



**COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

---

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**CAMPUS TABASCO**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA  
EN EL TRÓPICO**

**EXTRACCIÓN DE HIDROCARBUROS Y COMPUESTOS  
DERIVADOS DEL PETRÓLEO EN SUELOS AGRÍCOLAS DE  
LA CUENCA BAJA DEL RÍO TONALÁ**

**MIRNA PONS JIMÉNEZ**

**T E S I S  
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE**

**MAESTRA EN CIENCIAS**

**H. CÁRDENAS, TABASCO, MÉXICO**

2010


---

La presente tesis, titulada: **Extracción de hidrocarburos y compuestos derivados del petróleo en suelos agrícolas de la cuenca baja del río Tonalá**, realizada por la alumna **Mirna Pons Jiménez**, 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  
PRODUCCION AGROALIMENTARIA EN EL TROPICO

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:




DR. ARMANDO GUERRERO PEÑA

ASESOR:



DR. JOEL ZAVALA CRUZ

ASESOR:



DR. ALEJANDRO ALARCON

H. Cárdenas, Tabasco, México, 23 de abril de 2010

# CONTENIDO

	Pág.
<u>PORTADA</u> .....	i
<u>CONTENIDO DE CUADROS</u> .....	v
<u>CONTENIDO DE FIGURAS</u> .....	vii
<u>RESUMEN</u> .....	ix
<u>SUMMARY</u> .....	x
<u>AGRADECIMIENTOS</u> .....	xi
<b><u>1. INTRODUCCIÓN</u></b> .....	1
1.1. Objetivos.....	3
1.2. Hipótesis.....	3
<b><u>2. REVISIÓN DE LITERATURA</u></b> .....	4
2.1. Introducción, estadísticas de producción y derrames.....	4
2.2. Composición del petróleo crudo.....	8
2.3. Hidrocarburos del petróleo. Características e interés medioambiental.....	12
2.4. Efectos de hidrocarburos en suelos.....	15
2.5. Métodos analíticos para la determinación de hidrocarburos en suelos.....	19
2.6. Disolventes orgánicos utilizados para la extracción de hidrocarburos.....	24
<b><u>3. MATERIALES Y MÉTODOS</u></b> .....	26
3.1. Trabajo de campo.....	26
3.1.1 Localización del área de muestreo.....	26
3.1.2 Herramientas de muestreo .....	26
3.1.3 Muestreo de suelos en la cuenca baja del río Tonalá .....	27
3.2. Cuantificación de HTP y compuestos derivados del petróleo en cada uno de los suelos.....	30
3.2.1 Preparación de las muestras.....	30
3.2.2 Análisis Soxhlet.....	30
3.2.3 Reactivos.....	31

3.2.4	Matrices de suelo.....	31
3.2.5	Diseño experimental.....	33
3.2.6	Análisis estadístico.....	35
	<b><u>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u></b> .....	37
4.1.	Prueba de homogeneidad en las muestras de suelo.....	38
4.2.	Relación entre las propiedades del suelo con los contenidos de HTP y CDP.....	45
4.3.	Resultados del diseño experimental.....	48
4.4.	Optimización de la etapa de extracción de HTP y CDP en función de las propiedades físicas y químicas de cada suelo.....	55
	<b><u>5. CONCLUSIONES</u></b> .....	65
	<b><u>6. LITERATURA CITADA</u></b> .....	66

