.....   | 16   |
| 2.6.2. Longitud de onda y frecuencia .....   | 17   |
| 2.6.3. Origen de los espectros UV-visible.....   | 18   |
| 2.6.4. Transmitancia y absorbancia .....   | 18   |
| 2.7. Método QuEChERS.....  | 19   |
| 2.8. Análisis quimiométrico.....   | 22   |
| 2.8.1. Análisis de Componentes Principales .....   | 23   |
| 2.9. LITERATURA CITADA .....   | 25   |

|   |    |
|---|----|
| CAPÍTULO III .....  | 35 |
| MATERIALES Y MÉTODOS.....   | 35 |
| 3.1. Trabajo de campo.....  | 35 |
| 3.1.1. Localización del sitio de muestreo .....   | 35 |
| 3.1.2. Herramientas usadas en el muestreo .....   | 36 |
| 3.1.3. Muestreo de los suelos .....   | 36 |
| 3.1.4. Características de los suelos en estudio.....  | 38 |
| 3.1.4.1. Arenosol Háptico (Dístrico) (ARha (dy) .....   | 38 |
| 3.1.4.2. Gleysol Mólico (Éútrico, Sódico) GLmo (euso) .....   | 39 |
| 3.1.4.3. Histosol Rhéico Sáprico (éútrico tóxico sódico) .....  | 39 |
| 3.2. Trabajo de laboratorio.....  | 40 |
| 3.2.1. Reactivos usados en la extracción.....   | 40 |
| 3.2.2. Preparación de las muestras .....  | 40 |
| 3.2.3. Prueba de homogeneidad .....   | 40 |
| 3.3. Determinación de la Composición Global de Hidrocarburos derivados del petróleo en muestras de suelos contaminados con el Método QuEChERS ..... | 42 |
| 3.3.1. Procedimiento del método QuEChERS .....  | 42 |
| 3.3.2. Configuración instrumental: barridos espectrales de las muestra con espectroscopia UV- Vis.....  | 44 |
| 3.4. Análisis quimiométricos y estadísticos.....  | 45 |
| 3.5. Diseño experimental .....  | 46 |
| 3.6. LITERATURA CITADA .....  | 49 |
| CAPITULO IV .....   | 51 |
| COMPOSICIÓN GLOBAL DE HIDROCARBUROS DERIVADOS DEL PETRÓLEO EXTRAÍDOS POR EL MÉTODO QUECHERS.....  | 51 |
| 4.1. Resumen .....  | 51 |
| 4.2. Abstract.....  | 52 |
| 4.3. Introducción.....  | 53 |
| 4.4. Materiales y métodos.....  | 55 |
| 4.4.1. Muestreo de Suelos .....   | 55 |

|   |    |
|---|----|
| 4.4.2. Preparación de las muestras de suelo.....  | 55 |
| 4.4.3. Prueba de homogeneidad .....   | 55 |
| 4.4.4. Procedimiento de extracción QuEChERS .....   | 57 |
| 4.4.5. Análisis de la composición global de hidrocarburos derivados del petróleo.....                             | 57 |
| 4.4.6. Análisis estadístico .....   | 59 |
| 4.5. Resultados.....  | 60 |
| 4.5.1 Efecto de los factores tiempo y solvente sobre la extracción de componentes globales de hidrocarburos ..... | 65 |
| 4.5.2. Suelo Arenosol.....  | 66 |
| 4.5.3. Suelo Gleysol .....  | 67 |
| 4.5.4. Suelo Histosol.....  | 69 |
| 4.6. Discusión .....  | 71 |
| 4.6.1. Suelo Arenosol.....  | 71 |
| 4.6.2. Suelo Gleysol .....  | 72 |
| 4.6.3. Suelo Histosol.....  | 72 |
| 4.7. LITERATURA CITADA.....   | 74 |
| CONCLUSIÓN GENERAL.....   | 78 |

## ÍNDICE DE CUADROS

|  |    |
|--|----|
| Cuadro 1. Clasificación de partículas del suelo según su grosor.....   | 8  |
| Cuadro 2. Características de los sitios seleccionados.....   | 36 |
| Cuadro 3. Propiedades físicas-químicas de los disolventes usados .....   | 40 |
| Cuadro 4. Prueba de homogeneidad mediante la tecnología NIRS y análisis quimiométricos de los resultados.....  | 41 |
| Cuadro 5. Factores y niveles en estudio por tipo de suelo .....  | 47 |
| Cuadro 6. Diseño Experimental.....   | 48 |
| Cuadro 7. Descripciones de los sitios de muestreo y grado de contaminación visual .....  | 55 |
| Cuadro 8. Prueba de homogeneidad mediante la tecnología NIRS y análisis quimiométricos de los resultados.....  | 56 |
| Cuadro 9. Propiedades físicas de los disolventes usados en la extracción de hidrocarburos derivados del petróleo.....                                  | 57 |
| Cuadro 10. Variables y niveles en estudio .....  | 58 |
| Cuadro 11. Identificación de especies derivadas del petróleo extraídas con el método QuEChERS e identificadas en el espectro ultravioleta-visible..... | 61 |
| Cuadro 12. Valores del componente principal uno de la composición global de hidrocarburos derivados del petróleo en suelo Arenosol.....                | 64 |
| Cuadro 13. Valores del componente principal uno de la composición global de hidrocarburos derivados del petróleo en suelo Gleysol.....                 | 64 |
| Cuadro 14. Valores del componente principal uno de la composición global de hidrocarburos derivados del petróleo en suelo Histosol .....               | 65 |
| Cuadro 15. Resultados del ANAVA para cada uno de los tres suelos en estudio.....   | 65 |



## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 1 . Estructura química de hidrocarburos del petróleo (UNEP 1992; Weisman, 1998).<br>.....  | 7  |
| Figura 2. Empresas involucradas en emergencias ambientales de 2003-2006.....  | 10 |
| Figura 3. Regiones del espectro electromagnético .....  | 16 |
| Figura 4. Diagrama de la absorción de un haz que atraviesa un recipiente.....   | 19 |
| Figura 5. Diagrama de las actividades de investigación.....   | 35 |
| Figura 6. Ubicación de los sitios de muestreos .....  | 37 |
| Figura 7. Aspecto del derrame de petróleo crudo en el ejido El Yucateco, en el sitio 1.....   | 38 |
| Figura 8. Espectroscopio NIRs. Modelo Versatile Agri Analyzer TM 6500 .....   | 41 |
| Figura 9. Etapa de extracción en el procedimiento de extracción QuEChERS.....   | 43 |
| Figura 10. Etapa de limpieza en el procedimiento de extracción QuEChERS.....  | 44 |
| Figura 11. Espectrofotómetro UV- VISIBLE. Modelo Lambda 10 .....  | 45 |
| Figura 12. Espectros ultravioleta-visible de los extractos obtenidos con el método<br>QuEChERS con cada uno de los solventes en las tres muestras de suelo. ....  | 63 |
| Figura 13. Diagramas de caja y bigote y medias del factor tiempo en suelo Arenosol.<br>Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes (Tukey, $p < 0.05$ ). ...  | 66 |
| Figura 14. Diagramas de caja y bigote y prueba de medias del factor solventes en suelo<br>Arenosol. Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes (Tukey, $p <$<br>$0.05$ ). A: Hexano; B: Diclorometano y C: Acetonitrilo..... | 67 |
| Figura 15. Diagramas de caja y bigote y medias del factor tiempo en suelo Gleysol. Medias<br>con distinta letra son estadísticamente diferentes (Tukey, $p < 0.05$ ).....   | 68 |
| Figura 16. Diagramas de caja y bigote y medias del solvente suelo Gleysol. Medias con<br>distinta letra son estadísticamente diferentes (Tukey, $p < 0.05$ ). A: Hexano; B:<br>Diclorometano y C: Acetonitrilo. ....                        | 68 |
| Figura 17. Diagramas de caja y bigote y medias del factor tiempo en suelo Histosol. Medias<br>con distinta letra son estadísticamente diferentes (Tukey, $p < 0.05$ ).....  | 69 |

Figura 18. Diagramas de caja y bigote y medias del factor solventes en suelo Histosol. Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes (Tukey,  $p < 0.05$ ). A: Hexano; B: Diclorometano y C: Acetonitrilo. .... 70

# COMPOSICIÓN GLOBAL DE HIDROCARBUROS DERIVADOS DEL PETRÓLEO EXTRAÍDOS DE SUELOS CONTAMINADOS POR EL MÉTODO QuEChERS

Bertha Lila De Los Santos Ricardez, MC.

Colegio de Postgraduados, 2014

## RESUMEN

El desarrollo industrial a nivel mundial está en constante crecimiento. En México, la industria del petróleo ha generado graves problemas al ambiente, dañando los sitios donde se encuentran ubicadas las infraestructuras petroleras. Actualmente se desarrollan método y/o técnicas para estudiar la severidad de la contaminación ocasionada por los hidrocarburos y derivados del petróleo en el suelo. El análisis de los hidrocarburos en muestras de suelo es una determinación muy importante para los estudios ambientales. Para la determinación de los hidrocarburos totales del petróleo existen diversas metodologías entre ellas la más utilizada es la extracción Soxhlet, que incluyen diversas etapas para su determinación. Sin embargo estas etapas destruyen la muestra, el uso de reactivos es alto, requieren de mucho tiempo, mano de obra intensiva y el proceso es complicado y costoso. En la actualidad se han desarrollado técnicas instrumentales y analíticas que implican que los procesos sean más fáciles en su procedimientos, entre los método instrumentales podemos citar la espectroscopia de UV-Visible. La elección de la metodología analítica es siempre la parte más importante, ya que de ahí depende la cuantificación y clasificación del analito de interés. El método QuEChERS es una metodología que incluye diversas etapas facilitando así los procesos de extracción. A partir de esto el objetivo del presente trabajo fue adaptar la metodología de extracción QuEChERS, además de optimizar los tiempos de extracción, eligiendo así el mejor solvente de extracción según las características física y químicas de los suelos en estudio. Se realizó lecturas en el Espectro UV-Visible para determinar las especies en cada una de las muestras y posterior a esto se realizó un análisis quimiométrico utilizando la técnica de Análisis de Componentes Principales (PCA) para conocer el comportamiento de los tratamientos por suelo.

Palabras claves: QuEChERS, quimiometría, Análisis de Componentes Principales (PCA), Espectro UV-Visible, técnicas instrumentales y analíticas.

# GLOBAL OIL COMPOSITION OF PETROLEUM CONTAMINATED SOIL EXTRACTED BY THE METHOD QuEChERS

Bertha Lila De Los Santos Ricardez, MC.

Colegio de Postgraduados, 2013

## ABSTRACT

The industrial development worldwide is constantly growing. In Mexico, the oil industry has created serious problems for the environment, damaging the sites are located where infrastructure. Currently method and / or techniques are developed to study the severity of pollution by oil and petroleum in the ground. The analysis of hydrocarbons in soil samples is a very important determination for environmental studies. For determination of total petroleum hydrocarbons are various methods including the most commonly used is Soxhlet extraction, which include various steps for determination. However, these steps destroy the sample; reagent use is high, requiring time consuming, labor intensive and expensive process complicated. Currently have developed analytical and instrumental techniques involving processes easier in its procedures, including instrumental method we can cite the UV-Visible Spectroscopy. The choice of analytical methodology is always the most important part, since there depends on the quantification and classification of the analyte of interest. The QuEChERS method is a methodology that includes various stages facilitating the extraction processes. From this, the objective of this study was to adapt the QuEChERS extraction methodology and optimize extraction times and selecting the best extraction solvent according to the physical and chemical characteristics of the soils studied. Readings in the UV-Visible spectrum was performed to determine the concentration in each sample and after this a chemometric analysis using the technique of Principal Component Analysis (PCA) for the behavior of soil treatments was performed.

Keywords: QuEChERS, chemometrics, Principal Component Analysis (PCA), UV-Visible spectrum, instrumental and analytical techniques.

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN GENERAL

La industria del petróleo a nivel mundial se ha desarrollado aceleradamente, generando diversas actividades económicas. Su expansión y actividad, ha dado origen a graves problemas ambientales (BID, 1991; Pinkus y Contreras, 2012), las cuales se derivan de contingencias ambientales, con repercusiones a la salud de la población y al equilibrio ecológico de los ecosistemas (García y García, 2003). Estas alteraciones en el ambiente han ocasionado el deterioro a los cuerpos de agua, suelos, aire, flora y fauna (Al-Mutairi *et al.*, 2008); debido al manejo inadecuado y abandono de materiales y residuos peligrosos, mantenimiento escaso o incorrecto a instalaciones petroleras; explosiones en instalaciones de alto riesgo (Adams *et al.*, 1999); fugas en líneas de conducción; toma clandestina de combustibles, desbordamiento de presas de descargas de pozos, accidentes durante el transporte de combustibles y otros productos procesados y derrames de hidrocarburos, entre otras (CENAPRED, 2001; PROFEPA, 2002).

Los hidrocarburos totales del petróleo incluyen una serie de derivados los cuales al encontrarse en gran cantidad pueden causar daño al medio donde están presentes (Quiñones, 2003), ya que se encuentran todas las formas de hidrocarburos, incluyendo los alcanos, alquenos, alquinos, aromáticos y compuestos con heteroátomos (UNEP, 1992). Además de estos se presentan otras formas de compuestos como los asfáltenos que al aumentar su peso molecular se dificulta su identificación química ya que son estructuras muy complejas (Speight, 1998; Mullins *et al.*, 2007).

La US-EPA (*Environmental Protection Agency Of United States*) posee una serie de metodología y procedimientos para la extracción, análisis, cuantificación y clasificación de hidrocarburos totales y derivados del petróleo, esto se debe a que se consideran contaminantes tóxicos (Botello *et al.*, 1996; NAS, 2003). Sin embargo, su estudio se complica ya que las metodologías existentes, son muy costosas y tediosas de realizar

(Raynie, 2006). En la actualidad se han implementado nuevas técnicas de extracción, con el objetivo de agilizar el proceso de análisis incluyendo su clasificación y cuantificación de los mismos (Durovic y Dordevic, 2011).

El desarrollar metodologías rápidas y eficaces de utilizar, facilita el trabajo. El método QuEChERS es una nueva alternativa que contribuye con el análisis de muestras estudiando diferentes matrices en las cuales se pueden obtener diversidad de compuestos. Esta técnica ha tenido gran importancia en el campo de la experimentación, ya que el objetivo de esta metodología es obtener resultados confiables con menor manipulación de la muestra y menor error analítico.

## **1.1. OBJETIVO GENERAL**

Adaptar el método de extracción QuEChERS para la evaluación cualitativa de los componentes globales de hidrocarburos derivados del petróleo presente en suelos con características físicas y químicas diferentes.

## **1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Optimizar y adaptar la metodología QuEChERS para la extracción de los componentes globales de hidrocarburos según el tipo de suelo, solvente y tiempo de extracción.
- Evaluar cualitativamente los componentes globales de hidrocarburos presentes en las muestras utilizando el método QuEChERS.

## **1.3. HIPÓTESIS**

El método QuEChERS tiene la capacidad para extraer los componentes globales de hidrocarburos presentes en extractos de suelos contaminados con petróleo, y de esta manera facilitar su evaluación cualitativa en los suelos del Trópico Húmedo. Además de la fácil adaptabilidad del método en el laboratorio.

## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1. Definición y características del petróleo crudo

Los crudo del petróleo son mezclas complejas de moléculas de carbonos e hidrógenos, el número de carbonos en su estructura química determina su clasificación. Algunos compuestos pueden presentar en su estructura hasta 60 átomos de carbono, en sus diferentes conformaciones (Weisman, 1998). Los hidrocarburos constituyen del 50-98% de la composición total del petróleo, entre los cuales se incluyen: los hidrocarburos alifáticos saturados (alcanos, cicloalcanos y alcanos ramificados); hidrocarburos alifáticos insaturados (alquenos y alquinos); los hidrocarburos aromáticos con al menos un anillo bencénico en su estructura (Rubinson y Rubinson, 2001; Chang y College, 2002; Botello, 2005) y además compuestos con presencia de azufre, oxígeno, nitrógeno en su molécula y trazas de metales como hierro, cromo, níquel y vanadio, cuya mezcla constituye el petróleo crudo (UNEP, 1992).

Los electrones de los anillos aromáticos pueden tener una débil atracción con enlaces polares de otras moléculas, lo cual los hace excelentes solventes orgánicos (Botello 2005). La unión de dos anillos bencénicos produce hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) (Mager *et al.*, 1998); dichos compuestos son de interés ambiental y de salud pública en relación con sus propiedades carcinogénicas como es el caso del 3-4 benzopireno (Kanaly y Harayama, 2000).

La molécula básica de hidrocarburo consta de un átomo de carbono unido a cuatro átomos de hidrógeno llamada metano. Todas las demás variedades de hidrocarburos de petróleo se forman a partir de esta molécula (Lesser y Saval, 2001). Los hidrocarburos que tienen hasta cuatro átomos de carbono suelen ser gases; si tienen entre 5 y 19, son generalmente líquidos, y cuando tienen 20 o más, son sólidos. La composición elemental aproximada del petróleo es de 84 a 87% de carbono, alrededor de 11 a 14% de hidrógeno,



más o menos 0 a 2,5% de azufre y 0 a 0,2% de nitrógeno (Kraus, 2005), estos últimos elementos, junto con el oxígeno y algunos metales como vanadio, níquel, sodio, arsénico y otros son considerados como impurezas en el crudo (Weisman, 1998).

Entre las características más importantes del petróleo se encuentra la coloración, olor, peso específico, viscosidad, solubilidad (Kraus, 2010), densidad (Wauquier, 2004), polaridad e hidrofobicidad.

Las propiedades del petróleo como viscosidad, densidad, punto de fusión y color pueden variar ampliamente, y provocan que el análisis final o elemental varíe en un rango estrecho para un gran número de muestra de petróleo (Gary y Handwerk, 2003). El contenido de carbono es relativamente constante, mientras que el contenido de hidrógeno y de heteroátomos son responsables de las principales diferencias entre las muestras de petróleo (Speight, 2007). El nitrógeno, oxígeno y azufre pueden estar presentes sólo en cantidades traza en algunos tipos de compuestos principalmente de hidrocarburos.

De estas consideraciones del petróleo se derivan diferentes tipos de componentes del petróleo y se forma la clasificación de los compuestos (Figura 1).

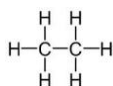
### HIDROCARBUROS SATURADOS

#### n- alcanos

Metano  $\text{CH}_4$



Etano  $\text{C}_2\text{H}_6$

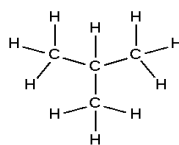


Alcano lineal

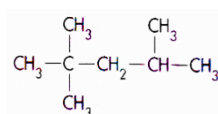
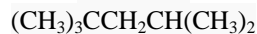


#### Isoalcanos

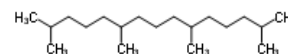
Isobutano



Iso-octano

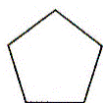


Pristano

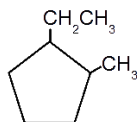


### Cicloalcanos

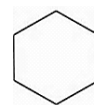
Ciclopentano  $C_5H_{10}$



1-Etil-2metilciclopentano



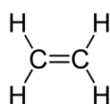
Ciclohexano  $C_6H_{12}$



### HIDROCARBUROS INSATURADOS

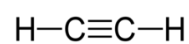
#### Alquenos (olefinas)

Eteno



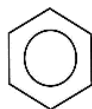
#### Alquinos

Acetileno

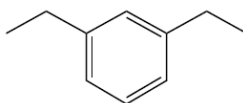


### HIDROCARBUROS AROMÁTICOS

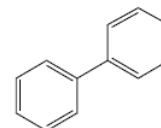
Benceno



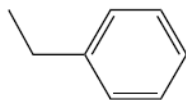
Dietilbenceno



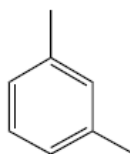
Difenilo



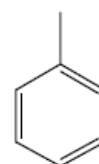
Etilbenceno



m-xileno

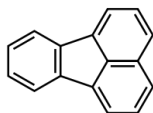


Tolueno

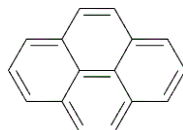


### HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS (HAPs)

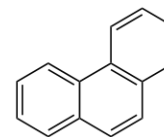
Fluoranteno



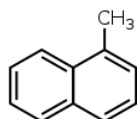
Pireno



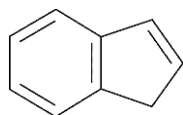
Fenantreno



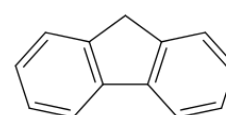
1-metil-naftaleno



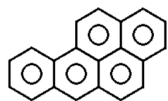
Indeno



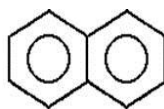
Fluoreno



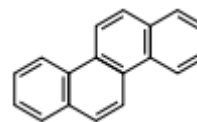
Benzoantraceno



Naftaleno



Criseno



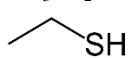
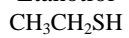
## COMPUESTOS CON PRESENCIA DE AZUFRE, NITRÓGENO Y OXÍGENO

### COMPUESTOS DE AZUFRE

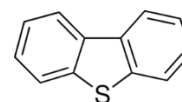
Tiofeno



Etanotiol



Dibenzotiofeno

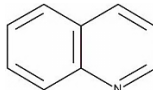


### COMPUESTOS NITROGENADOS

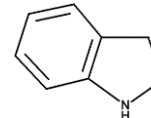
Piridina



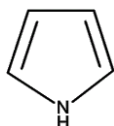
Quinolina



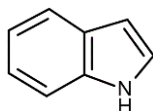
Indolina



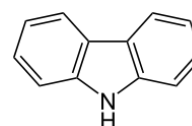
Pirrol



Indol

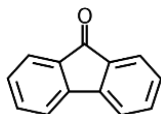


Carbazol

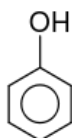


### COMPUESTOS OXIGENADOS

Fluorenona



Fenol



Dibenzofurano

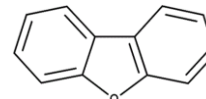


Figura 1 . Estructura química de hidrocarburos del petróleo (UNEP, 1992; Weisman, 1998).