## CONTENIDO DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Hidrocarburos totales en suelos con derrames de petróleo en el activo Cinco Presidentes, Tabasco (Zavala <i>et al.</i> , 2000).....	7
Cuadro 2. Características de las fracciones 250 °C para distintos crudos (Wauquier, 2004 y Centeno <i>et al.</i> , 2004).....	10
Cuadro 3. Composición de los crudos (Puig y Corominas 1990; Lluch, 2008).....	11
Cuadro 4. Principales hidrocarburos agrupados de acuerdo con la serie (Botello, 2005; Gooding, 2009).....	13
Cuadro 5. Límites máximos permisibles para fracciones de hidrocarburos en suelos (NOM-138-SEMARNAT/SS-2003).....	14
Cuadro 6. Composición de la materia orgánica del suelo (Dragun, 1998; Manahan, 2007).....	18
Cuadro 7. Métodos para el análisis de componentes no-volátiles o semi-volátiles en suelos.....	20
Cuadro 8. Extracción de hidrocarburos totales del petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo en diversos estudios de suelos.....	23
Cuadro 9. Propiedades de los disolventes más comunes (Wade, 1993; Lide, 1999; Dupont y Gokel, 2007).....	25
Cuadro 10. Características de los sitios seleccionados.....	27
Cuadro 11. Constantes físicas de los disolventes utilizados (Wade, 1993; Lide, 1999; Dupont y Gokel, 2007).....	31
Cuadro 12. Factores y niveles de estudio.....	34
Cuadro 13. Diseño experimental.....	34
Cuadro 14. Características físicas y químicas de las muestras de suelo.....	37
Cuadro 15. Precisión en las determinaciones de hidrocarburos totales del petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP) en el suelo Antrosol.....	39
Cuadro 16. Precisión en las determinaciones de hidrocarburos totales del petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP) en el suelo Gleysol.....	40

	Pág.
Cuadro 17. Precisión en las determinaciones de hidrocarburos totales del petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP) en el suelo Histosol.....	41
Cuadro 18. Precisión en las determinaciones de humedad para las unidades de suelo Antrosol, Gleysol e Histosol .....	42
Cuadro 19. Prueba de Mauchly al evaluar la esfericidad en hidrocarburos totales del petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP) (mg kg <sup>-1</sup> ) así como humedad (%) con los estimadores Greenhouse-Geisser y Huynh-Feldt.....	43
Cuadro 20. Análisis de varianza de las medidas repetidas. Coeficientes de correlación parcial de las concentraciones de medidas repetidas.....	44
Cuadro 21. Análisis de varianza de las medidas repetidas. Coeficientes de correlación parcial de humedad en medidas repetidas.....	44
Cuadro 22. Criterio estadístico para la hipótesis de efecto en las repeticiones.....	45
Cuadro 23. Matriz de correlación de propiedades del suelo (Antrosol, Gleysol e Histosol) con el contenido de hidrocarburos totales del petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP) en metanol para el horizonte superficial.....	46
Cuadro 24. Matriz de correlación de propiedades del suelo (Antrosol, Gleysol e Histosol) con el contenido de hidrocarburos totales del petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP) en hexano para el horizonte superficial.....	46
Cuadro 25. Matriz de correlación de propiedades del suelo (Antrosol, Gleysol e Histosol) con el contenido de hidrocarburos totales del petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP) en diclorometano para el horizonte superficial.....	46
Cuadro 26. Concentraciones de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP) en cada suelo.....	49
Cuadro 27. Análisis de varianza (ANOVA) para el diseño factorial.....	52

## CONTENIDO DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1.	Volumen de la producción anual de petróleo crudo y gas natural por los principales municipios 2005 (PEMEX, 2005).....	4
Figura 2.	Composición de las reservas totales por Activo, al primero de enero del 2007 (millones de barriles) (PEMEX, 2007).....	6
Figura 3.	Componentes del petróleo crudo (Wade, 1993; Botello, 2005; Melo y Cuamatzi, 2007).....	8
Figura 4.	Componentes polares del petróleo crudo (Botello, 2005).....	9
Figura 5.	Polarización en los clorometanos (Dupont y Gokel, 2007).....	25
Figura 6.	Ubicación geográfica del Antrosol Dístico Hórtico (1), Gleysol Hístico (Dístico Húmico) (2), Histosol Rehico Sáprico (Eutrico Tóxico Sódico) (3).....	28
Figura 7.	Aspecto del derrame de petróleo crudo en el ejido José Narciso Rovirosa, ubicado 2 km al sur de la petroquímica La Venta (sitio 2).....	29
Figura 8.	Figura 8. Perfil de suelo contaminado con petróleo crudo, en la profundidad de 0-30 cm, de un suelo Gleysol en el ejido José Narciso Rovirosa) (sitio 2).....	29
Figura 9.	Sistema Soxhlet.....	30
Figura 10.	Aspecto de la extracción Soxhlet de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP) después de 6 horas con metanol (a y e), hexano (b y d) y diclorometano (c) en el suelo Antrosol.....	53
Figura 11.	Aspecto de la extracción de hidrocarburos totales del petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP) con los disolventes, hexano (a), diclorometano (b) y metanol (c) en un suelo Gleysol.....	53
Figura 12.	Aspecto de la capacidad extractora de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP) por efecto de los disolventes diclorometano (a), metanol (b) y hexano (c), en el suelo Histosol.....	54