## 2.2. El suelo y sus propiedades

El suelo es una entidad natural, dinámica y viva con una influencia clave sobre el ecosistema (Real, 2009). Considerado como la capa más superficial de la corteza terrestre, constituye uno de los recursos naturales más importantes que sustenta la vida del planeta (Ortiz *et al.*, 2010). Fernández *et al.* (2006) menciona que esta concepción hace del suelo un recurso natural no renovable y de importancia como hábitat. Por tal motivo debe ser preservado y de ser posible incrementar su calidad (Real, 2009). Además, Casanova (2005) menciona que el suelo también es un sitio donde viven, crecen y se desarrollan plantas, animales y microorganismos, donde estos últimos sirven de ayuda para la formación del suelo y son considerados de gran importancia para el mantenimiento de la vida humana. La superficie de los suelos constituye el lugar donde se producen la mayoría de las reacciones bioquímicas pertenecientes al ciclo de la materia orgánica, el nitrógeno y otros minerales (Zapata, 2006).

En el Cuadro 1 se presentan el tamaño de partículas del suelo, esto influye en la clasificación de los suelos y sus propiedades.

Cuadro 1. Clasificación de partículas del suelo según su grosor

Clasificación de US Department of Agriculture

| 0.002   |       | 0.005    | 0.1  | 0.25   | 0.5    | 1.0        | 2.00 mm |
|---------|-------|----------|------|--------|--------|------------|---------|
| Arcilla | Limo  | Muy fina | Fina | Media  | Gruesa | Muy gruesa | Grava   |
|         |       | Arena    |      |        |        |            |         |
| Arcilla | Limo  | Arena    |      |        |        |            | Grava   |
|         |       | Fina     |      | Gruesa |        |            |         |
| 0.002   | 0.002 |          |      |        |        |            |         |

Clasificación de la Sociedad Internacional de la Ciencia del Suelo

Fuente: Soil Survey Division Staff. 1993.

La composición del suelo se relaciona con la geoquímica de la porción de la corteza terrestre expuesta a la atmosfera y sujeta a las influencias bióticas. La corteza terrestre

contribuye con material mineral mientras que los organismos introducen el componente orgánico en los suelos, originándose así los dos tipos de materiales que constituyen la fase sólida de los suelos: la materia mineral y la materia orgánica (Velázquez, 2003). Las fases sólidas (mineral y orgánica) frecuentemente constituyen solo alrededor del 50% del volumen del suelo, mientras que la solución y el aire del suelo ocupan la otra mitad. En definitiva, los minerales representan aproximadamente un 45% del suelo en volumen; la materia orgánica el 1-5%, el aire 20-30% y el agua 20-30%. Esta combinación de minerales, aire y humedad provee un ambiente para el desarrollo de organismos vivos (Lenoir y Tornari, 2004).

Los suelos contienen cantidades apreciables de materia orgánica consistentes básicamente de vegetales descompuestos o humus, materia que suele disminuir con la profundidad y que varía en mayor medida en dimensión vertical que en horizontal. El contenido orgánico de la mayoría de suelos se encuentra entre un 0,2 y 3% y se compone de una mezcla de sustancias químicas (Kononova, 2000). Esta fracción orgánica consta de formaciones coloidales y se caracteriza por las matrices orgánicas de polímeros (Kononova, 2000).

Diéguez y García (2011), mencionan que algunas funciones primordiales de los suelos es que constituyen un sistema de vital importancia en la producción de alimentos, biomasa, reserva de genes y biodiversidad. Mientras que Blum (1998) dice que actúa como amortiguador, filtrador y transformador de sustancia ajenas al medio donde se encuentran, mismos que protege de la contaminación a la cadena alimenticia y el agua, aportando calidad ambiental, seguridad alimentaria y salud a la tierra.

A partir de esto surge el término de calidad de suelo, que se define como la interacción de componentes físicos, químicos y biológicos, con la capacidad para producir cultivos, animales y seres humanos saludables (Bautista, 2004; Karlen *et al.*, 2008); resistiendo a la degradación y minimizando los impactos ambientales; creando así la sostenibilidad de producción, aprovechando sus virtudes (proveedor de alimentos, soporte para las plantas y productos de biomasa) (Bautista, 2004).

### 2.3. Contaminación del suelo por hidrocarburos del petróleo

Uno de los recursos que económicamente ha contribuido a la economía mexicana ha sido el petróleo, más de dos millones de toneladas métricas son producidas por año mundialmente, pero el tipo de explotación y manejo que se le ha dado a sus instalaciones y ductos ha desencadenado un sinnúmero de derrames de hidrocarburos (Contreras y Pinkus, 2012), dañando ambientes marinos y terrestres; entre los accidentes más comunes en zonas de extracción y conducción de petróleo sobresalen rupturas de tuberías, derrame de tanques y extracción de pozos, representando 10% de estas descargas (Rivera, 2012). El 90% es debido a descargas menores como actividades industriales, que contaminan el suelo y son arrastradas por las aguas continentales (Fernández *et al.*, 2006).

En México existe un gran número de sitios contaminados, en el periodo 2003-2006 se reportaron 755 emergencias ambientales. Los responsables de dichas emergencias principalmente son empresas (Figura 2) (SEMARNAT, 2009 y 2010).

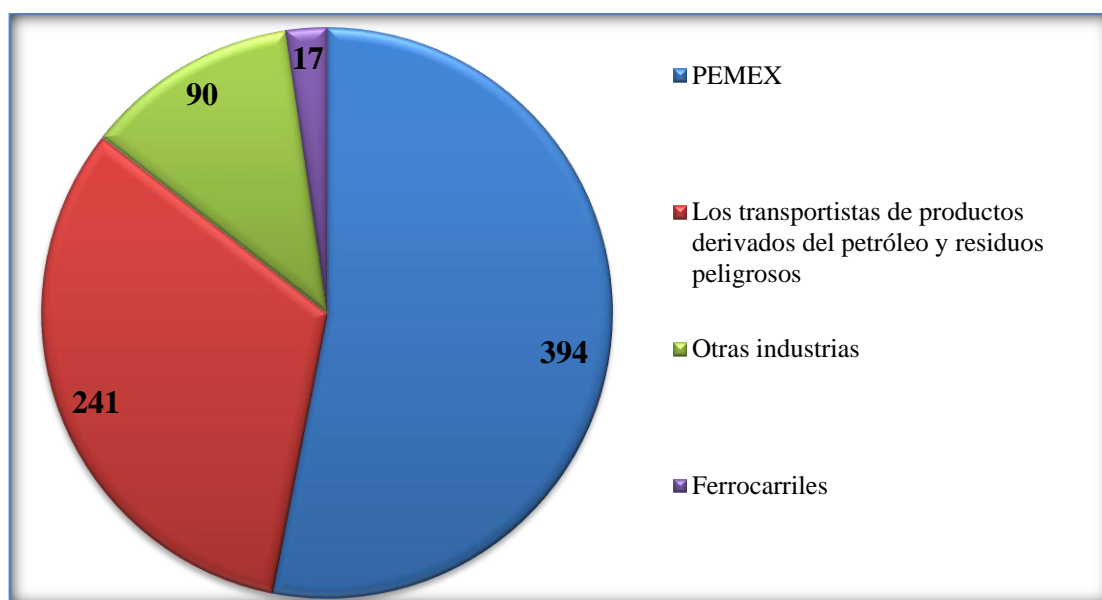


Figura 2. Empresas involucradas en emergencias ambientales de 2003-2006

La determinación de compuestos orgánicos contaminantes presentes en las matrices ambientales, en este caso el suelo, es causa de gran interés de estudio en instituciones gubernamentales y privadas, donde se toma en cuenta la legislación vigente para la

remediación, ya que estos problema están causando al medio daños significativos, además se requiere de estudios de diagnóstico para sugerir tecnologías de remediación debido que no se conoce la magnitud del daño causado al suelo (Herrero, 2010).

La contaminación del suelo consiste en una degradación química que provoca la pérdida parcial o total de la productividad del suelo como consecuencia de la acumulación de sustancias tóxicas en concentraciones que superan el poder de amortiguación natural del suelo y que modifican negativamente sus propiedades (Zamora, 2012). Esta acumulación se realiza generalmente como consecuencia de actividades humanas exógenas, aunque también se puede producir de forma natural o endógena cuando los procesos de edafización liberan elementos químicos contenidos en las rocas y los concentran en el suelo alcanzando niveles tóxicos.

Los efectos de los hidrocarburos al suelo principalmente son la alteración de los contenidos materia orgánica. Esto se debe a que el petróleo está compuesto por diferentes componentes, los cuales tienen distinto grado de toxicidad y diferentes tiempos de permanencia en el ambiente (Di Toro *et al.*, 2006). Esto implica que el medio donde están presentes, sea afectado por cambios químico del crudo. Se puede decir que la toxicidad tiene efectos adversos en suelos contaminados por HAPs como naftaleno, fenantreno y pireno a niveles de 10 000 mg/kg son tóxicos para la biota presente, ya que la toxicidad aumenta con el número de anillos aromáticos (Peterson *et al.*, 2003).

Los problemas que generan los derrames de hidrocarburos, son perjudiciales al ambiente cuando se infiltran al subsuelo, ya que dependiendo de su toxicidad desaparecen los microorganismos benéficos y el suelo se impermeabiliza al no penetrar el aire y los nutrientes, además de afectar los minerales del suelo. La presencia de contaminantes en ciertos niveles implica múltiples consecuencias negativas para el medio ambiente y con un impacto directo a especies animales, vegetales y humanos (Moraga, 2003).

Xiao-Dong *et al.* (2005) realizaron un estudio donde se observó la influencia que presentan los TPH en sus diferentes concentraciones sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas observando que la acumulación de estos sobre el suelo hace que las plantas

disminuya notablemente la concentración de biomasa hasta en un 60%, así mismo la germinación de las plantas se ve afectada. Indicando que hay un retraso en el crecimiento y raíz de las plantas evaluadas (Xu *et al.*, 2006).

Martínez y López (2001) reportan que algunos parámetros del suelo se verán afectados debido a la contaminación existente; el carbono orgánico se incrementa por la oxidación de los hidrocarburos del petróleo; así mismo las fracciones del petróleo se alojan en los poros o pueden ser adsorbidos por la materia orgánica (MO), la arcilla, principalmente los HAPs.

Olguín *et al.* (2007) menciona que los derrames por hidrocarburos pueden ocasionar un impacto negativo a las plantas de pantanos, los cuales, aunque por lo general son de pequeña extensión, pueden causar degradación severa al suelo, vegetación, fauna y calidad del agua; impidiendo además la posibilidad de uso de los recursos por varios años, si no se implementan acciones inmediatas de restauración.

#### **2.4. Normatividad ambiental**

Los parámetros de limpieza para hidrocarburos en suelos y aguas dependerán de los criterios o normas vigentes en México. Una vez que se ha diagnosticado el estado de contaminación de un sitio, suelo y subsuelo se deben plantear opciones para su limpieza y establecer los niveles de limpieza (Flores *et al.*, 2004).

En marzo de 2005 se publicó la Norma Oficial Mexicana NOM-138 SEMARNAT/SS-2003 (DOF, 2005), que establece los límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y remediación, además se establecen los límites en función de las fracciones ligera, media y pesada, así como del uso del suelo (Fernández *et al.*, 2006). Existen normas que aún están en proyecto, como PROY-NOM-052-ECOL-2001, que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y el listado de residuos peligrosos (Flores *et al.*, 2004).

El inicio de los programas de restauración de los suelos contaminados en México se relaciona de manera estrecha con la publicación de la Ley General del Equilibrio Ecológico



y la Protección al Ambiente (LGEEPA) en 1988. Las actividades de producción, extracción y formulación del petróleo y derivados, activamente se desarrollaron a partir de la década de 1940's en México. En el Golfo de México estas actividades han traído graves consecuencias por la contaminación de hidrocarburos, ya que se presentan en zonas de alta vulnerabilidad ecológica, tanto en zonas terrestres como costeras (Botello y Calva, 1998).

Las comunidades arrecifales del Golfo de México son amenazadas por efluentes contaminados, los derrames intermitentes u ocasionales de las actividades petroleras, químicas y petroquímicas ya que son altamente tóxicos para estas comunidades; los desechos radioactivos y los efluentes de las plantas nucleares constituyen otra severa amenaza para estos ecosistemas (Kuhlmann, 1988).

Dadas estas problemáticas se iniciaron las actividades relacionadas con la remediación y recuperación de suelos contaminados, en instalaciones de PEMEX. Algunas empresas que se dedican al saneamiento de sitios contaminados en el sureste mexicano usan experiencias empíricas que se aplican en otros lugares cuyas características parecen similares, lo correcto sería aplicar pruebas de tratabilidad antes de iniciar la recuperación de sitios, para tener éxitos en la recuperación de estos sitios.

## **2.5. Técnicas para la extracción, análisis, cuantificación y clasificación de hidrocarburos totales y derivados del petróleo en suelos.**

Los métodos más comúnmente usados para el análisis de suelos y aguas subterráneas contaminadas son propuestos por la Agencia de Protección al Ambiente de los Estados Unidos de América (*Environmental Protection Agency Of United States US-EPA*).

Para propósitos de valoración y evaluación medioambientales, la determinación de los hidrocarburos en suelos, resulta ser uno de los indicadores de mayor importancia (Villalobos *et al.*, 2008).

Las metodologías más comunes utilizadas para la determinación de concentración y análisis de los hidrocarburos y compuestos derivados del petróleo según las indicadas en la USEPA, son:

- EPA 8310 (1986), determinación de concentración de hidrocarburos aromáticos policíclicos por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HP-LC);
- EPA 8270 C (1996), determinación de compuestos orgánicos semivolátiles por Cromatografía de Gases / Espectrometría de Masas (GC / MS);
- EPA 8021 B (1996), determinación de compuestos aromáticos y halogenados volátiles por Cromatografía de Gas usando fotoionización y/o Detectores de Conductividad Electrolítica;
- EPA 5035 (1996), análisis de Compuestos Orgánicos Volátiles (COVs) y muestras de residuos por sistemas de cerrado de purga y trampa;
- EPA 8260 B (1996), determinación de Compuestos Orgánicos Volátiles (COVs) por Cromatografía de Gases / Espectrometría de Masas (GC / MS);
- EPA 8020 A (1994), determinación de la concentración de compuestos aromáticos volátiles por Cromatografía de Gases;
- EPA 8015 C (2007), determinación de compuestos orgánicos no halogenados por Cromatografía de Gases;
- EPA 8015 B (1996), determinación de la concentración de compuestos orgánicos volátiles no halogenados por Cromatografía de Gas y/o Detector de Ionización de Llama (FID).

Algunas metodologías usadas para la extracción de hidrocarburos y compuestos derivados del petróleo.

- EPA 3540 C (1996), extracción Soxhlet;
- EPA 3550 C (2007), extracción por ultrasonidos;
- EPA 9071 B (1998), material extractable con n-hexano (HEM) para lodos, sedimentos y muestras solidas;
- EPA 3546 (2000), extracción por microondas;

- EPA 3545A (2007), extracción por Fluidos Presurizados (PFE);
- EPA 3535A (2007), extracción en Fase Solida (SPE);
- EPA3560 (1996), extracción por Fluidos Supercríticos para la recuperación de Hidrocarburos Totales del Petróleo.
- EPA3561 (1996), extracción por Fluidos Supercríticos para la recuperación de Hidrocarburos Aromático Policíclicos.

## **2.6. Fundamentos de la espectroscopia ultravioleta visible (UV-VIS).**

La espectroscopia de ultravioleta-visible o espectrofotometría de ultravioleta-visible (UV/VIS) es una técnica que usa la radiación electromagnética (luz) de ultravioleta cercana (UV), regiones visible e infrarroja cercana (NIR) del espectro electromagnético. La radiación absorbida por las moléculas desde esta región del espectro provoca transiciones electrónicas que pueden ser cuantificadas (Skoog *et al.*, 2001).

La espectrofotometría de absorción en las regiones ultravioleta y visible del espectro electromagnético es, posiblemente, la más utilizada en la práctica del análisis cuantitativo de todas las técnicas espectroscópicas. Así mismo, puede resultar de utilidad como técnica auxiliar para la determinación de estructuras de especies químicas.

La espectroscopia UV-visible se utiliza para identificar algunos grupos funcionales de moléculas, y además, para determinar el contenido y fuerza de una sustancia. Se emplea de manera general en la determinación cuantitativa de los componentes de soluciones de iones de metales de transición y compuestos orgánicos altamente conjugados. Se utiliza extensivamente en laboratorios de química y bioquímica para determinar pequeñas cantidades de cierta sustancia, así como la concentración de ciertos medicamento (Litter *et al.*, 2009).

En la espectroscopia UV-Vis, una especie química que absorbe en las regiones UV-Vis, y la energía adquirida por el sistema causa la transición de un electrón de un estado basal o fundamental (EF) a uno excitado (EE) (Skoog *et al.*, 2001).

### 2.6.1. Regiones del espectro Ultravioleta-Visible

La radiación ultravioleta (UV) y visible comprende sólo una pequeña parte del espectro electromagnético, que incluye otras formas de radiación como radio, infrarrojo (IR), cósmica y rayos X (Figura 3) (Owen, 2000).

La energía asociada con la radiación electromagnética se define por la siguiente ecuación:

$$E = h\nu$$

Donde  $E$  es la energía (en julios),  $h$  es la constante de Planck ( $6.62 \times 10^{-34}$  Js) y  $\nu$  es la frecuencia (en segundos).

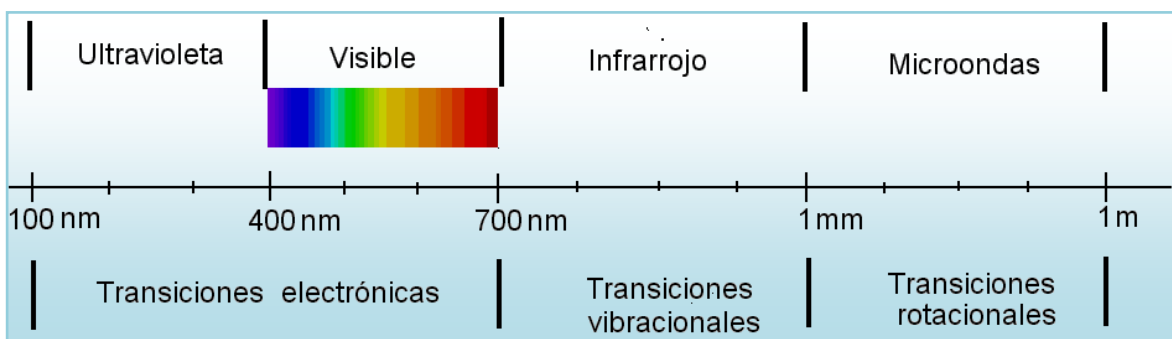


Figura 3. Regiones del espectro electromagnético

La región del espectro electromagnético que corresponde a las transiciones que involucran a electrones de la capa de valencia se extiende por longitudes de onda de 100 a 1000 nm (regiones ultravioleta-visible e infrarroja cercana). No toda esta zona es de igual utilidad para la elucidación de estructuras orgánicas.

Skoog *et al.* (2001) describe las siguientes regiones del espectro:

- La región por debajo de 200 nm, conocida como Ultravioleta lejano o vacío, presenta características que hacen complicada su utilización.

- La región entre 200 y 400 nm, llamada Ultravioleta cercana, es de gran utilidad en la determinación estructural de insaturación conjugada, aromaticidad o de ciertos grupos insaturados con pares electrónicos libres (carbonilo, nitro) principalmente compuestos orgánicos, sin presentar los serios inconvenientes del Ultravioleta de vacío.
- La región Visible, de 400 hasta cerca de 800 nm, es la única del espectro electromagnético a la que es sensible el ojo humano. Las bandas de absorción presentes en esta zona corresponden a transiciones electrónicas de muy baja energía. Todos los compuestos coloreados absorben selectivamente en esta región. Los compuestos fuertemente conjugados y ciertos complejos de metales de transición absorben significativamente en la región visible.

Ciertas transiciones electrónicas pueden presentarse a longitudes de onda superiores a 800 nm pero estas no son comunes en los compuestos orgánicos.

### **2.6.2. Longitud de onda y frecuencia**

Owen (2000), menciona que la radiación electromagnética puede considerarse una combinación de campos eléctricos y magnéticos alternos que viajan por el espacio con un movimiento de onda. Como la radiación actúa como una onda, puede clasificarse según la longitud de ésta o la frecuencia, relacionadas por:

$$v = c / \lambda$$

Donde  $v$  es la frecuencia (en segundos),  $c$  es la velocidad de la luz ( $3 \times 10^8 \text{ ms}^{-1}$ ) y  $\lambda$  es la longitud de onda (en metros). En espectroscopia UV-visible, la longitud de onda normalmente se expresa en nanómetros ( $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$ ). De las ecuaciones anteriores se deduce que radiación con longitud de onda más corta tiene mayor energía. En espectroscopia UV-visible, la luz UV de longitud de onda más pequeña tiene la energía más alta. En algunos casos, esta energía es suficiente para causar reacciones fotoquímicas no deseadas al medir los espectros.

### 2.6.3. Origen de los espectros UV-visible

Cuando la radiación interacciona con la materia, pueden ocurrir varios procesos como reflexión, dispersión, absorbanza, fluorescencia/fosforescencia (absorción y reemisión) y una reacción fotoquímica (absorbanza y rotura de enlaces). En general, cuando se miden espectros UV-visible, sólo es deseable que ocurra absorbanza. Como la luz es una forma de energía, la absorción de la luz por la materia causa que aumente el contenido de energía de las moléculas (o átomos) (Rubinson y Rubinson, 2001). La energía potencial total de una molécula, generalmente se representa como la suma de sus energías electrónica, vibracional y rotacional:

$$E \text{ total} = E \text{ electrónica} + E \text{ vibracional} + E \text{ rotacional}$$

La cantidad de energía que una molécula posee en cada forma no es un continuo, sino una serie de niveles o estados discretos. Las diferencias de energía entre los diferentes estados siguen el orden:

$$E \text{ electrónica} > E \text{ vibracional} > E \text{ rotacional}$$

En algunas moléculas y átomos, los fotones de luz UV y visible tienen suficiente energía para causar transiciones entre los diferentes niveles. La longitud de onda de la luz absorbida es aquella que tiene la energía requerida para mover un electrón desde un nivel de energía inferior a uno superior.

### 2.6.4. Transmitancia y absorbanza

Cuando un rayo de luz de una determinada longitud de onda de intensidad  $I_0$  incide perpendicularmente sobre una disolución de un compuesto químico que absorbe luz, el compuesto absorberá una parte de la radiación incidente ( $I_a$ ) y dejará pasar el resto ( $I_t$ ), de forma que se cumple:  $I_0 = I_a + I_t$ .

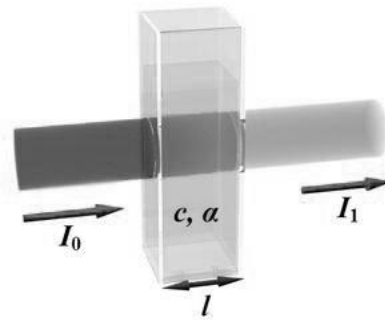


Figura 4. Diagrama de la absorción de un haz que atraviesa un recipiente.

En un enfoque simplificado, la transmitancia puede ser expresada como la intensidad de la radiación incidente,  $I_0$ , que divide a la luz emergente de la muestra,  $I$ . Se refiere a la relación  $I/I_0$  como transmitancia o sencillamente  $T$ .

La transmitancia se puede trazar con relación a la concentración, pero esta relación no sería lineal. Aunque el logaritmo negativo en base 10 de la transmitancia sí es lineal con la concentración.

De esta forma, la absorción es medida como:

$$A = -\log_{10} (I/I_0) \text{ or } A = -\log_{10} (T)$$

## 2.7. Método QuEChERS

En las últimas décadas, debido a la creciente preocupación social por el medio ambiente y la contaminación, así como la implantación de nuevas reglamentaciones ambientales más restrictivas, ha surgido una nueva tendencia en Química Analítica, la Química Analítica Verde (*Green Analytical Chemistry*) que trata de restringir el uso de disolventes orgánicos, así como de generar la mínima cantidad de residuos, que, en muchos casos, son más tóxicos que los propios analitos que se quieren determinar. Como consecuencia, la utilización de técnicas que no utilizan disolventes, o utilizan volúmenes muy pequeños de los mismos, empezó a extenderse y a afianzarse en muchos de los métodos analíticos (Qian y Robbins, 2001).

Entre las técnicas que utilizan pequeños volúmenes de disolvente pueden citarse: extracción con fluidos supercríticos (*supercritical fluid extraction*, SFE), extracción líquida a presión (*pressurized liquid extraction*, PLE), extracción con disolvente asistida por microondas (*microwave assisted extraction*, MAE) o el método de extracción QuEChERS (*quick, easy, cheap, efficient, rugged and safe*). También han surgido técnicas basadas en la miniaturización de la técnica de extracción líquido-líquido (*liquid-liquid extraction*, LLE), conocidas como microextracción con disolventes (*solvent microextraction*, SME) o microextracción en fase líquida (*liquid phase microextraction*, LPME), y la técnica de extracción en fase sólida (*solid phase extraction*, SPE) dentro de éstas se pueden citar técnicas como la de microextracción en una gota (*single-drop microextraction*, SDME), la extracción con disolvente soportado en membrana (*membrane assisted solvent extraction*, MASE), la técnica de microextracción líquido-líquido dispersiva (*dispersive liquid-liquid microextraction*, DLLME) y la microextracción mediante adsorbentes empaquetados (*microextraction by packed sorbent*, MEPS) (Hewitt y Myers, 1999; Raynie, 2006; Durovic y Dordevic, 2011).

El procedimiento QuEChERS fue introducido en el año 2003 por Anastassiades y colaboradores, como un nuevo método para extraer un amplio grupo de pesticidas en matrices alimentarias con un alto contenido en agua. El procedimiento inicial está basado en una extracción líquido-líquido con acetonitrilo, seguida de un procedimiento de limpieza denominado extracción en fase sólida dispersiva (d-SPE), en el que se utilizó amina primaria-secundaria (PSA) como material adsorbente (Anastassiades *et al.*, 2003a; 2003b).

El método QuEChERS se ha aplicado fundamentalmente para la extracción de un amplio conjunto de pesticidas en diversas matrices alimentarias. Ha recibido una gran aceptación a nivel mundial debido a su simplicidad, bajo costo, fácil desarrollo, alta capacidad de procesamiento de muestras y a la obtención de resultados altamente eficaces en pocas etapas. Recientemente, el método QuEChERS ha recibido la distinción de método oficial de la AOAC Internacional (*Association of Analytical Communities-Asociación de las Comunidades Analíticas*) para la extracción de múltiples residuos de pesticidas en matrices de frutas y verduras (Cajka y Hajslova, 2011).



Aunque el método ha sido principalmente empleado para la determinación de pesticidas, se ha utilizado también para la determinación de otros compuestos como: compuestos farmacéuticos, antibióticos  $\beta$ -lactámico o fármacos para animales, análisis residuos de pesticidas (Lesueur, 2008; Wilkowska, 2011), plaguicidas (Koesukwiwata, 2008) y otros contaminantes como antibióticos y colorantes en alimentos (Brosnan, 2010). El uso de QuEChERS con matrices de suelos ha sido muy limitado hasta la fecha. Según estas experiencias, el desarrollo de nuevas aplicaciones y modificaciones del método es de gran interés para la determinación de compuestos contaminantes en suelos (Cajka y Hajslova, 2011).

El método QuEChERS ofrece como ventaja principal resultados exactos, precisos y rápidos, además de permitir el uso de bajas cantidades de solventes, reactivos y en general material de laboratorio (Anastassiades *et al.*, 2003b). Recientemente la técnica se ha ampliado hacia nuevas áreas fuera de la inocuidad alimentaria (Lehotay, 2011), como los análisis de matrices medioambientales. Generalmente existen dos etapas principales en esta metodología: la extracción y la limpieza por SPE dispersiva. Según la metodología original se usa acetonitrilo como disolvente de extracción mientras que simultáneamente existe un precipitado del agua de la fase acuosa de la muestra, usando sulfato de magnesio ( $\text{MgSO}_4$ ) para inducir la partición líquido-líquido. Para la limpieza total, la extracción en fase sólida dispersiva (D-SPE) se lleva a cabo utilizando una combinación de absorbente amina primaria secundaria (PSA) para eliminar componentes orgánicos y ácidos, y el  $\text{MgSO}_4$  anhidro para reducir el agua restante en el extracto. Otros absorbentes, tales como negro de carbono grafitado (GCB), se puede añadir a eliminar pigmentos y un esteroide o C18 para eliminar los lípidos y ceras (Lynam y Smith, 2008).

Bella *et al.* (2010) realizó un estudio en suelo donde su objetivo fue analizar muestras con contenidos de HAPs, esto para evaluar la afectividad del método, ellos estudiaron 16 tipos de HAPs considerados como los mayores contaminantes potenciales dentro de esta clase, resultando que la metodología propuesta por Anastassiades *et al.* (2003a), es de gran efectividad para el análisis de este tipo de HAPs. Por lo que dedujeron

que la recuperación y reproducibilidad de la metodología fueran altas, concluyendo que el método es aplicable para control de calidad de HAPs en muestras reales.

Rashid *et al.* (2010), realizó un estudio en suelo para la determinación de pesticidas organoclorados (OC) donde se aplicó el procedimiento QuEChERS para la extracción de estos compuestos en los diferentes tratamientos estudiados, así mismo se evaluó el funcionamiento del método, permitiendo la adaptabilidad del método para determinación de los compuestos en estudio en suelo con diferentes propiedades físicas y químicas.

Así mismo Albinet *et al.* (2013) en un estudio realizado para la determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos asociados a partículas atmosféricas concluyendo que el procedimiento de extracción QuEChERS es un método muy rápido, fácil y eficaz que permite en mínimo la manipulación de las muestras y los pasos permiten el ahorro de tiempo.

Vera *et al.* (2013) realizaron un análisis sobre la aplicación del método QuEChERS sobre matrices ambientales. Concluyen que este método ofrece resultados de alta calidad, determinando así una gran cantidad de muestras de forma simultánea, así mismo se reduce la manipulación de la muestra y el pre-tratamiento.

Debido a su simplicidad el método QuEChERS se está aplicando en el análisis de matrices complejas, y está empezando a sustituir a los métodos tradicionales de extracción. Sin embargo, se necesita estudiar de manera más amplia la validación de este método con el fin de hacerlo extensivo a una gama más amplia de compuestos que poseen diferentes propiedades físicas y químicas.

## **2.8. Análisis quimiométrico**

La quimiometría puede definirse como una disciplina química que utiliza métodos matemáticos y estadísticos para diseñar procedimientos de medida y para obtener la mayor cantidad de información química posible a partir del análisis de datos (Massart *et al.*, 1997).

Entre otras consideraciones se enfoca en la aplicación de métodos matemáticos y/o estadísticos sobre datos químicos para diseñar o seleccionar procedimientos de medida y experimentos óptimos, y para proporcionar la máxima información química mediante el análisis de datos químicos.

Dentro de la Quimiometría se incluyen método para el diseño experimental y exploración de datos, como los métodos de reconocimiento de pautas, calibración y regresión simple y multivariante, entre otros (Pirouette, 2003).

### **2.8.1. Análisis de Componentes Principales**

El análisis de componentes principales (ACP) es una técnica para reducir la cantidad de datos cuando está presente la correlación. Resulta obvio afirmar que no es una técnica útil cuando las variables no están correlacionadas (Miller y Miller, 2002).

Otra característica de este análisis es que se utiliza con la finalidad de describir las características más importantes de un conjunto de datos multivariantes. Las componentes principales están ordenadas en orden decreciente de importancia, de manera que la primera componente proporciona (o recoge) la mayor variabilidad posible de los datos. Seleccionando las componentes más importantes, se resume la información que proporcionan los datos con poca pérdida de información. Los datos se podrán representar en un espacio de menor dimensión con ejes ortogonales.

El ACP y los factores resultantes son métodos utilizados como una ayuda para encontrar e interpretar relaciones casuales y complejas entre variables de un mismo set de datos (Einax *et al.*, 1998). El aporte más importante del análisis de componentes principales es la cuantificación de la significancia de las variables que explican los patrones en las propiedades inherentes de objetos individuales. Sobre la base de un set de datos, se calculan nuevas variables ortogonales como resultado de la combinación lineal de los parámetros originales. De esta forma, toda la información sobre los parámetros que se encuentra en el conjunto de datos originales se transforma a un espacio reducido y se puede explicar a partir de un set de factores calculados llamados componentes principales. Los componentes

principales identificados contabilizan la varianza máxima explicable de los datos originales en orden descendiente (Marengo *et al.*, 1995).

El análisis de factores es una herramienta muy útil para extraer información latente de un set de datos, como las relaciones entre variables que no se pueden deducir directamente. La matriz de datos originales se descompone en el producto de una matriz de factores esperados y una matriz de factores medidos más una matriz residual. En general, por la aplicación del criterio de valores de *Eigen*, el número de factores extraídos es menor que el número de factores medidos. Después de la rotación de los factores de la matriz esperada, los factores pueden ser interpretados como fuentes comunes (Johnson y Wichern, 1992).

## 2.9. LITERATURA CITADA

- Adams, R. H., Domínguez, V. y García, L. 1999. Potencial de la biorremediación de suelo y agua impactados por petróleo en el trópico mexicano. *Terra*. 17: 159-174.
- Albinet, A., Tomaz, S. y Lestremau, F. 2013. A really quick easy cheap effective rugged and safe (QuEChERS) extraction procedure for the analysis of particle-bound PAHs in ambient air and emission samples. *Science of the Total Environment* 450-451:31–38.
- Al-Mutairi, N., Bufarsan, A. y Al-Rukaibi, F. 2008. Ecorisk evaluation and treatability potential of soils contaminated with petroleum hydrocarbon-based fuels. *Chemosphere*. 74:142-148.
- Anastassiades, M., Lehotay, S. J., Stajnbaher, D. y Schenck, F. J. 2003a. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *J AOAC International* 86(2): 412-431.
- Anastassiades, M., Maštovská, K. y Lehotay, S. J. 2003b. Evaluation of analyte protectants to improve gas chromatographic analysis of pesticides. *Journal of Chromatography A*, 1015:163–184.
- Bautista, C., Etchevers, B. J., del Castillo, R. F. y Gutiérrez, C. 2004. La calidad del suelo y sus indicadores. *AEET (Asociación Española de la Ecología Terrestre). Ecosistemas* 13(2): 90-97.
- Bellah, O., Lesego, C. M. y Nelson, T. 2010. Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soil with Agilent SampliQ QuEChERS AOAC Kit and HPLC-FLD. Agilent Technologies, Inc. Grahamstown, South Africa. Pp 8.
- BID (1991). Nuestra Propia Agenda sobre Desarrollo y Medio Ambiente. BID/PNUD. Fondo de Cultura Económica. México. 102 pp.

- Blum, W. H. 1998. Basic concepts: degradation, resilience and rehabilitation. Pp 1-16. En R. Lal *et al.*, (eds). *Methods for Assessment of Soil Degradation, Advances in Soil Science*. CRC Press. Boca Raton, Florida, USA.
- Botello, A.V., y Calva, L. G. 1998. Polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from Pueblo Viejo, Tamiahua and Tampamachoco lagoons in the Southern Gulf of México. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 60: 96-103
- Botello, A. V. 2005. Características, composición y propiedades fisicoquímicas del petróleo, p. 261- 268. *In*: A. V. Botello, J. Rendón-von Osten, G. Gold-Bouchot y C. Agraz-Hernández (Eds.). *Golfo de México Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias*, 2da Edición. Univ. Autón. de Campeche, Univ. Nal. Autón. de México, Instituto Nacional de Ecología. 696 p.
- Botello, A. V., Ponce, V. G., Toledo, A., Díaz, G. G. y Villanueva, S. 1996. Ecología, recursos costeros y contaminación en el Golfo de México. En Botello, A.V., Rojas, G. J.L., Benítez, J.A., Zárate, L. D. (Eds.) *Golfo de México, Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias*. EPOMEX. Serie Científica N°5. Universidad Autónoma de Campeche. México. pp. 25-44.
- Brosnan, B., Coffey A., Arendt, E. K., y Furey, A. 2010. The QuEChERS Approach in a Novel Application for the Identification of Antifungal Compounds produced by Lactic Acid Bacteria Cultures. *Talanta*.
- Cajka, T. y Hajslova, J. 2011. Chapter 15. Halogenated Persistent Organic Pollutants and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food. Jerry Zweigenbaum (ed.), *Mass Spectrometry in Food Safety: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology 747*. Pp. 373.
- Casanova, O. E. 2005. *Introducción a la ciencia del suelo* 2ª edición. Universidad central de Venezuela. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Caracas, Venezuela.

- CENAPRED (2001). Centro Nacional de Prevención de Desastres. Diagnóstico de peligros e identificación de riesgos de desastres en México: Atlas Nacional de Riesgos de la República Mexicana. Secretaría de Gobernación, México.
- Chang, R. y College, W. 2002. Química 7ª edición. Editorial McGRAW-HILL. Pp 941+ anexos.
- Di Toro, D. M., McGrath, J. A., Stubblefield, W. A. 2007. Predicting the Toxicity of Neat and Weathered Crude Oil: Toxic Potential and the Toxicity of Saturated Mixtures. Environmental Toxicology and Chemistry 26:1. Delaware, USA. Pág. 24 -36.
- Diéguez, U. J. y García, V. A. 2011. ¿Qué queremos decir cuando hablamos de Biodiversidad? En: Biodiversidad. El mosaico de la vida. Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología. Pág. 151.
- DOF (Diario Oficial de la Federación). 2005. NOM-138-SEMARNAT/SS-2003. Límites Máximos Permisibles de Hidrocarburos en Suelos y las Especificaciones para su Caracterización y Remediación. 29 de marzo de 2005. 21 p.
- Durovic, R. y Dordevic, T. 2011. Chapter10. Modern Extraction Techniques for Pesticide Residues Determination in Plant and Soil Samples. En: Pesticides in the Modern World - Trends in Pesticides Analysis, Stoytcheva, M. (Ed.) Institute of Pesticides and Environmental Protection. Belgrade, Serbia. Pp. 514.
- Einax, J. W., Truckenbrodt, D. y Kampe, O. 1998. River Pollution data interpreted by means of chemometric methods. Microchem. J. 58:315-324.
- EPA 3535 A. 2007. Solid-Phase Extraction (SPE). (Revision 1, February 2007).
- EPA 3540 C. 1996. Soxhlet Extraction (Revision 3, December 1996)
- EPA 3545 A. 2007. Pressurized Fluid Extraction (PFE). (Revision, February 2007).
- EPA 3546. 2000. Microwave Extraction (Revision 0, November 2000).

EPA 3550 C. 2007. Ultrasonic Extraction. (Revision 3, February 2007).

EPA 3560. 1996. Supercritical fluid extraction of total recoverable Petroleum hydrocarbons. (Revisión 0, December de 1996).

EPA 3561. 1996. Supercritical Fluid Extraction of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons. (Revision 0, December 1996).

EPA 5035. 1996. Closed-System Purge and Trap and Extraction for Volatile Organics in Soil and Waste Samples. (Revision 0, December 1996).

EPA 8015 B. 1996. Nonhalogenated Organics Using GC/FID. (Revision 2, December 1996).

EPA 8015 C. 2007. Nonhalogenated Organics By Gas Chromatography. (Revision 3, February 2007).

EPA 8020 A. 1994. Aromatic Volatile Organics by Gas Chromatography (Revision 1, September 1994).

EPA 8021 B. 1996. Aromatic and Halogenated Volatiles by Gas Chromatography using Photoionization and/or Electrolytic Conductivity Detectors. (Revision 2, December 1996).

EPA 8260 B. 1996. Volatile Organic Compounds by Gas Chromatography/ Mass Spectrometry (GC/MS). (Revision 2, December 1996).

EPA 8270 C. 1996. Semivolatile Organic Compounds By Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS). (Revision 3, December 1996).

EPA 8310. 1986. Polynuclear Aromatic Hydrocarbons. (Revision 0, September 1986).

EPA 9071 B. 1998. n-Hexane Extractable Material (Hem) for sludge, sediment, and solid samples. (Revision 2, April 1998).



- Fernández, L. 2006. Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados. Ed. SEMARNAT. México. Pp 180.
- Flores, P. M. A., Torras, O. S y Téllez, G. R. 2004. Medidas de mitigación para uso de suelos contaminados por derrames de hidrocarburos en infraestructura de transporte terrestre. Secretaría de Comunicaciones y Transportes e Instituto Mexicano del Transporte. Sanfandila, Querétaro. Pág. 73.
- García, H. L. y García, S. N. 2003. Derrames de hidrocarburos del petróleo en Tabasco, orígenes y situación actual. KUXULKAB Revista de Divulgación, 9(17): 19-22.
- Gary, J. H. y Handwerk, G. E. 2003. Refino de petróleo. Editorial Reverté, S. A. Sevilla, España. Pp 390.
- Herrero, M. S. 2010. Puesta a punto de metodologías rápidas para la detección y determinación de compuestos orgánicos en matrices ambientales. Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Salamanca. Salamanca, España. 480 p + anexos.
- Hewitt, A. D., y Myers, K. F. 1999. Sampling and On-Site Analytical Methods for Volatiles in Soil and Groundwater. Field Guidance Manual.
- Johnson, R. A., Wichern, D. W. 2007. Applied Multivariate Statistical Analysis, 6<sup>th</sup> ed., Prentice-Hall International, Englewood Cliffs, New Jersey, USA. Pp 703.
- Kanally, R. A. y S. Harayama. 2000. Biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria. J. Bacteriol. 182:2059-2067.
- Karlen, D. L., Andrews, S. S., Wienhold, B. J. y Zobeck, T. M. 2008. Soil Quality Assessment: Past, Present and Future. J. Integr. Biosci. 6(1):3-14.
- Koesukwiwata, U., Sanguankaewa, K., Leepipatpiboona, N. 2008. Rapid determination of phenoxy acid residues in rice by modified QuEChERS extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. AnalyticaChimica Acta 626:10–20.

- Kononova, M. M. 2000. *Materia orgánica del suelo. Su naturaleza, propiedades y métodos de investigación*. Editorial Oikos-Tau. Barcelona, España. Pp 368
- Kraus, S. R. 2005. Capítulo 75. *Petróleo: prospección y perforación. Industrias basadas en recursos naturales*. En: *Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo*. Editorial Chantal Dufresne. USA.
- Kuhlmann, D. H. H., 1988. The sensitive of coral reef to environmental pollution. *Ambio* 17(1):13-21.
- Lehotay, S. J. 2011. Chapter 4. *QuEChERS Sample Preparation Approach for Mass Spectrometric Analysis of Pesticide Residues in Foods*. Jerry Zweigenbaum (ed.), *Mass Spectrometry in Food Safety: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*, vol. 747. Pp. 65-91.
- Lenoir, C. y Tornari, G. 2004. *Contaminación y tratamiento de suelo*. AES-DISAB S.R.L. Buenos Aires, Argentina. Pp 66.
- Lesser, J. M. y Saval, S. 2001. Principales hidrocarburos contaminantes de suelos y acuíferos: identificación y características. *Contaminación de Acuíferos*. División de Educación Continua, Facultad de Ingeniería, UNAM. Pág. 11.
- Lesueur, C., Knittl, P., Gartner, M., Mentler, A. y Fuerhacker, M. 2008. Analysis of 140 pesticides from conventional farming foodstuff samples after extraction with the modified QuEChERS method. *Food Control* 19:906–914.
- Litter, M. I., Armienta, M. A., Farías, S. S. (editores). 2009. Capítulo 3. *Métodos espectrofotométricos UV-Vis*. En: *IBEROARSEN (ed) Metodologías analíticas para la determinación y especiación de arsénico en aguas y suelos*. Buenos Aires, Argentina. 240 pp.
- Lynam, K. y Smith, D. 2008. *Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (HAP) Analysis Using an Agilent J&W DB-5ms Ultra Inert Capillary GC Column*. Agilent Technologies.

- Mager, S. J., Osinsky, D. y Markkanen, P. 1998. Capítulo 104. Guía de productos químicos. En: Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo, Organización Internacional del Trabajo (OIT). Madrid, España. Editorial Chantal Dufresne. USA.
- Marengo, E., Gennaro, M. C., Giacosa, D., Abrigo, C. y Saini, G. 1995. How Chemometrics can helpfully assist in evaluating environmental data. *Laggon water. Anal. Chim. Acta* 317:53-63.
- Martínez, M. V. E. y López, F. S. 2001. Efecto de hidrocarburos en las propiedades físicas y químicas de suelo arcilloso. *Terra* 19: 9-17.
- Massart, D. L., Vandeginste, G. M., Buydens, L. M. C., De Jong, S., Lewi, P. J. y Smeyers, V. J. Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part A. Elsevier, Amsterdam, 1997. Part B, 1998. Elsevier. Amsterdam.
- Miller, N. J. y Miller C. J. 2002. Estadística y quimiometría para química analítica. 4ta edición. Pearson Educación. Madrid, España. 286 Pp.
- Moraga, J. C. 2003. Remediación de Sitios Contaminados Golder Associates. USA, 19. 119 Pp.
- Mullins, O. C., Sheu, E. Y., Hammami, A y Marshall, A. G. (eds). 2007. *Asphaltenes, Heavy Oils and Petroelomics*. Springer. New York, USA.
- NAS (2003). Oil in the sea III. Inputs, fates and effects. National Academy of Sciences. The National Academies Press. Washington, DC, EU. Pp 265.
- Olguín, J. E., Hernández, M. E. y Sánchez, G. G. 2007. Contaminación de manglares por hidrocarburos y estrategias de biorremediación, fitorremediación y restauración. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 23: 3. Pág.139-154.
- Ortiz, B. I., Sanz, G. J., Dorado, V. M. y Villar, F. S. 2010. Técnicas de recuperación de suelos contaminados. Informe de vigilancia tecnológica. Universidad de Alcalá y Dirección General de Universidades e Investigación. Madrid, España. 108 p.

- Owen, T. 2000. Fundamentos de la espectroscopía UV-visible moderna. Conceptos básicos. Agilent Technologies. Alemania. Pp 138.
- Peterson, C. H., Rice, S. D., Short, J. W., Esler, D., Bodkin, J. L., Ballachey, B. E. y Irons, D. B. 2003. Long-term ecosystem response to the Exxon Valdez oil spill. *Science*, Pp.302, 2082-2086.
- Pinkus, M. J. y Contreras, S. A. 2012. Impacto socioambiental de la industria petrolera en Tabasco: el caso de la Chontalpa. *Liminar. Estudios Sociales y Humanísticos* Vol. 10: 2. Pp. 122-144.
- PROFEPA. 2002. Procuraduría Federal de Protección al Ambiente. Dirección General de Inspección de Fuentes de Contaminación, México. <http://www.profepa.gob.mx/>
- Qian, K. y Robbins, W. K. 2001. Resolution and Identification of Elemental Compositions for More than 3000 Crude Acids in Heavy Petroleum by Negative-Ion Microelectrospray High-Field Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry. *Energy&Fuels* 15:1505-1511.
- Quiñones, A. E. E., Ferrera, C. R., Gavi, R. F., Fernández, L. L., Rodríguez, V. R. y Alarcón, A. 2003. Emergencia y crecimiento de maíz en un suelo contaminado con petróleo crudo. *Agrociencia* 37: 585-594.
- Rashid A., Nawaz S., Barker H., Ahmad I., Ashraf M. 2010. Development of a simple extraction and clean-up procedure for determination of organochlorine pesticides in soil using gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217: 2933–2939.
- Raynie, E. D. 2006. Modern Extraction Techniques. *Analytical Chemistry*, Vol. 78:12.
- Real, O. M. 2009. Adsorción, persistencia y movilidad de compuestos orgánicos polares contaminantes de suelos. Universidad de Sevilla. Sevilla, España. 228 p.

- Rivera, P. F. 2012. Derrame de Hidrocarburos en Suelos Agrícolas. Dirección General de Estudios Legislativos: Política y Estado. Instituto Belisario Domínguez del Senado de la República. 40 Pp.
- Rubinson, K. y Rubinson, F. Judith. 2001. Análisis instrumental. PEARSON EDUCACIÓN. Madrid, España. 872 Pp.
- SEMARNAT. 2009. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Informe de la Situación del Medio Ambiente en México. Compendio de Estadísticas Ambientales. Edición 2008. Tlalpan, México D. F. 358 Pp.
- SEMARNAT. 2010. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Programa Nacional de Remediación de Sitios Contaminados. Tlalpan, México D. F. Pp 152.
- Skoog, D. A., Holler, J. F. y Nieman, A. T. 2001. Principios de Análisis instrumental. Quinta edición. Ed. McGraw Hill/Interamericana. Traducción al español por Ma. del Carmen Martín Gómez, Beatriz López Ruiz, Ma. Antonia Martín Carmona, Gregorio Garcedo Güemez, Ana Isabel Olives Barba. Madrid, España. Pp 1028.
- Soil Survey Division Staff. 1993. Soil survey manual. Soil Conservation Service. U.S. Department of Agriculture Handbook 18.
- Speight, J. G. 1998. The chemistry and technology of petroleum. Editorial Marcel Dekker.
- Speight, J. G. 2007. The Chemistry and Technology of Petroleum. 4<sup>th</sup> Edition. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, Florida.
- UNEP. 1992. United Nations Environmental Programme. Determination of petroleum hydrocarbons in sediments. Monaco. 75 Pp.
- Velázquez, A., Torres, A., y Bocco, G. 2003. Investigación participativa para el manejo integral de recursos naturales. INE-SEMARNAT. México, D.F. Pp 603.

- Vera, J., Correia, S. L., Paíga, P., Bragança, I., Fernández, V. C., Domínguez, F. V. y Delerue, M. C. 2013. QuEChERS and soil analysis. An Overview. *Versita*. Pp 54-77.
- Villalobos, M., Ávila, F. A. P., y Gutiérrez, R. E. 2008. An improved gravimetric method to determine total petroleum hydrocarbons in contaminated soils. *Water Air Soil Pollution* 194: 151-165.
- Wauquier, J. P. 2004. El refinado del petróleo: petróleo crudo, productos petrolíferos, esquemas de fabricación. Ediciones Diaz de Santos. Madrid, España. Pp 462.
- Weisman, W. 1998. Analysis of Petroleum Hydrocarbons in Environmental Media (vol.1). Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group Series. Association for Environmental Health and Sciences (AEHS) (comp.). Amherst Scientific (Ed.), Amherst, Massachusetts United States. 98 pp.
- Wilkowska, A., y Biziuk, M. 2011. Determination of pesticide residues in food matrices using the QuEChERS methodology. *Food Chemistry* 125:803–812.
- Xiao-Dong, H., El-Alawi, Y., Gurska, J., Glick, B. R. y Greenberg B. M. 2005. A multi-process phytoremediation system for decontamination of persistent total petroleum hydrocarbons (TPHs) from soils. *Microchemical Journal* 81:139– 147.
- Xu, S. Y., Chen, Y. X., Wu, W. X., Wang, K. X., Lin, Q. y Liang, X. Q. 2006. Enhanced dissipation of phenanthrene and pyrene in spiked soils by combined plants cultivation. *Science of the Total Environment*. 363: 206– 215.
- Zapata, H. R. D. 2006. Química de los procesos pedogenéticos. Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia.

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio Agroindustrial, Suelo, Planta y Agua del Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco, donde la primera etapa de la investigación fue la colecta y preparación de las muestras; la segunda etapa consistió en la extracción de hidrocarburos a las muestras de suelo por el métodos de extracción QuEChERS y lecturas de los extractos en equipo UV-Vis; y en la tercera etapa se realizó el análisis de datos mediante quimiometría y análisis estadísticos (Figura 5).

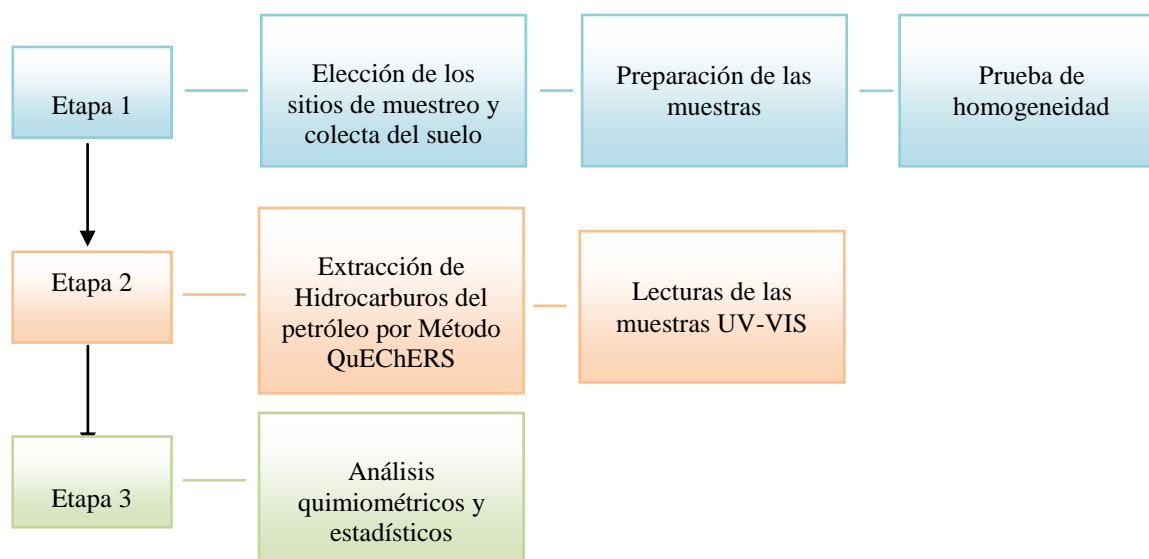


Figura 5. Diagrama de las actividades de investigación

### 3.1. Trabajo de campo

#### 3.1.1. Localización del sitio de muestreo

El muestreo se realizó en la Cuenca Baja del Río Tonalá y Laguna del Carmen y Machona con una superficie de 109,000 ha, localizada en el sureste de México, al oeste del estado de Tabasco, entre las coordenadas geográficas  $17^{\circ} 59'30''$  y  $18^{\circ}18'02''$  de latitud norte, y los  $93^{\circ}46'58''$  y  $94^{\circ}07'48''$  de longitud oeste, en los municipios de Cárdenas y

Huimanguillo. Los sitios de estudio se sitúan en la subprovincia fisiográfica llanuras y pantanos tabasqueños, situados entre 1 y 4 metros sobre el nivel del mar, con clima cálido húmedo (Amf), temperatura media anual de 26 °C y precipitación media anual de 2200 mm. La vegetación típica es selva baja perennifolia, manglares, vegetación hidrófita, palmar y pastizales inducidos. En esta zona se localizaron los tres tipos de suelos requeridos para esta investigación (Figura 6).

### 3.1.2. Herramientas usadas en el muestreo

Se utilizaran los siguientes materiales: cubeta metálica, machete, pico, pala, bolsas de plástico de 2 kg, etiquetas, cámara fotográfica, libreta de campo, lápiz, marcadores indelebles y GPS.

### 3.1.3. Muestreo de los suelos

El tipo de muestreo fue dirigido de acuerdo con NOM-138-SEMARNAT/SS-2003 (DOF, 2005). Seleccionando sitios con diferentes características físicas y químicas. Los suelos se colectaron en tres relieve diferentes, en el sitio 1 se colectó el suelo Arenosol en dunas costeras, sitio 2 se colectó el suelo Gleysol en una llanura aluvial baja, y el sitio 3 se colecto el suelo Histosol en una planicie palustre (Cuadro 2).

Cuadro 2. Características de los sitios seleccionados

| Sitios  | Suelo   | Coordenadas                              | Magnitud derrame |
|---------|---|--|------------------|
| Sitio 1 | Arenosol Háptico (dístrico)                     | 18° 12' 54.62'' LN<br>94° 00' 55.91'' LW | Severa           |
| Sitio 2 | Gleysol Mólico (éutrico sódico)                 | 18° 02' 24.08'' LN<br>94° 02' 35.98'' LW | Severa           |
| Sitio 3 | Histosol Rhéico Sáprico (éutrico tóxico sódico) | 18° 02' 42.60'' LN<br>94° 02' 20.68'' LW | Severa           |



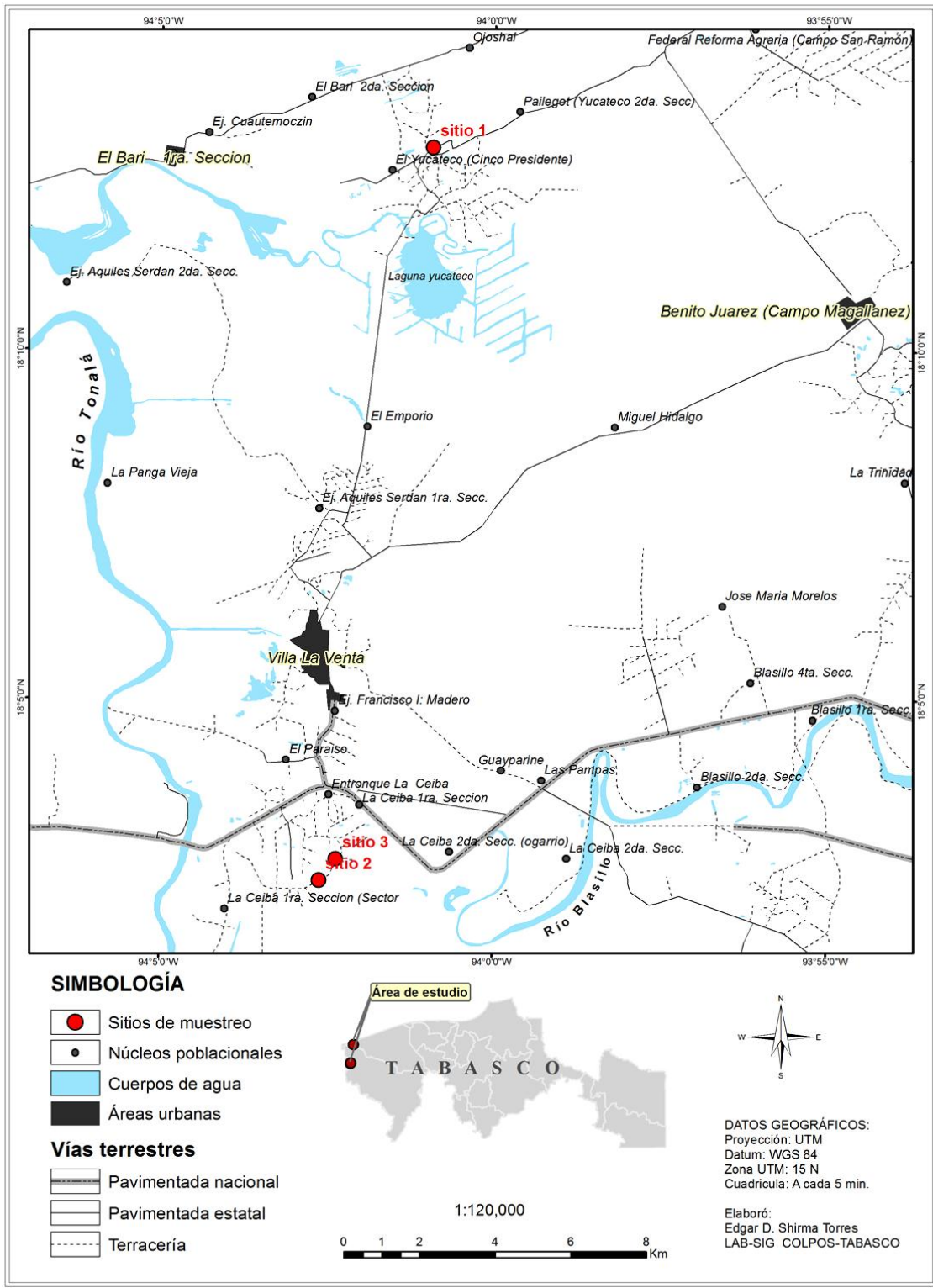


Figura 6. Ubicación de los sitios de muestreos

### 3.1.4. Características de los suelos en estudio

#### 3.1.4.1. Arenosol Háptico (Dístrico) (ARha (dy))

Los Arenosoles comprenden suelos arenosos, incluyendo tanto suelos desarrollados en arenas residuales después de la meteorización *in situ* de sedimentos o rocas ricas en cuarzo, y suelos desarrollados en arenas recién depositadas tales como dunas costeras y tierras de playa. El calificador Háptico evidencia que no presenta una característica significativa y el calificador Dístrico indica que tiene una saturación con bases (por NH<sub>4</sub>OAc 1M) menor de 50 por ciento en la mayor parte entre 20 y 100 cm de la superficie del suelo (Zavala y García, 2012). Se localiza en dunas arenosas situadas en la planicie costera, y presenta pastizales inducidos y cocoteros (Figura 7).

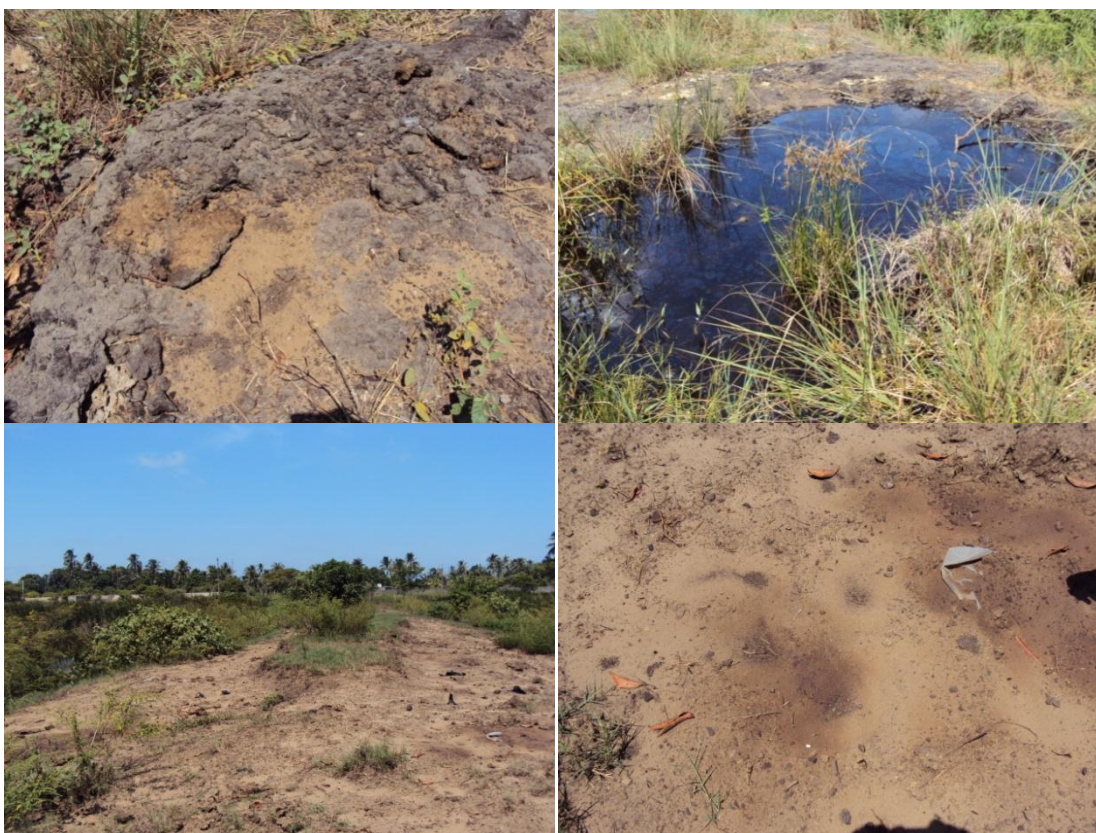


Figura 7. Aspecto del derrame de petróleo crudo en el ejido El Yucateco, en el sitio 1.

### **3.1.4.2. Gleysol Mólico (Éútrico, Sódico) GLmo (euso)**

Los Gleysoles son suelos de humedales que, a menos que sean drenados, están saturados con agua freática por períodos suficientemente largos para desarrollar un característico patrón de color gléyico. Presentan un horizonte Mólico (del latín mollis, blando) superficial, grueso, bien estructurado, oscuro, con alta saturación de bases y moderado a alto contenido de MO. Típicamente tiene estructura suficientemente fuerte, no masivo y duro, colores Munsell con croma y value de 3 o menos, CO de 0.6% o más, saturación de bases mayor a 50% y espesor de 25 cm o más; la presencia del calificador Éútrico indica que tiene una saturación con bases (por NH<sub>4</sub>OAc 1 M) de 50 por ciento o más en la mayor parte entre 20 y 100 cm de la superficie del suelo; además, el calificador Sódico se deduce por presentar 15 por ciento o más Na más Mg intercambiables en el complejo del intercambio dentro de 50 cm de la superficie del suelo en todo el espesor. Coincide con llanuras aluviales bajas sujetas a inundación en la época de lluvias, al sur de La Venta, y su uso es de pastizales inducidos (IUSS *et al.*, 2007; Zavala y García, 2012).

### **3.1.4.3. Histosol Rhéico Sáprico (éútrico tóxico sódico)**

Se deriva de acumulaciones de materia orgánica que descansan sobre sedimentos aluviales. Tiene altos contenidos de materia orgánica (>70%) y son muy ricos en nutrimentos; el color se identifica como pardo muy oscuro que cambia de acuerdo a su profundidad de negro a gris oscuro a causa de la saturación del agua; es muy ácido (pH <5.0) por lo que tiene uso muy restringido para cultivos; su CIC es alta (más de 70 cmol (+) Kg<sup>-1</sup> suelo) y los contenidos de Ca, Mg y P son altos en todo el perfil; presenta ligera sodicidad debido a que el contenido de Na más Mg intercambiable es mayor de 17% (Zavala y García, 2012). Se utiliza para pastizales inducidos adaptados a la inundación casi todo el año, pero su mayor cobertura es de vegetación hidrófita de popal y tular, y selvas de apompo.

## 3.2. Trabajo de laboratorio

### 3.2.1. Reactivos usados en la extracción

El criterio tomado para la elección de los disolventes de extracción, fue por el índice de constante dieléctrica, la cual indica la polaridad del disolvente y lo define como la capacidad de solvatar y estabilizar cargas (Thornton y Neilson, 1998). Esto permitió elegir tres disolventes con polaridad diferentes (Cuadro 3).

Cuadro 3. Propiedades físicas-químicas de los disolventes usados

| Solventes     | Formula química                 | Punto de ebullición | Punto de fusión | Constante dieléctrica | Características                | Marca                |
|---------------|---------------------------------|---------------------|-----------------|-----------------------|--------------------------------|----------------------|
| Hexano        | C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>  | 69°C                | -95.6°C         | 1.9                   | Toxico, inflamable e irritante | Macro Fine Chemicals |
| Diclorometano | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | 40°C                | -97°C           | 9                     | Toxico, inflamable e irritante | Meyer                |
| Acetonitrilo  | C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> N | 82°C                | -46°C           | 38                    | Toxico, inflamable e irritante | Fermont              |

### 3.2.2. Preparación de las muestras

Las muestras de suelo se secan bajo la sombra a temperatura ambiente en charolas de fibra de vidrio, después se molieron y tamizaron en malla de 1 mm de diámetro para cada suelo.

### 3.2.3. Prueba de homogeneidad

Para realizar esta prueba se necesita tener los suelos homogeneizados, para lo cual cada suelo se colocó dentro de un recipiente metálico por un periodo de 36 horas continuas para ser homogeneizado mediante movimientos rotatorios, al final de proceso el suelo se embazo en frascos con tapa rosca para su lectura y conservación. Esto se hace con la finalidad de tener muestras homogéneas ya que de esta manera se evalúan la calidad de los resultados evitando variaciones a la hora de analizar los datos.

En el Cuadro 4, se presentan los resultados de los datos del proceso de homogeneización.

Cuadro 4. Prueba de homogeneidad mediante la tecnología NIRS y análisis quimiométricos de los resultados.

| Muestra  | Registro de Laboratorio | Repeticiones | PCA      |        |                |              |
|----------|-------------------------|--------------|----------|--------|----------------|--------------|
|          |                         |              | X        | DE     | CV (%)         | Varianza (%) |
| Arenosol | 762/65-13               | 23           | 20.3564  | 0.0121 | <b>0.6490</b>  | <b>100</b>   |
| Gleysol  | 763/65-13               | 17           | -49.8985 | 0.0480 | <b>-0.0962</b> | <b>100</b>   |
| Histosol | 764/65-13               | 11           | -0.0139  | 0.0001 | <b>-0.7617</b> | <b>100</b>   |

PCA: Análisis de Componentes Principales; X: Media; DE: Desviación Estándar; CV: Coeficiente de Variación.

Para las lecturas de las muestras se utilizó en un Espectrómetro de Reflectancia en el Infrarrojo Cercano modelo Versatile Agri Analyzer™6500 System II Vertical Type 461008, Serial No. 9503 100-240 Vacmax 200 W, 50-60 Hz de la empresa FOSS NIRSystems, el intervalo que cubre el escáner es de 400 a 2500 nm (Figura 8).



Figura 8. Espectroscopio NIRs. Modelo Versatile Agri Analyzer TM 6500

El análisis de las muestras con el equipo NIRS, se realizó colocando muestras de suelo en celdas de transporte fabricada en cuarzo. La colocación de la muestra en la celda debe ser compacta, de tal forma que no se le formen grietas, evitando así la alteración de los datos. Se coloca en el equipo y se realiza la lectura, desde las longitudes de onda 400 hasta 2498 nm.

Una vez realizadas las lecturas en el equipo NIRS se hizo un análisis quimiométrico para generar los componentes principales, estos se realiza para obtener datos y espectros que se usan para generar el porcentaje de varianza explicada y el valor del coeficiente de

variación que funciona como prueba estadística de homogeneidad. El coeficiente de variación fue comparado con el valor reportado por Dane (2006) y Serra y Aranceta (2006) que establecen que una técnica analítica tiene alta precisión cuando su coeficiente de variación es inferior al 5%.

### **3.3. Determinación de la Composición Global de Hidrocarburos derivados del petróleo en muestras de suelos contaminados con el Método QuEChERS**

La determinación de la composición global de los hidrocarburos derivados del petróleo, se realizó mediante el método QuEChERS, que incluye técnicas de agitación-centrifugación (Anastassiades *et al.*, 2003a), usando disolventes con diferentes índices de polaridad y aplicando diversos tiempo de extracción, esto para cada tipo de suelo.

#### **3.3.1. Procedimiento del método QuEChERS**

La metodología QuEChERS consistió de dos etapas: la extracción y la limpieza de los extractos.

Para la extracción se pesaron 10 g de suelo y se colocaron en tubos para centrifuga, se adicionó 15 mL del solvente, esto está en función del tiempo y el tipo de suelo. Se procede a la agitación para lo cual se usó un agitador mecánico según los tiempos propuestos, se agregaron 2 g de sulfato de magnesio anhidro ( $\text{MgSO}_4$ ) y 1.5 g cloruro de sodio (NaCl), nuevamente se agito por 5 min y se centrifugó a 5 000 rpm por 5 min, con el propósito de separar la fase orgánica. Para la limpieza se tomaron los extractos de la fase orgánica, se agregaron 150 mg de sulfato de magnesio anhidro ( $\text{MgSO}_4$ ), se agitó durante 5 min, posteriormente se centrifugaron las muestras a 5 000 rpm por 5 min, para obtener el extracto final, el cual se conservó para su posterior lectura (Anastassiades *et al.*, 2003a).

El método QuEChERS ofrece como principales ventajas resultados exactos, precisos, rápidos, y bajas cantidades de solventes, reactivos y en general de material de laboratorio (Anastassiades *et al.*, 2003b; Brondi *et al.*, 2011; Albinet *et al.*, 2013; Vera *et al.*, 2013). El proceso de agitación-centrifugación asegura el contacto íntimo con la muestra haciendo más eficiente el proceso de extracción.



El analito extraído fue usado para generar las lecturas y los espectros, con los datos obtenidos se procedió el análisis de componentes principales (CP).

En las Figura 9 y 10 se muestra el proceso de extracción QuEChERS.

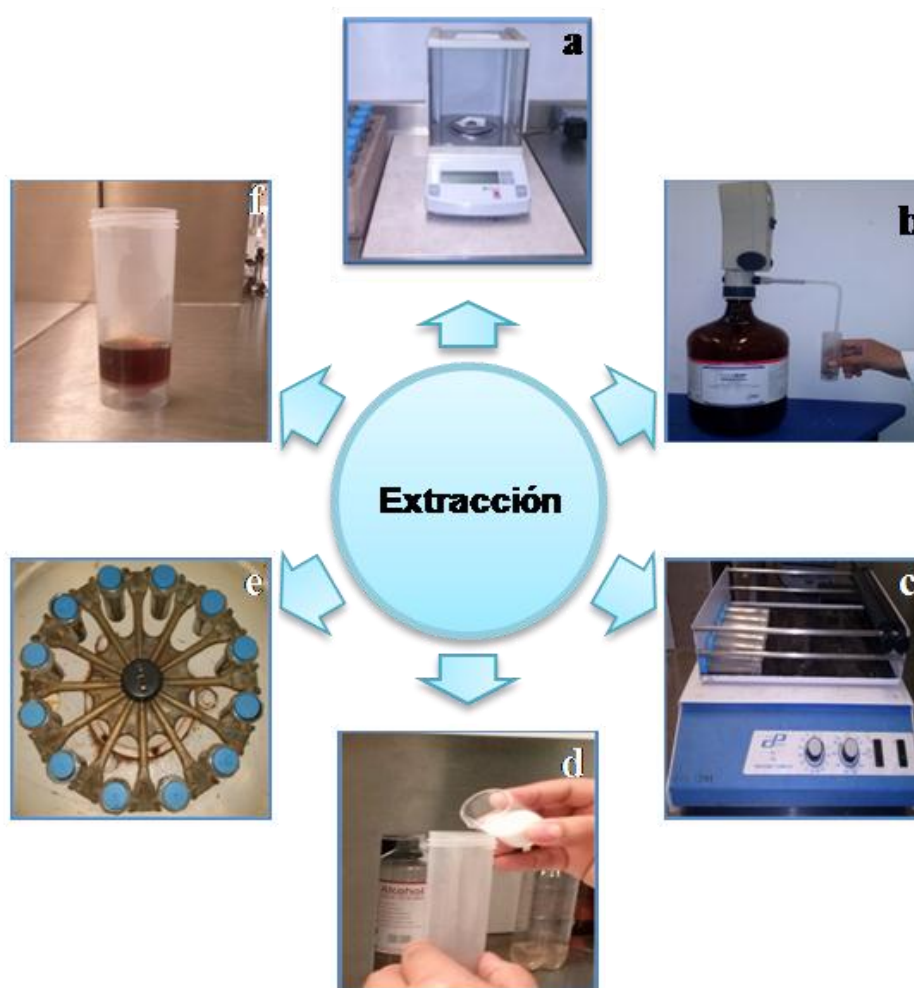


Figura 9. Etapa de extracción en el procedimiento de extracción QuEChERS.

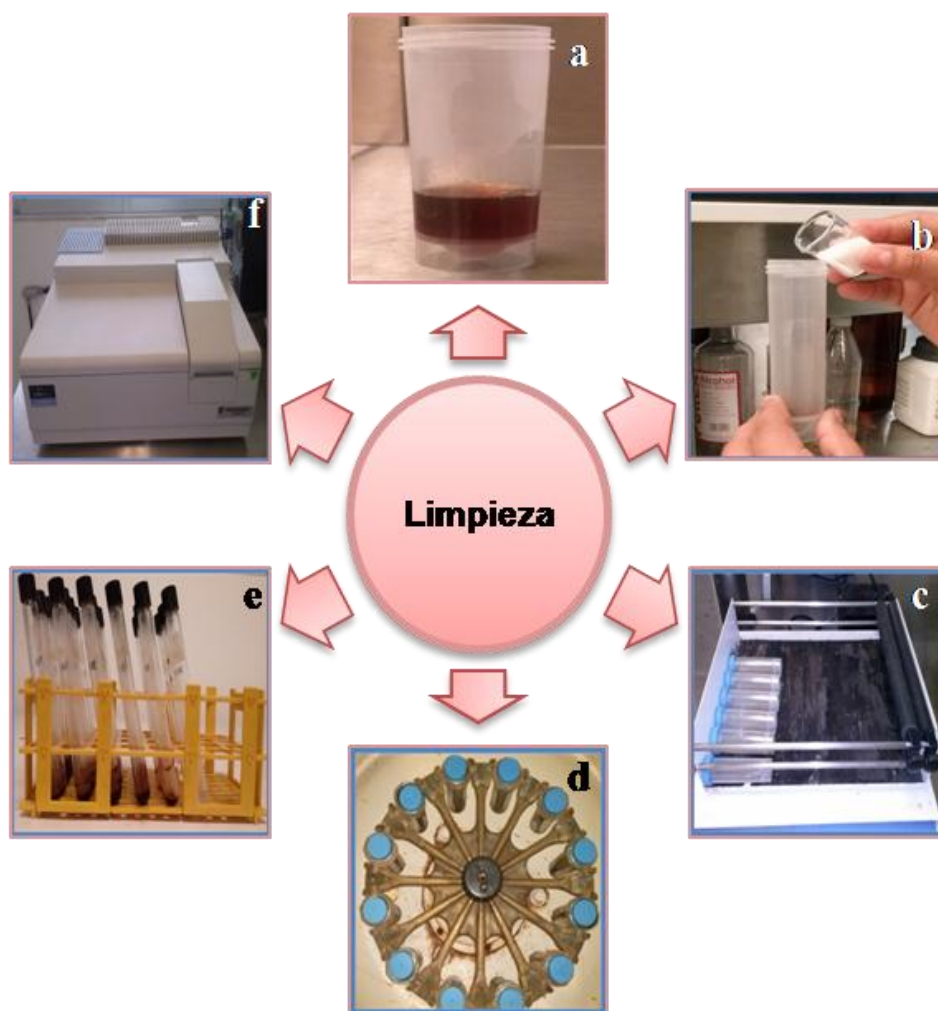


Figura 10. Etapa de limpieza en el procedimiento de extracción QuEChERS.

### 3.3.2. Configuración instrumental: barridos espectrales de las muestra con espectroscopia UV- Vis.

La lectura de las muestras extraídas se realizó en un espectrofotómetro de ultravioleta/visible (UV-Vis) de un solo haz, modelo Lambda 10 marca Perkin-Elmer, con requisito de energía de 100 V a 240 V AC, 50/60 Hz; 250 VA, el equipo cubre las longitudes de onda de 200 -1100 nm (Figura 11).





Figura 11. Espectrofotómetro UV- VISIBLE. Modelo Lambda 10

Para los análisis mediante espectroscopia UV-Visible se usó el analito extraído por QuEChERS. La preparación de la muestra para lectura en el UV-Visible se obtuvo recuperando el extracto final en tubos de dilución.

Las mediciones en el UV-Vis se realizaron calibrando el equipo, con agua destilada en una celda de cuarzo, posteriormente se realizó una segunda calibración con los solventes usados (hexano, diclorometano o acetonitrilo puro). Una vez calibrado y programado el equipo se prosiguió con las lecturas de cada una de las muestras.

Los barridos espectrales se realizaron en el intervalo de longitudes de onda de 200 a 1100 nm generando datos cada dos nm para cada una de las muestras, colocando cada una de las muestras en una celda de cuarzo, previniendo que las paredes por donde pasa el haz de luz estuvieran libres de grasas y evitando la formación de burbujas para que no hubieran interferencias con las lecturas.

Finalizada las lecturas se generó una base de datos en Excel para realizar los cálculos estadísticos correspondientes y evaluarlos quimiométricamente con el Pirouette Chemometrics Software versión 3.11.

### **3.4. Análisis quimiométricos y estadísticos**

La obtención de los espectros de las muestras se realizó con el programa ISISCAN. Para la interpretación quimiométrica de los espectros se usaron programas puentes como el

WinISI III y hojas de Excel para realizar los cálculos estadísticos; para el análisis de componentes principales y el modelado independiente de clases se usó el Pirouette Chemometrics Software versión 3.11 para Windows de Infometrix Inc. Copyright 2007 (Pirouette, 2007). La prueba de medias de Tukey se realizó con el programa estadístico SAS versión 9.3.

### 3.5. Diseño experimental

Para esta investigación se propuso un diseño experimental de tipo factorial 4 x 3; con dos factores en estudio (tiempo y solvente) (Cuadro 5), esto para cada tipo de suelo: Arenosol, Gleysol e Histosol. El factor A, tiempo de extracción, fue evaluado en cuatro niveles: 5, 10, 15, 20 minutos; el factor B fue el solvente, estudiado en tres niveles: Hexano (HEX), Diclorometano (DCM) y Acetonitrilo (ACN). Con el objetivo de hacer la estimación de los efectos del suelo con los niveles de los factores disolvente y tiempo, la combinación de los dos factores (A x B) y sus respectivos niveles genera un total de 12 tratamientos, mismos que fueron alojados en un diseño experimental completamente al azar (DCA) con cuatro repeticiones para cada tipo de suelo.

Para cada una de las variables estudiadas, se realizó un análisis de varianza (ANAVA) de acuerdo al diseño experimental propuesto y al siguiente modelo lineal:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \gamma_j + \theta_{ij} + e_{ijk}$$

Para:

$$i = 1, 2, \dots, 4;$$

$$j = 1, 2, 3;$$

$$k = 1, 2, \dots, 4;$$

Dónde:

$Y_{ijk}$  = Representa la observación en el i-ésimo nivel del factor A, la j-ésimo nivel del factor B y la k-ésima repetición;

$\mu$  = Es la media general;

$\alpha_i$ = Equivale al efecto fijo del i-ésimo nivel del factor A;

$\gamma_j$ = Es el efecto fijo del j-ésimo nivel del factor B;

$\theta_{jk}$ = Representa la interacción A x B; y

$e_{ijk}$ = Es el error aleatorio.

Posteriormente, para la interacción tiempo (A) por solvente (B) y efectos principales que resultaron significativos ( $p < 0.05$ ), se realizó una prueba de comparación múltiple de medias mediante el método de Tukey utilizando un nivel de significancia de 5 % ( $\alpha = 0.05$ ). La información fue procesada mediante el procedimiento GLM y la sentencia means del software para análisis estadístico SAS versión 9.3.

Cuadro 5. Factores y niveles en estudio por tipo de suelo

| <b>Factores</b>  | <b>Niveles</b>     |
|------------------|--------------------|
| Tiempo (minutos) | 05 (T1)            |
|                  | 10 (T2)            |
|                  | 15 (T3)            |
|                  | 20 (T4)            |
| Disolventes      | Hexano (D1)        |
|                  | Diclorometano (D2) |
|                  | Acetonitrilo (D3)  |

En el Cuadro 5 se observan los cuatros niveles del factor tiempo y los tres niveles del factor disolvente. El diseño experimental estuvo distribuido como se presenta en el Cuadro 6, donde se incluyen los factores y niveles por tipo de suelo, los nombres de los suelos (Arenosol, Gleysol e Histosol) presentados se emplearon como una abreviatura ya propuesta.

Para los suelos se emplearon las siguiente abreviaturas según le tipo, para el suelo 1 Arenosol (S1AR), suelo 2 Gleysol (S2GL) y para el suelo 3 Histosol (S3HS).

Cuadro 6. Diseño Experimental

| <b>Tiempo (T)</b> | <b>Disolvente (D)</b> | <b>S1</b>            | <b>S2</b>           | <b>S3</b>            |
|-------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|----------------------|
|                   |                       | <b>Arenosol (AR)</b> | <b>Gleysol (GL)</b> | <b>Histosol (HS)</b> |
| T1 (5')           | D1                    | S1T1D1               | S2T1D1              | S3T1D1               |
|                   | D2                    | S1T1D2               | S2T1D2              | S3T1D2               |
|                   | D3                    | S1T1D3               | S2T1D3              | S3T1D3               |
| T2 (10')          | D1                    | S1T2D1               | S2T2D1              | S3T2D1               |
|                   | D2                    | S1T2D2               | S2T2D2              | S3T2D2               |
|                   | D3                    | S1T2D3               | S2T2D3              | S3T2D3               |
| T3 (15')          | D1                    | S1T3D1               | S2T3D1              | S3T3D1               |
|                   | D2                    | S1T3D2               | S2T3D2              | S3T3D2               |
|                   | D3                    | S1T3D3               | S2T3D3              | S3T3D3               |
| T4 (20')          | D1                    | S1T4D1               | S2T4D1              | S3T4D1               |
|                   | D2                    | S1T4D2               | S1T4D2              | S3T4D2               |
|                   | D3                    | S1T4D3               | S1T4D3              | S3T4D3               |

### 3.6. LITERATURA CITADA

- Albinet, A., Tomaz, S. y F. Lestremau. 2013. A really quick easy cheap effective rugged and safe (QuEChERS) extraction procedure for the analysis of particle-bound PAHs in ambient air and emission samples. *Science of the Total Environment* 450-45:31-38.
- Anastassiades, M., Lehotay, S. J., Stajnbaher, D. y Schenck, F. J. 2003a. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *J AOAC International* 86(2): 412-431.
- Anastassiades, M., Maštovská, K. y Lehotay, S. J. 2003b. Evaluation of analyte protectants to improve gas chromatographic analysis of pesticides. *Journal of Chromatography A*, 1015:163–184.
- Brondi, S. H. G., de Macedo, A. N., Vicente, G. H. L. y Nogueira, A. R. A. 2011. Evaluation of the QuEChERS Method and Gas Chromatography–Mass Spectrometry for the Analysis Pesticide Residues in Water and Sediment. *Bull Environ Contam Toxicol* 86:18–22.
- DANE. 2006. Metodología Diseño Maestral. Ruta DIRPEN\Encuesta de Desempeño Institucional\documentación básica\metodologías\diseño muestral\dm-edi-dim-01.doc.
- DOF (Diario Oficial de la Federación). 2005. Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SS-2003. Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y remediación. 29 de Marzo de 2005. 21 p.

- IUSS, ISRIC y FAO. 2007. Base Referencial Mundial del Recurso Suelo. Primera actualización 2007. Informes sobre Recursos Mundiales de Suelos No. 103. FAO, Roma. 127 pp.
- Pirouette: Comprehensive Chemometrics modeling Software, Infometrix, Ver. 3.0, Woodinville, WA, 2007.
- Serra, M. L. y Aranceta, B. J. 2006. Nutrición y salud pública. Métodos, bases científicas y aplicaciones. 2a. ed. Masson. España, 826 p.
- Thornton, M. R. y Neilson, B. R. 1998. Química orgánica 5ta edición (Trad). Capítulo 6. Función de un disolvente - Enlace secundario. Editorial Pearson Addison Wesley. México D.F. Pp. 220-245.
- Vera, J., Correia, S. L., Paíga, P., Bragança, I., Fernández, V. C., Domínguez, F. V. y Delerue, M. C. 2013. QuEChERS and soil analysis. An Overview. Versita. Pp 54-77.
- Zavala, C. J. y García, L. E., (Eds). 2012. Suelo y vegetación de la Cuenca Baja del Río Tonalá, Tabasco. Publicación Especial del Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco. H. Cárdenas, Tabasco.

## CAPITULO IV

### COMPOSICIÓN GLOBAL DE HIDROCARBUROS DERIVADOS DEL PETRÓLEO EXTRAÍDOS POR EL MÉTODO QUECHERS

#### 4.1. Resumen

Actualmente las técnicas que más se utilizan para la extracción de Hidrocarburos Totales del Petróleo (HTP) son técnicas especificadas en la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (US-EPA), la finalidad de estas técnicas son cuantificar y clasificar los componentes presentes. Sin embargo en las últimas décadas se han desarrollado metodologías de extracción rápidas, que cumplen con ciertos requisitos y ventajas sobre las metodologías que especificadas en las normas. El método QuEChERS presenta varias ventajas sobre las metodologías convencionales, entre otras es fácil de usar. El objetivo de este trabajo fue adaptar el método QuEChERS y optimizar el tiempo de extracción y el solvente ideal para la extracción y cuantificación de los componentes globales de hidrocarburos derivados del petróleo presentes en suelos con características físicas y químicas diferentes. Durante la investigación los factores estudiados fueron el suelo, tiempo de extracción y solventes, con un diseño experimental de tipo factorial 4 x 3, establecidos en un diseño experimental completamente al azar (DCA) con cuatro repeticiones por tratamiento, por tipo de suelo. Los suelos Arenosol, Gleysol e Histosol fueron empleados, cuatro tiempos de extracción (5, 10, 15 y 20 min) y tres solventes (hexano, diclorometano y acetonitrilo), fueron evaluados. Los tratamientos donde se usó diclorometano mostraron la mayor concentración de componentes de hidrocarburos para suelos Arenosol y Gleysol, mientras que los tratamientos del Histosol evidenciaron las menores recuperaciones. Los tratamientos con hexano mostraron bajas concentraciones para los tres suelos. En los tratamientos donde se usó acetonitrilo la respuesta favorable fue para el suelo Histosol, mientras que en Arenosol y Gleysol las recuperaciones fueron bajas. El factor tiempo solo mostro efecto sobre el suelo Arenosol. La interacción de tiempo por solvente presento significancia negativa ( $p > 0.05$ ).

Palabras claves: componentes globales de hidrocarburos, espectros UV-VIS, análisis de componentes principales, factores.

#### **4.2. Abstract**

Currently the most widely used techniques for the extraction of Total Petroleum Hydrocarbons (TPH) are techniques specified in the Environmental Protection Agency of the United States (US-EPA), the purpose of these techniques to quantify and classify the components present. However, in the past decade has developed methodologies for rapid extraction, who meet certain requirements and advantages over the methodologies specified in the standards. The QuEChERS method meets some advantages; this method makes it easy to use. The aim of this study was to adapt the QuEChERS method and optimize the extraction time and the solvent ideal for extraction and quantification of global components of petroleum hydrocarbons in soils with different chemical and physical characteristics. During the investigation, the factors studied were soil, extraction time and solvent, with a factorial experimental design 4 x 3, set in a completely randomized experimental design (DCA) with four replicates per treatment by soil type. The Arenosol, Histosol, Gleysol soils were employed, and four extraction times (5, 10, 15 and 20 min) and three solvents (hexane, dichloromethane and acetonitrile) were evaluated. Treatments where was used dichloromethane showed the highest concentration of hydrocarbon components in Arenosol and Gleysol, while for soil treatments Histosol evidenced lower recoveries. Treatments with hexane showed low concentrations for the three soils. The acetonitrile was used treatments where the favorable response was Histosol, while for Gleysol and Arenosol recoveries were low. The time factor alone showed Arenosol effect on the soil. The interaction of solvent present time negative significance ( $p > 0.05$ ).

Key words: Global components of hydrocarbons, UV-VIS spectra, analysis of principal components, factors.



### 4.3. Introducción

El petróleo se ha considerado la materia prima que ha contribuido con el crecimiento y desarrollo industrial. Sin embargo ha ocasionados impactos negativos en aspectos ambientales, generando residuos los cuales son desechados a diferentes matrices (Fernández, 2006). En México existen suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo como consecuencia de fugas y derrames (SEMARNAT, 2009), así como por el manejo y disposición inadecuada de los residuos derivados de los procesos de extracción y procesamiento. En México se reportaron 3433 toneladas de hidrocarburos (petróleo crudo, diésel y gasolina) que fueron derramados en su mayoría en suelos (PEMEX, 2006).

El análisis de los suelos contaminados en México utiliza como método de extracción el método convencional Soxhlet establecido en la NOM-138-SEMARNAT/SS-2003 (DOF, 2005), cuyo fundamento es una extracción con un solvente; en el cual es calentado y recirculado a través de la muestra del suelo continuamente por 4 horas. En función del solvente y el tipo de suelo son necesarias extracciones de 16-24 horas (Pons, 2011); y de acuerdo con Weisman (1998) entre más horas de contacto el solvente con la matriz más eficiencia en el proceso de extracción. Debido a que se necesita mucho tiempo para el análisis de una muestra de suelo contaminada con petróleo crudo o sus derivados, es necesario desarrollar métodos eficaces en el tiempo de análisis y que generen la información suficiente para su diagnóstico; además de compuestos en concentraciones muy bajas en este tipo de matrices complejas (Asensio *et al.*, 2009).

El método QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe*; por su escritura en inglés), fue propuesto por Anastassiades *et al.* (2003a; 2003b), y desarrollado para la extracción de pesticidas en frutas y verduras, usando acetonitrilo como solvente de extracción; cuenta con dos etapas de análisis, la extracción en fase sólida dispersiva (d-SPE) y la purificación de la muestra (extracto). Este método ha sido modificado y se ha ampliado en la extracción de diferentes tipos de pesticidas (Wilkowska, 2011), especialmente en frutas y hortalizas. En grado mucho menor, también se ha aplicado a la extracción de los plaguicidas de otros tipos de producto alimenticios, por ejemplo arroz,

alimentos para bebés, aceitunas, leche (Abella, 2012), hierbas y miel (Payá *et al.*, 2007; Cunha *et al.*, 2007; Lehotay *et al.*, 2010). Así mismo esta metodología se ha aplicado para la extracción de hidrocarburos aromáticos policíclicos en un suelo (sin especificar el tipo) del Jardín Botánico de Grahamstown, South África, donde se identificaron 16 hidrocarburos aromáticos policíclicos (Bellah *et al.*, 2010). Las ventajas encontradas con esta metodología es que proporciona resultados rápidos, es barata, y el uso de disolvente y cristalería es bajo (Bellah *et al.*, 2010).

Por lo tanto, el presente trabajo se desarrolló con la finalidad de adaptar el método de extracción QuEChERS para la evaluación cualitativa de los componentes globales de hidrocarburos derivados del petróleo presente en suelos con características físicas y químicas diferentes.

## 4.4. Materiales y métodos

### 4.4.1. Muestreo de Suelos

Para el muestreo fueron seleccionados tres suelos contaminados con petróleo crudo y con características físicas y químicas diferentes; con base en el contenido de arena, arcilla y materia orgánica. La descripción de cada sitio muestreado y el suelo son descritos en el Cuadro 7. En cada suelo se colectaron 20 kg, los cuales fueron secados a la sombra y a temperatura ambiente, como lo indica la NOM-138-SEMARNAT/SS-2003 (DOF, 2005).

Cuadro 7. Descripciones de los sitios de muestreo y grado de contaminación visual

|         | Suelo   | Coordenadas                              | Magnitud del derrame |
|---------|---|--|----------------------|
| Sitio 1 | Arenosol Háptico (dístico)                      | 18° 12' 54.62'' LN<br>94° 00' 55.91'' LW | Severa               |
| Sitio 2 | Gleysol Mólico (éutrico sódico)                 | 18°02'24.08'' LN<br>94°02'35.98'' LW     | Severa               |
| Sitio 3 | Histosol Rhéico Sáprico (éutrico tóxico sódico) | 18°02'42.60'' LN<br>94°02'20.68'' LW     | Severa               |

Fuente: IUSS *et al.*, 2007; Zavala y García, 2012.

### 4.4.2. Preparación de las muestras de suelo

Una vez secas, cada muestra de suelo fue molida y tamizada a 1 mm de diámetro. Para la homogeneización del suelo durante 36 horas. Se utilizó una revoladora de suelo sin marca, de diseño propio; la cual consiste en una base con dos rodillos y un motor para hacer rotar el contenedor con la muestra. Dicho contenedor está construido con unas aspas en su interior para favorecer la homogeneización.

### 4.4.3. Prueba de homogeneidad

Luego de la homogeneización fueron extraídas del contenedor cinco muestras de 250 gramos, cada una, para evaluar la homogeneidad mediante la tecnología NIRS y la Quimiometría. Dicha prueba consistió en obtener la huella espectral NIRS en el intervalo de 400 a 2498 nm, en lectura cada dos nanómetros. El instrumento utilizado fue un espectrómetro de reflectancia en el infrarrojo cercano modelo

VersatileAgriAnalyzer™6500 System II Vertical Type 461008, Serial No. 9503 100-240 Vacmax 200 W, 50-60 Hz de la empresa FOSS NIRSystems.

Para el análisis quimiométrico de los espectros se utilizó el programa Pirouette versión 4.0 de Infometrix y el Excel como programa puente. El criterio utilizado fue el propuesto por Dane (2006) y Serra y Aranceta (2006) que establecen que una técnica analítica tiene alta precisión cuando su coeficiente de variación es inferior al 5%, indicando la homogeneidad de las muestras; en el Cuadro 8 se presentan los resultados de los datos del proceso de homogeneización.

Cuadro 8. Prueba de homogeneidad mediante la tecnología NIRS y análisis quimiométricos de los resultados.

| Muestra  | Registro de laboratorio | Repeticiones | PCA      |          |         |              |
|----------|-------------------------|--------------|----------|----------|---------|--------------|
|          |                         |              | X        | $\delta$ | CV (%)  | Varianza (%) |
| Arenosol | 762/65-13               | 23           | 20.3564  | 0.0121   | 0.6490  | 100          |
| Gleysol  | 763/65-13               | 17           | -49.8985 | 0.0480   | -0.0962 | 100          |
| Histosol | 764/65-13               | 11           | -0.0139  | 0.0001   | -0.7617 | 100          |

PCA: Análisis de Componentes Principales; X: Media; DE: Desviación Estándar; CV: Coeficiente de Variación.

Para ello, se realizó un análisis de componente principal de las huellas espectrales. Como la componente principal uno (CP1) explica más del 99% de la varianza total, este fue utilizado para demostrar la homogeneidad de las muestras de suelo. Con los datos de la CP1 se calculó el coeficiente de variación (Cuadro 8), el cual fue comparado con el criterio de Dane (2006) y Serra y Aranceta (2006).

Este procedimiento para demostrar homogeneidad fue propuesto por Guerrero (2012) como un criterio para evaluar la homogeneidad de las muestras de los ejercicios de intercomparación del Programa de Calidad e Intercomparación de Suelo y Planta que supervisa la Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo.

#### 4.4.4. Procedimiento de extracción QuEChERS

La metodología QuEChERS está constituida en dos etapas, la extracción y la limpieza de los extractos. Para la extracción se pesaron 10 g de suelo y se colocaron en tubos para centrifuga, se adicionó 15 mL del solvente de extracción, esto está dado en función del tiempo y tipo de suelo, se procede a la agitación utilizando un agitador mecánico en los tiempos propuestos (Cuadro 10), se agregaron 2 g de sulfato de magnesio anhidro ( $MgSO_4$ ) y 1.5 g cloruro de sodio ( $NaCl$ ), nuevamente se agito por 5 min y se centrifugó a 5 000 rpm por 5 min, con el propósito de separar la fase orgánica (Anastassiades *et al.*, 2003a). En las etapas de limpieza se tomaron los extractos de la fase orgánica, se agregaron 150 mg de sulfato de magnesio anhidro ( $MgSO_4$ ), se agitó durante 5 min en un agitador mecánico, posteriormente se centrifugaron las muestras por 5 min a 5000 rpm, para obtener el extracto final y ser conservado para su posterior lectura.

#### 4.4.5. Análisis de la composición global de hidrocarburos derivados del petróleo

Las muestras fueron analizadas mediante la extracción con el método QuEChERS (Anastassiades *et al.*, 2003a; 2003b) y la obtención del espectro ultravioleta visible. El espectro está formado por la composición global de los hidrocarburos extraídos de cada muestra. Para ello, se utilizaron tres solventes de extracción con diferentes índices de polaridad (Cuadro 9); además de cuatro tiempos de extracción. El criterio para la selección de los disolventes fue la constante dieléctrica ya que esta corresponde a la polaridad.

Cuadro 9. Propiedades físicas de los disolventes usados en la extracción de hidrocarburos derivados del petróleo.

| Solventes     | Formula química | Punto de ebullición | Punto de fusión | Constante dieléctrica | Características                |
|---------------|-----------------|---------------------|-----------------|-----------------------|--------------------------------|
| Hexano        | $C_6H_{14}$     | 69°C                | -95.6°C         | 1.9                   | Toxico, inflamable e irritante |
| Diclorometano | $CH_2Cl_2$      | 40°C                | -97°C           | 9                     | Toxico, inflamable e irritante |
| Acetonitrilo  | $C_2H_3N$       | 82°C                | -46°C           | 38                    | Toxico, inflamable e irritante |

Para esta investigación se utilizó un diseño experimental de tipo factorial 4 x 3; con dos factores en estudio (Cuadro 10), esto para cada tipo de suelo: Arenosol, Gleysol e Histosol. El factor A, tiempo de extracción, fue evaluado en cuatro niveles: 5, 10, 15 y 20 minutos; el factor B, solvente, estudiado en tres niveles: hexano (HEX), diclorometano (DCM) y acetonitrilo (ACN). Con el objeto de hacer la estimación de los efectos del factor suelo con los niveles del factor disolvente y tiempo, la combinación de los dos factores (A x B) y sus respectivos niveles, generó un total de 12 tratamientos; mismos que fueron alojados en un diseño experimental completamente al azar (DCA) con cuatro repeticiones para cada tipo de suelo.

Cuadro 10. Variables y niveles en estudio

| <b>Factores</b>  | <b>Niveles</b>    |
|------------------|-------------------|
| Tiempo (minutos) | 05                |
|                  | 10                |
|                  | 15                |
|                  | 20                |
| Disolventes      | Hexano (A)        |
|                  | Diclorometano (B) |
|                  | Acetonitrilo (C)  |

Una vez realizada la extracción de hidrocarburos de cada muestra de suelo, y de acuerdo con el diseño experimental, se obtuvieron las huellas espectrales de cada extracto en un espectrómetro ultravioleta visible (UV-Vis) con haz doble, marca Perkin Elmer modelo Lambda 15. El intervalo de los espectros fue de 200 a 1100 nm, con lecturas cada dos nanómetros. Lo cual generó 450 datos por muestra, mismos que corresponden a la composición química global (entre ellos los hidrocarburos extraídos en cada muestra).

Los espectros obtenidos fueron transformados a variables de escala para el análisis estadístico; además, de acuerdo con la base de datos de Perkin Elmer, se identificaron las especies químicas presentes en cada una de las extracciones.

#### 4.4.6. Análisis estadístico

Con los datos que componen los espectros se realizó el análisis de componentes principales. Con la componente principal 1 (PC1) que corresponde a la primera nueva variable, se realizó un análisis de varianza (ANAVA) de acuerdo con el diseño experimental propuesto. Posteriormente, para la interacción tiempo (A) por solvente (B) y efectos principales que resultaron significativos ( $p < 0.05$ ), se realizó una prueba de comparación múltiple de medias mediante el método de Tukey utilizando un nivel de significancia de 5 % ( $\alpha = 0.05$ ). La información fue procesada mediante el procedimiento GLM y la sentencia *means* del software para análisis estadístico SAS versión 9.3.

#### 4.5. Resultados

Los espectros transformados en variables de escala, generaron una matriz de 60x450 (muestras x variables), con un total de 27 000 datos. Con estos datos se obtuvo el componente principal uno que se presenta en los Cuadros 12, 13 y 14. Además, con base en Owen (2000), Skoog *et al.* (2001) y Litter *et al.* (2009) se establecieron longitudes de onda con las cuales se hizo una identificación cualitativa de las especies químicas en cada uno de los espectros (Cuadro 11). Los espectros (Figura 12) fueron agrupados por tipo de suelo para su análisis, en donde se observan que las mayores absorbancia se encuentran dentro las longitudes de onda 200 a 600 nm. Donde se presentan que los compuestos encontrados pertenecen a longitudes de ondas de especies químicas con características orgánicas y enlaces insaturados.



Cuadro 11. Identificación de especies derivadas del petróleo extraídas con el método QuEChERS e identificadas en el espectro ultravioleta-visible.

| Compuesto  | Muestras*  |            |            |            |            |            |            |            |            |
|--|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
|  | AR+<br>HEX | AR+<br>DCM | AR+<br>ACN | GL+<br>HEX | GL+<br>DCM | GL+<br>ACN | HS+<br>HEX | HS+<br>DCM | HS+<br>ACN |
| <b>Alquenos;</b>                                     |            |            |            |            |            |            |            |            |            |
| <b><math>\lambda=200\text{nm}</math>;</b>            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |
| Metano   | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| Eteno  | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| Propeno  | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| n-buteno   | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| n-penteno  | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| n-hexeno   | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| n-hepteno  | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| n-octeno   | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| n-noneno   | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| n-deceno   | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| n-undeceno   | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| n-dodeceno   | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| n-trideceno  | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| n-tetradeceno  | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| n-pentadeceno  | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| n-hexadeceno   | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| n-heptadeceno  | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| n-octadeceno   | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| n-nonadeceno   | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| n-eicoseno   | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| <b>Alquinos;</b>                                     |            |            |            |            |            |            |            |            |            |
| <b><math>\lambda_{\text{max}} \approx 200</math></b> |            |            |            |            |            |            |            |            |            |
| <b>nm</b>  |            |            |            |            |            |            |            |            |            |
| Etino  |            |            |            |            |            |            |            |            |            |
| (acetileno)  | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| Propino  | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| 1-Butino   | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| 1-Pentino  | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| 1-Hexino   | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| 1-Heptino  | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| 1-Octino   | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| 1-Nonino   | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| 1-Decino   | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |

\*AR: Arenosol, GL: Gleysol; HS: Histosol; HEX: Hexano; DCM: Diclorometano; ACN: Acetonitrilo

Tabla 11. Fin.

| Compuesto                                      | Muestras*  |            |            |            |            |            |            |            |            |
|--|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
|  | AR+<br>HEX | AR+<br>DCM | AR+<br>ACN | GL+<br>HEX | GL+<br>DCM | GL+<br>ACN | HS+<br>HEX | HS+<br>DCM | HS+<br>ACN |
| <b>Polienos;</b>                               |            |            |            |            |            |            |            |            |            |
| <b><math>\lambda_{\max} = 220</math></b>       |            |            |            |            |            |            |            |            |            |
| Butadieno                                      | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| 1,3,5-<br>hexadieno                            | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| 1,3,5,7-<br>octadieno                          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| <b>Dienos;</b>                                 |            |            |            |            |            |            |            |            |            |
| <b><math>\lambda_{\max} \approx 220</math></b> |            |            |            |            |            |            |            |            |            |
| <b>nm</b>                                      |            |            |            |            |            |            |            |            |            |
| 1,4-<br>pentadieno                             | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| 1,3-<br>pentadieno                             | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| <b>Aromáticos;</b>                             |            |            |            |            |            |            |            |            |            |
| <b><math>\lambda_{\max} = 205-</math></b>      |            |            |            |            |            |            |            |            |            |
| <b>300nm</b>                                   |            |            |            |            |            |            |            |            |            |
| Benceno  | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| Tolueno  | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| Etilbenceno                                    | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| Propilbenceno                                  | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| Isopropilbenceno                               | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| o-Xileno                                       | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| m-Xileno                                       | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| p-Xileno                                       | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| 1,2,3<br>Trimetilbenceno                       | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| 1,2,5<br>Trimetilbenceno                       | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| Estireno                                       | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| Bifenilo                                       | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |
| Naftaleno                                      | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          | +          |

\*AR: Arenosol, GL: Gleysol; HS: Histosol; HEX: Hexano; DCM: Diclorometano; ACN: Acetonitrilo

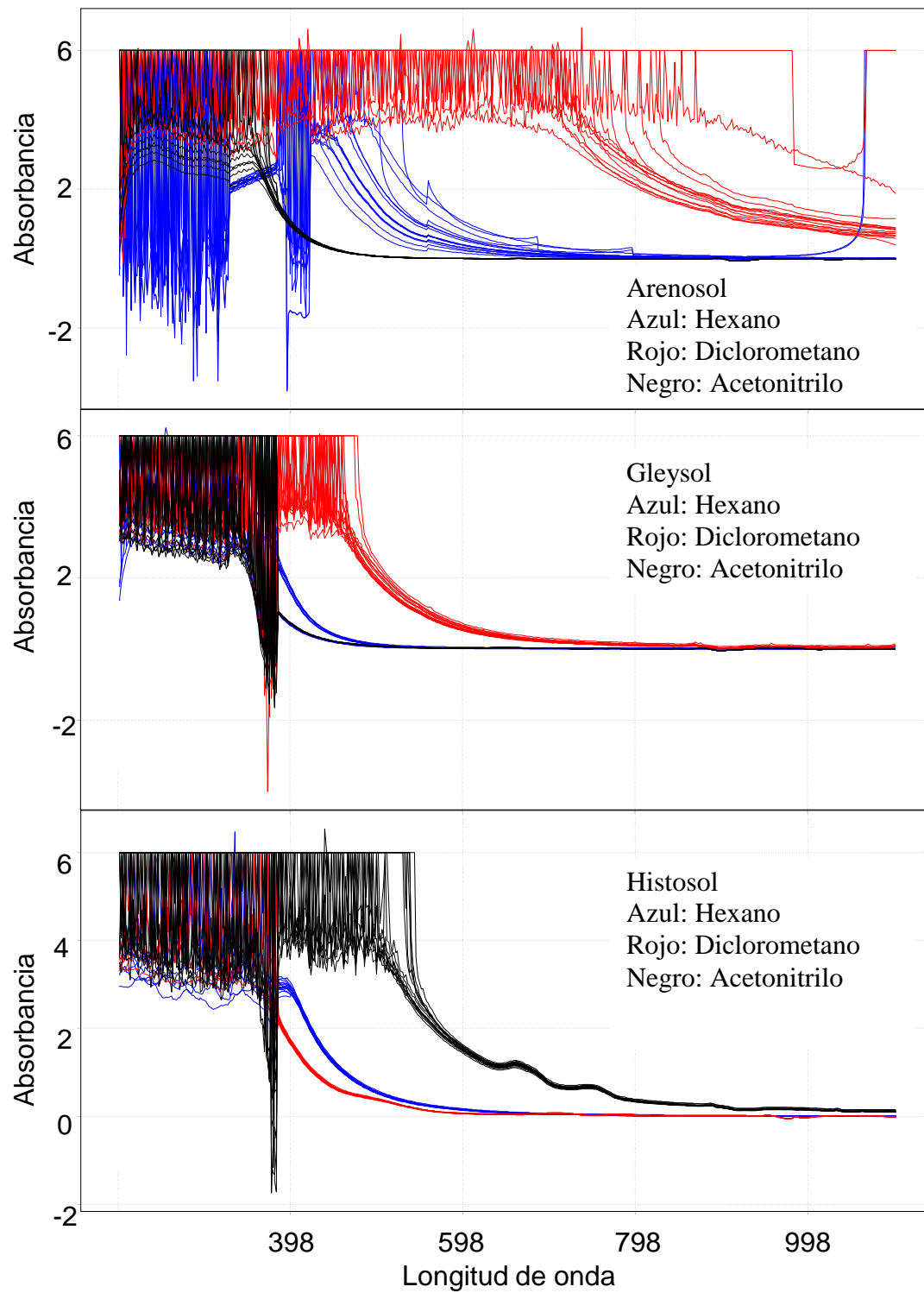


Figura 12. Espectros ultravioleta-visible de los extractos obtenidos con el método QuEChERS con cada uno de los solventes en las tres muestras de suelo.

Cuadro 12. Valores del componente principal uno de la composición global de hidrocarburos derivados del petróleo en suelo Arenosol

| Solvente      | Repeticiones | 5'      | 10'     | 15'     | 20'    |
|---------------|--------------|---------|---------|---------|--------|
| Hexano        | r1           | 43,997  | 40,766  | 44,004  | 30,269 |
|               | r2           | 33,616  | 35,118  | 50,553  | 28,881 |
|               | r3           | 69,021  | 53,168  | 48,933  | 30,951 |
|               | r4           | 65,049  | 40,917  | 43,973  | 46,095 |
| Diclorometano | r1           | 118,476 | 104,361 | 98,904  | 98,450 |
|               | r2           | 98,170  | 102,931 | 105,663 | 84,470 |
|               | r3           | 107,657 | 80,854  | 102,891 | 95,343 |
|               | r4           | 100,008 | 63,593  | 95,041  | 90,207 |
| Acetonitrilo  | r1           | 53,946  | 36,275  | 54,045  | 55,805 |
|               | r2           | 26,704  | 26,977  | 45,762  | 56,353 |
|               | r3           | 55,401  | 25,261  | 52,853  | 31,902 |
|               | r4           | 56,090  | 22,826  | 35,303  | 29,114 |

Cuadro 13. Valores del componente principal uno de la composición global de hidrocarburos derivados del petróleo en suelo Gleysol

| Solventes     | Repeticiones | 5'     | 10'    | 15'    | 20'    |
|---------------|--------------|--------|--------|--------|--------|
| Hexano        | r1           | 58,040 | 50,471 | 53,157 | 36,460 |
|               | r2           | 58,075 | 55,874 | 38,634 | 26,053 |
|               | r3           | 30,188 | 57,091 | 53,965 | 24,996 |
|               | r4           | 32,032 | 57,469 | 45,895 | 28,318 |
| Diclorometano | r1           | 71,556 | 64,140 | 66,992 | 68,746 |
|               | r2           | 58,471 | 69,992 | 56,509 | 64,684 |
|               | r3           | 56,008 | 69,691 | 51,103 | 61,143 |
|               | r4           | 71,348 | 35,129 | 48,576 | 46,664 |
| Acetonitrilo  | r1           | 23,073 | 55,868 | 55,060 | 43,249 |
|               | r2           | 55,642 | 55,893 | 23,460 | 25,064 |
|               | r3           | 55,883 | 35,550 | 44,878 | 45,440 |
|               | r4           | 44,253 | 32,592 | 24,733 | 44,998 |

Cuadro 14. Valores del componente principal uno de la composición global de hidrocarburos derivados del petróleo en suelo Histosol

| Solvente      | Repeticiones | 5'     | 10'    | 15'    | 20'    |
|---------------|--------------|--------|--------|--------|--------|
| Hexano        | r1           | 59,059 | 51,033 | 54,137 | 28,809 |
|               | r2           | 51,380 | 50,994 | 54,627 | 31,297 |
|               | r3           | 43,299 | 55,633 | 34,724 | 50,651 |
|               | r4           | 32,424 | 47,322 | 45,924 | 59,016 |
| Diclorometano | r1           | 58,148 | 43,227 | 57,859 | 31,686 |
|               | r2           | 58,180 | 53,100 | 49,599 | 42,054 |
|               | r3           | 58,164 | 43,187 | 48,085 | 51,974 |
|               | r4           | 57,033 | 47,428 | 48,496 | 47,534 |
| Acetonitrilo  | r1           | 78,754 | 78,788 | 63,575 | 78,666 |
|               | r2           | 78,309 | 79,303 | 71,737 | 78,204 |
|               | r3           | 75,457 | 56,036 | 54,784 | 50,382 |
|               | r4           | 52,977 | 50,990 | 49,735 | 66,444 |

#### 4.5.1 Efecto de los factores tiempo y solvente sobre la extracción de componentes globales de hidrocarburos

De acuerdo con el ANAVA efectuado para cada uno de los tres suelos en estudio (Cuadro 15), el factor solvente fue significativo en los tres tipos de suelo y el factor tiempo tuvo significancia solo en el tipo de suelo Arenosol ( $p \leq 0.05$ ), en tanto que la interacción solvente por tiempo, en los tres tipos de suelo, resultó no significativa ( $p > 0.05$ ).

Cuadro 15. Resultados del ANAVA para cada uno de los tres suelos en estudio

| Fuente de variación | GL | Suelo (Pr>F)      |                   |                   |
|---------------------|----|-------------------|-------------------|-------------------|
|                     |    | Arenosol          | Gleysol           | Histosol          |
| Tiempo              | 3  | <b>0.0035</b>     | 0.1406            | 0.3358            |
| Solvente            | 2  | <b>&lt;0.0001</b> | <b>&lt;0.0001</b> | <b>&lt;0.0001</b> |
| Tiempo*Solvente     | 6  | 0.5584            | 0.2715            | 0.4919            |
| Error               | 36 |                   |                   |                   |
| Corregido total     | 47 |                   |                   |                   |

#### 4.5.2. Suelo Arenosol

La significancia del efecto de los tiempos, además de verificarse en forma estadística, también se puede observar en la Figura 13 donde se muestran las medias de los tiempos, observándose que los de mayor valor fueron 5 y 15 min ( $p < 0.05$ ), influenciando sobre las lecturas obtenidas en el proceso de extracción. El efecto de los solventes también fue significativo ( $p < 0.05$ ), en la Figura 14 se muestran las medias de los solventes, en el que se observa que el solvente B (diclorometano) mostro la mayor extracción de los componentes derivados de hidrocarburos presentes en las muestras. Seleccionando un tiempo de 5 ó 20 minutos y el solvente B (diclorometano) se puede alcanzar las mayores lecturas de componentes derivados de hidrocarburos presentes en las muestras.

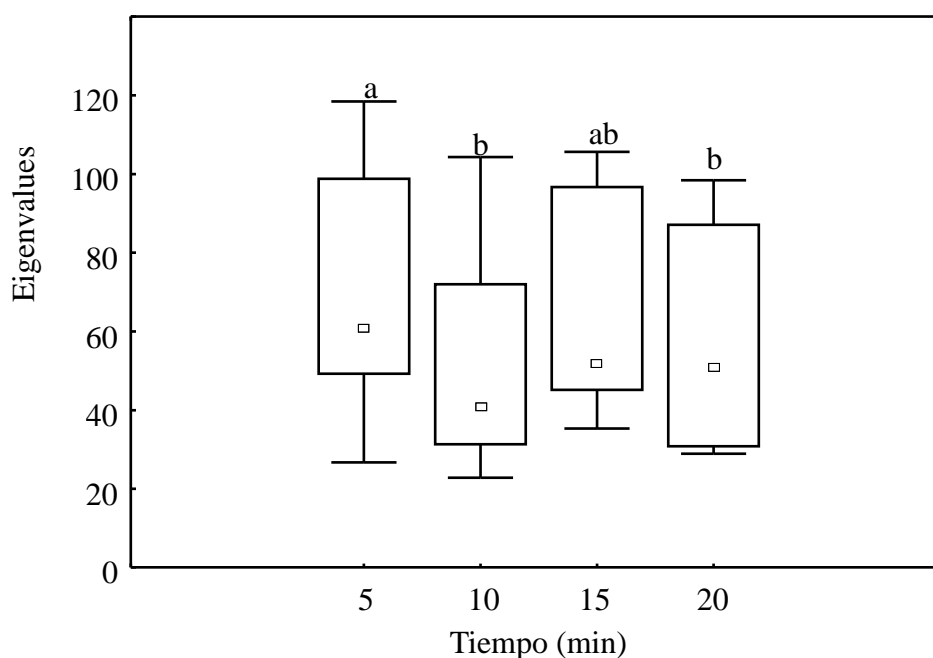


Figura 13. Diagramas de caja y bigote y medias del factor tiempo en suelo Arenosol. Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes (Tukey,  $p < 0.05$ ).

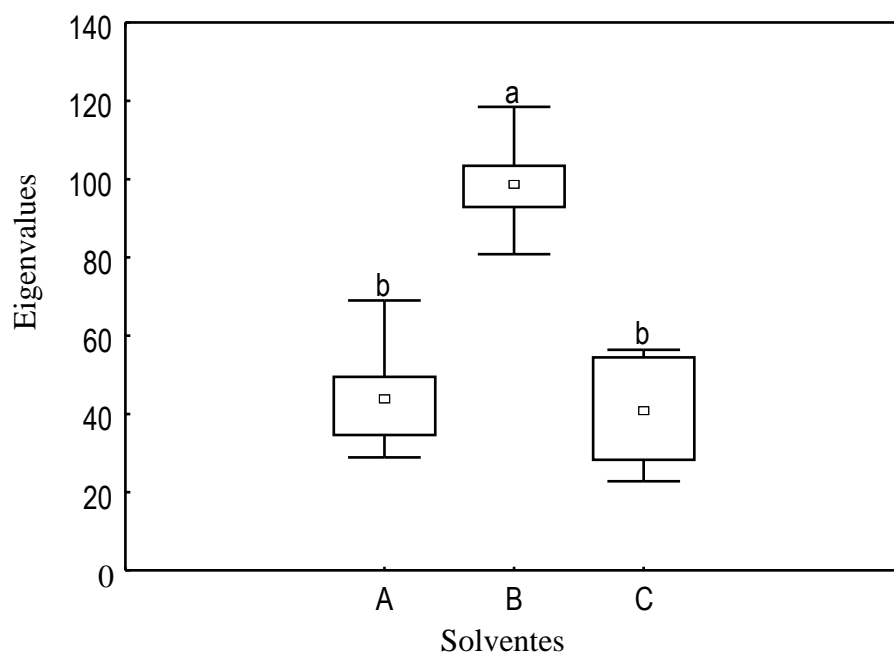


Figura 14. Diagramas de caja y bigote y prueba de medias del factor solventes en suelo Arenosol. Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes (Tukey,  $p < 0.05$ ). A: Hexano; B: Diclorometano y C: Acetonitrilo.

### 4.5.3. Suelo Gleysol

Del análisis estadístico aplicando una prueba de media Tukey con una significancia ( $p \leq 0.05$ ), se observa que el efecto del tiempo no es estadísticamente significativo ( $p > 0.05$ ) en el proceso de extracción (Figura 15). Por otro lado el factor solvente presenta diferencias altamente significativa ( $p < 0.05$ ) indicando que hay un efecto de esta variable, el solvente B (diclorometano) fue el que presentó la mayor lectura de los componentes globales derivados de hidrocarburos del petróleo presentes en las muestras (Figura 16). Seleccionando los tiempos 5-20 minutos y el solvente B (diclorometano) se puede alcanzar las mayores lecturas de componentes derivados de hidrocarburos en suelo Gleysol.

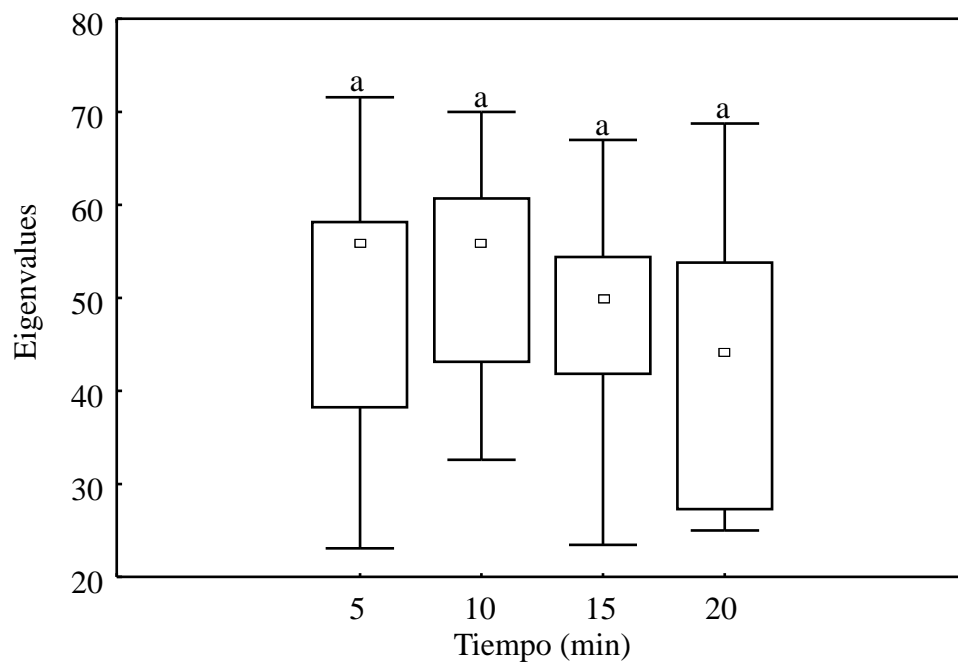


Figura 15. Diagramas de caja y bigote y medias del factor tiempo en suelo Gleysol. Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes (Tukey,  $p < 0.05$ ).

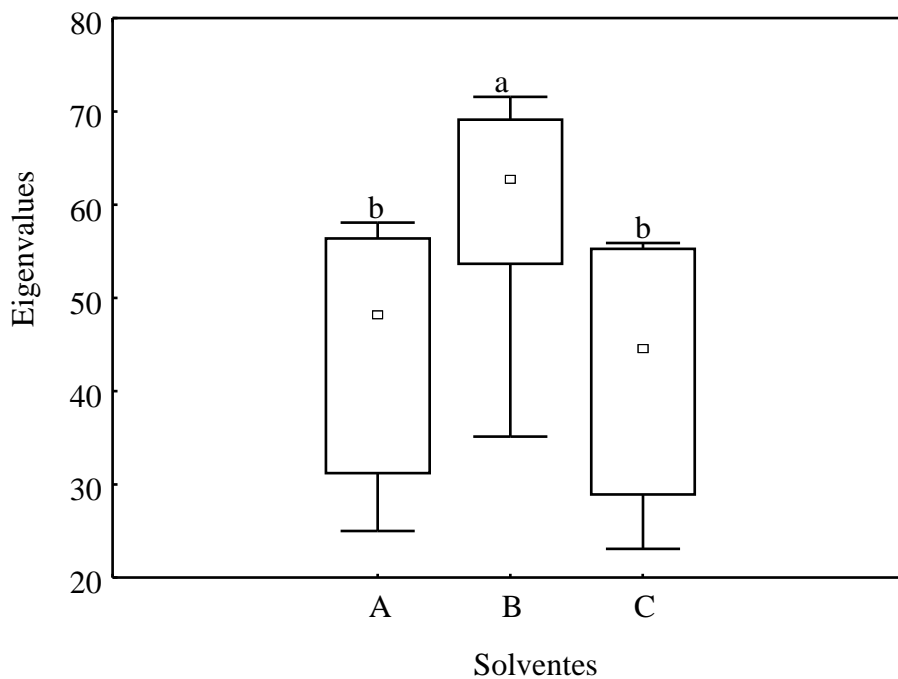


Figura 16. Diagramas de caja y bigote y medias del solvente suelo Gleysol. Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes (Tukey,  $p < 0.05$ ). A: Hexano; B: Diclorometano y C: Acetonitrilo.



#### 4.5.4. Suelo Histosol

En la Figura 17 se muestran las medias de los tiempos, observándose que no hubo diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en el proceso de extracción. Por otro lado, el efecto de los solventes presento diferencias altamente significativas ( $p < 0.05$ ), en la Figura 18 se muestran las medias de los solventes, en el que se observa que C (acetonitrilo) presento los valores más altos, indicando que extrajo la mayor cantidad de componentes de hidrocarburos presentes en las muestras. Con base en el análisis de varianza, seleccionando los tiempos 5 y 20 minutos y el solvente C (acetonitrilo), se pueden obtener resultados confiables para el Histosol contaminado con petróleo.

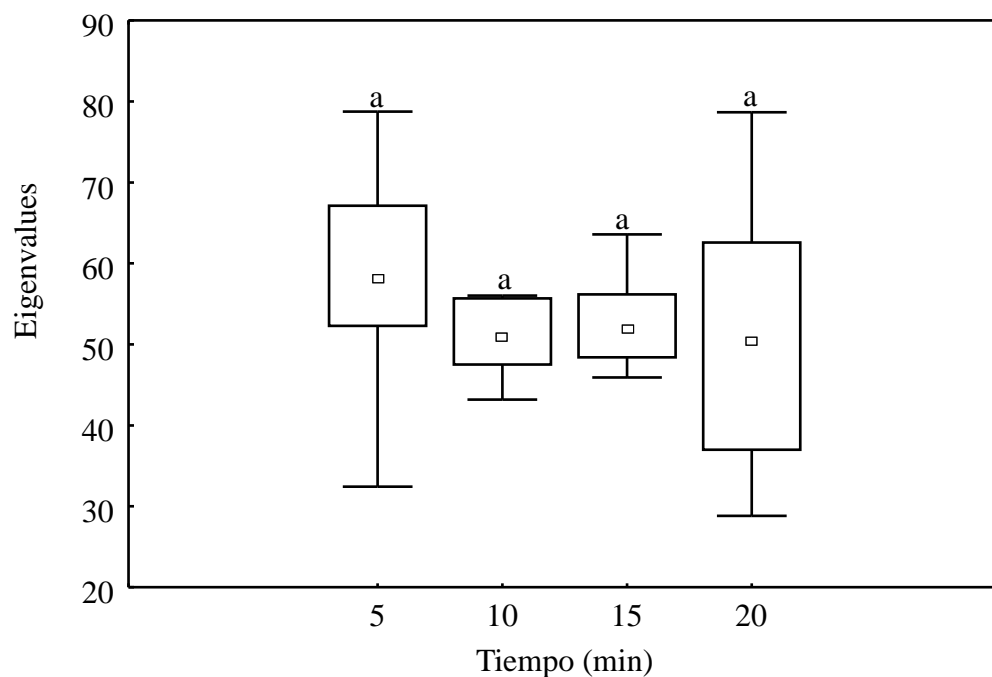


Figura 17. Diagramas de caja y bigote y medias del factor tiempo en suelo Histosol. Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes (Tukey,  $p < 0.05$ ).

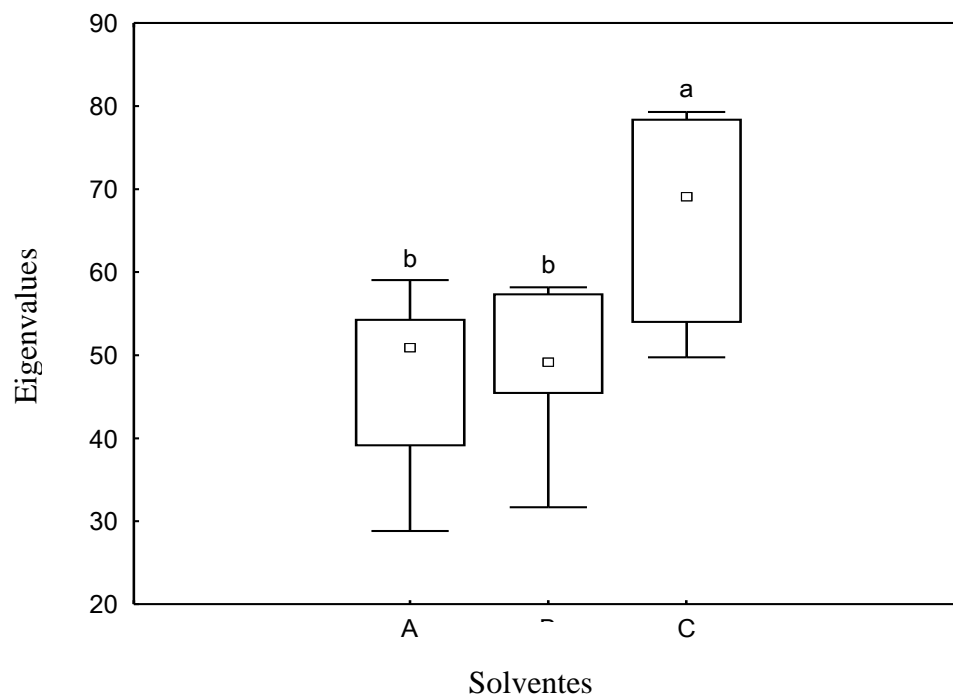


Figura 18. Diagramas de caja y bigote y medias del factor solventes en suelo Histosol. Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes (Tukey,  $p < 0.05$ ). A: Hexano; B: Diclorometano y C: Acetonitrilo.

## 4.6. Discusión

Efecto de los factores tiempo y solvente sobre la extracción de componentes globales de hidrocarburos. El factor tiempo presento influencia sobre las extracciones sobre los suelos en estudio, Albinet *et al.* (2013) al estudiar la influencia del tiempo de agitación en la eficacia de la extracción de los HAPs, después de sólo 30 segundos de agitación, la extracción de la HAPs era casi completa y la eficiencia de la extracción se mantuvo después de 1 min de agitación, de la misma forma los tiempo aplicados en los suelos Histosol y Gleysol se mantuvo después de 5 min la eficacia de la extracción.

El solvente el B (diclorometano) presento la mayor concentración de componentes derivados del petróleo en los suelos Arenosol y Gleysol, mientras que para el suelo Histosol tuvo mayor eficiencia de extracción el acetonitrilo. Los suelos arcillosos y ricos en materia orgánica, como el Gleysol, inmovilizan compuestos del petróleo, reducen su toxicidad y disminuyen su diseminación en la superficie o infiltraciones en el perfil (Gupta y Li, 1993; Totshe *et al.*, 1997; Oken y Traina, 1997). Así mismo Bruce (2000), indica que el diclorometano se tomó como el mejor solvente de extracción para hidrocarburos derivados del petróleo en un estudio donde se comparó la eficiencia de extracción contra otros solventes. Mientras que esta consideración para el suelo de tipo orgánico no aplica.

### 4.6.1. Suelo Arenosol

El factor tiempo presento efecto sobre la extracción de los componentes globales de hidrocarburos presentes en las muestras, destacando que los tiempos 5 y 15 min bastaron para obtener las mayores concentraciones. Esto indica que el tiempo de contacto entre el disolvente y el soluto influye en las extracciones, observándose que 5 min son suficientes para obtener las mayores concentraciones del contaminante, en congruencia con los resultados obtenidos por Anastassiades *et al.* (2003a) y Bellah *et al.* (2010); no obstante no se descarta que 15 min de extracción se podrían aplicar y obtener resultados similares. El factor solvente presento influencia sobre las concentraciones, el diclorometano se considera el solvente de opción para muchos componentes semivolátiles, este disolvente presenta alta

eficacia en el extracto, además de costos en comparación con otros disolventes (Weisman, 1998). Los extractos finales obtenidos presentaban un color ámbar fuerte, esto hace referencia que los componentes presentes son compuestos de alto peso molecular (Pardo *et al.*, 2004). El Arenosol estudiado presenta textura gruesa, tiene baja fertilidad, manto freático elevado en época de lluvias en colindancias con Histosoles y Gleysoles, y la alta concentración de compuestos del petróleo se explica por la acumulación de lodos con petróleo intemperizados durante varias décadas (Zavala *et al.*, 2005; Pons *et al.*, 2011). Gupta y Li (1993) y Totshe *et al.* (1997), mencionan que los suelos con textura arenosa, favorecen la movilidad y toxicidad de los hidrocarburos, cuando ha ocurrido un derrame por hidrocarburos, aunado a esto, el Arenosol presento la mayor concentración de componentes derivados de hidrocarburos, en comparación con los otros dos suelos.

#### **4.6.2. Suelo Gleysol**

El factor tiempo para este tipo de suelo no fue significativo ya que la extracción no presentó variación en los tiempos de extracción evaluados. Por lo que, aplicando un tiempo de 5 a 20 min se pueden obtener los mismos resultados. Este resultado es congruente con los obtenidos por Anastassiades *et al.* (2003a) y Bellah *et al.* (2010) quienes indican en su metodología que cinco minutos de extracción son necesarios para obtener los mayores resultados. Considerando el factor solvente como variable en estudio se observa que el solvente B (diclorometano) presento las mayores concentraciones de componentes globales de hidrocarburos, esto se atribuye a que los suelos de tipo de Gleysol presentan superficies activas, lo que permite que los hidrocarburos sean adsorbidos y acumulados en el suelo, principalmente los hidrocarburos alifáticos intemperizados y los aromáticos originados por la combustión incompleta del petróleo (Gutiérrez y Zavala, 2001).

#### **4.6.3. Suelo Histosol**

Para el Histosol, el tiempo no presento variaciones significativas en concordancia con la metodología establecida donde se indica que cinco de minutos de extracción son

necesarios para obtener las concentraciones esperadas (Anastassiades *et al.*, 2003a; 2003b; Bellah *et al.*, 2010). El solvente acetonitrilo presento la mayor concentración de componentes derivados de hidrocarburos en Histosol, y para los suelos Arenosol y Gleysol fue el diclorometano; este resultado se explica porque el Histosol, suelo orgánico con presencia de componentes polares, y el acetonitrilo, el cual se considera un disolvente polar, al tener contacto los dos componentes la atracción es fuerte, resultando que este disolvente tuvo la mayor concentración sobre el Histosol.

La correlación que presentaron las componentes principales y las absorbancias obtenidas en los espectros registrados para cada unidad experimental, es la base para conocer la propuesta del mejor tiempo y solvente para cada tipo de suelo contaminado con petróleo.

#### 4.7. LITERATURA CITADA

- Abella, G. J. P., Salazar, S. E. P., Valenzuela, G. S., Zamudio, S. A. M. y Ahumada, F. D. A. 2012. Desarrollo de una metodología para el análisis de residuos de plaguicidas en leches mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas. *Revista Mutis* 2:2. Pp. 107-125.
- Albinet, A., Tomaz, S. y Lestremau, F. 2013. A really quick easy cheap effective rugged and safe (QuEChERS) extraction procedure for the analysis of particle-bound PAHs in ambient air and emission samples. *Science of the Total Environment* 450-45:31-38.
- Anastassiades, M., Lehotay, S. J., Stajnbaher, D., y Schenck, F. J. 2003a. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *J AOAC International* 86(2): 412-431.
- Anastassiades, M., Maštovská, K., Lehotay, S. J. 2003b. Evaluation of analyte protectants to improve gas chromatographic analysis of pesticides. *Journal of Chromatography A*, 1015:163–184.
- Ascensión-Ramos, M., Hernández-Borges, J., Ravelo-Pérez, L. M. y Rodríguez-Delgado, M. A. 2009. Evaluation of a modified QuEChERS method for the extraction of pesticides from agricultural, ornamental and forestal soils. *Anal Bioanal Chem* 396:2307–2319.
- Bellah, O., Lesego, C. M. y Nelson, T. 2010. Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soil with Agilent SampliQ QuEChERS AOAC Kit and HPLC-FLD. Agilent Technologies, Inc. Grahamstown, South Africa. 8 pp.
- Bruce, E. R. 2000. Extraction of hydrocarbon contamination from soils using accelerated solvent extraction. *Journal of Chromatography A* 874(2):217–224.

- Cunha, S. C., Lehotay, S. J., Mastovska, K., Fernandes, J. O., Oliveira, M. B. P. P. 2007. Evaluation of the QuEChERS sample preparation approach for the analysis of pesticide residues in olives. *J. Sep. Sci.* 30: 620 – 632.
- DANE. 2006. Metodología Diseño Maestral. Ruta DIRPEN\Encuesta de Desempeño Institucional\documentación básica\metodologías\diseño muestral\dm-edi-dim-01.doc.
- DOF. 2005. Diario Oficial de la Federación. 2005. NOM-138-SEMARNAT/SS-2003. Límites Máximos Permisibles de Hidrocarburos en Suelos y las Especificaciones para su Caracterización y Remediación. 29 de marzo de 2005. 21 p.
- Fernández, L. 2006. Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados. Ed. SEMARNAT. México. 180 pp.
- Guerrero-Peña, A. 2012. Programa de Calidad e Intercomparación de Análisis de Suelo-Planta., Ejercicio 2012. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo-Colegio de Postgraduados. Cárdenas Tabasco.
- Gutiérrez, C. M. C. y Zavala, C. J. 2001. Rasgos hidromórficos de suelos tropicales contaminados con hidrocarburos. *Terra Latinoamericana* 20: 101-111.
- Gupta, G. y Li, Y. 1993. Toxicity of gasoline aqueous-leachate through sand-clay columns. *J. Environ. Sci. health A* 28(4)933-940.
- Lehotay, S. J., Mastovska, K. y Yun, S. J. 2005. Evaluation of Two Fast and Easy Methods for Pesticide Residue Analysis in Fatty Food Matrixes. *Journal of AOAC International* 88(2):630–638.
- Litter, M. I., Armienta, M. A., Farías, S. S. (editores). 2009. Capítulo 3. Métodos espectrofotométricos UV-Vis. En: IBEROARSEN (ed) Metodologías analíticas para la determinación y especiación de arsénico en aguas y suelos. Buenos Aires, Argentina. 240 pp.

- Oken, B. M. y Traina, S. J. 1997. The sorption of pyrene and anthracene to humic acid-mineral complexes: effect of fractional organic carbon content. *J Environ Qual* 26:126-132.
- Owen, T. 2000. Fundamentos de la espectroscopía UV-visible moderna. *Conceptos básicos*. Agilent Technologies. Alemania. 138 pp.
- Pardo, C. J. L., Perdorno, R. M. C. y Benavides, L. M. J. L. 2004. Efecto de la adición de fertilizantes inorgánicos compuestos en la degradación de hidrocarburos en suelo contaminados con petróleo. *Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca* 2(2):40-49.
- Payá, P., Anastassiades, M., Mack, D., Sigalova, I., Tasdelen, B., Oliva, J. y Barba, A. 2007. Analysis of pesticide residues using the Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS) pesticide multiresidue method in combination with gas and liquid chromatography and tandem mass spectrometric detection. *Anal Bioanal Chem* 389:1697–1714.
- PEMEX. 2006. Informe Desarrollo Sustentable 2006. Desempeño Ambiental: Derrames y Fugas. México.
- Pons-Jiménez, M., Guerrero-Peña, A., Zavala-Cruz, J. y Alarcón, A. 2011. Extracción de hidrocarburos y compuestos derivados del petróleo en suelos con características físicas y químicas diferentes. *Universidad y Ciencia* 27(1):1-15.
- SEMARNAT. 2009. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Informe de la Situación del Medio Ambiente en México. Compendio de Estadísticas Ambientales. Edición 2008. Tlalpan, México D. F. Pp 358.
- Serra, M. L. y Aranceta, B. J. 2006. Nutrición y salud pública. Métodos, bases científicas y aplicaciones. 2a. ed. Masson. España. 826 pp.



- Skoog, D. A., Holler. J. F. y Nieman. A. T. 2001. Principios de Análisis instrumental. Quinta edición. Ed. McGraw Hill/Interamericana. Traducción al español por Ma. del Carmen Martín Gómez, Beatriz López Ruiz, Ma. Antonia Martín Carmona, Gregorio Garcedo Güemez, Ana Isabel Olives Barba. Madrid, España. 1028 pp.
- Totshe, K. U. J. Danzer y I. Knabner. 1997. Dissolved organic matter-enhanced retención of polycyclic aromatic hidrocarbons soil miscible displacement experiment. S.J. Environ. Qual. 26:1090.110.
- Weisman, W. 1998. Analysis of Petroleum Hydrocarbons in Environmental Media (vol.1). Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group Series. Association for Environmental Health and Sciences (AEHS) (comp.). Amherst Scientific (Ed.), Amherst, Massachusetts United States. 98 pp.
- Wilkowska, A., y Biziuk, M. 2011. Determination of pesticide residues in food matrices using the QuEChERS methodology. FoodChemistry 125:803–812.
- Zavala, C. J., Gavi, R. F., Adams, S.R.H., Ferrera, C. R., Palma, L. D. J., Vaquera, H. H. y Domínguez, E. J. M. 2005. Derrames de petróleo en suelos y adaptación de pastos tropicales en el activo cinco presidentes, Tabasco, México. *TERRA Latinoamericana* 23:3. Pp 293-302.

## CONCLUSIÓN GENERAL

El presente trabajo tuvo como objetivo general la adaptación del método QuEChERS para la extracción y evaluación cuantitativa de los componentes globales de hidrocarburos en tres suelos con características físicas y químicas diferentes.

La aplicación de esta metodología para la extracción de componentes globales de hidrocarburos y la optimización de los tiempos de extracción según cada suelo tipo de suelo y solvente usado, es de utilidad ya que facilitan el trabajo en el laboratorio, obteniendo resultados precisos. Así para obtener las mayores concentraciones según cada suelo en estudio, con este trabajo se concluye:

- Para la extracción con QuEChERS en suelo Arenosol con solvente de extracción diclorometano en tiempos de 5 y 15 minutos, son necesarios para obtener las mayores concentraciones.
- Cuando se trabaje con el suelo Gleysol, con solvente de extracción diclorometano, usando cualquiera de los tiempos de 5 a 20 minutos, bastan para obtener alta concentraciones componentes presentes en la muestra.
- Para la extracción en suelo de tipo Histosol, con solvente de extracción acetonitrilo, usando los tiempos propuestos de 5 a 20 minutos, podemos obtener altas concentraciones.

Durante la evaluación cualitativa de los componentes globales de hidrocarburos se encontraron la mayor concentración compuestos derivados de hidrocarburos en longitudes de ondas de 200-600 nm ya en estas regiones se absorben compuestos insaturados y compuestos aromáticos de origen orgánicos.

Por lo anterior se concluye que es posible la evaluación de hidrocarburos derivados del petróleo crudo en muestras de suelo mediante el método de QuEChERS y solo debe considerarse el tipo de suelo y el solvente para definir el tiempo de extracción.