	Pág.
Figura 13. Cuantificación de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP), en un suelo Antrosol Distrito Hórtico. Letras distintas en cada curva son estadísticamente diferentes (Tukey, $p=0.05$ ).....	55
Figura 14. Cuantificación de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP), en un suelo Histosol Rehico Sáprico (Eutrico Tóxico Sódico). Letras distintas en cada curva son estadísticamente diferentes (Tukey, $p=0.05$ ).....	60
Figura 15. Cuantificación de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP), en un suelo Gleysol Hístico (Dístrico, Húmico). Letras distintas en cada curva son estadísticamente diferentes (Tukey, $p=0.05$ ).....	63



# EXTRACCIÓN DE HIDROCARBUROS Y COMPUESTOS DERIVADOS DEL PETRÓLEO EN SUELOS AGRÍCOLAS DE LA CUENCA BAJA DEL RÍO TONALÁ

Mirna Pons Jiménez, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2010

El análisis de hidrocarburos en muestras de suelos, es una de las determinaciones más frecuentes en los estudios ambientales, de las zonas productoras de petróleo crudo. Una de las técnicas más utilizadas en el análisis de hidrocarburos de la fracción pesada del petróleo en suelos, es el método establecido en la Norma Oficial Mexicana NMX-AA-134-scfi-2006. Sin embargo, en el método se indica un mismo tiempo de extracción sin considerar las diferencias en las propiedades físicas y químicas del suelo. Por lo anterior, en este trabajo, se planteó optimizar el tiempo de extracción de compuestos derivados del petróleo mediante un sistema Soxhlet, en tres suelos con diferentes características físicas y químicas, empleando tres disolventes de polaridad diferente. Para efecto de las extracciones se establecieron cuatro tiempos, y se utilizó un diseño factorial 3x4x3. Se identificó el efecto de los disolventes, así como de los niveles de tiempo propuestos, en cada uno de los suelos. Se concluye que el tiempo de extracción de hidrocarburos y compuestos que derivan del petróleo en un sistema Soxhlet es función directa del tipo de suelo y del disolvente. En virtud de que no se cuenta con una muestra de referencia certificada, se procedió a evaluar la calidad de los resultados mediante la cuantificación de la reproducibilidad de los datos obtenidos y una prueba de homogeneidad de los suelos utilizados en la experimentación. La estrategia es aplicable en las investigaciones que tienen por objetivo establecer nuevas metodologías analíticas para cuantificar fracciones o contenidos totales de un analito determinado.

Palabras clave: análisis químico, suelo, contaminación, petróleo crudo.

# EXTRACTION OF HYDROCARBONS AND PETROLEUM COMPOUNDS IN AGRICULTURAL SOILS OF LOW RIVER BASIN TONALA

Mirna Pons Jiménez, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2010

The analysis of hydrocarbons in samples of soils, it is one of the most frequent determinations in the environmental studies, of the producing zones of crude oil. One of the techniques more used in the analysis of hydrocarbons of the heavy fraction of the petroleum in soils, is the method established in the Official Mexican Norm NMX-AA-134-scfi-2006. However, in the method it is indicated oneself time of extraction without considering the differences in the physical and chemical properties of the soil. For the previous thing, in this work, it considered to optimize the time of extraction of compounds derived from the oil by means of a system Soxhlet, in three soils with different physical and chemical characteristics, using three solvents of different polarity. For effect of the extractions they were established four times, and a design was in use factorial 3x4x3. Identified the effect of the solvents, as well as of the levels of time proposed, in each of the soils. One concludes that the time of extraction of hydrocarbons and compounds that derive from the oil in a system Soxhlet is a direct function of the type of soil and of the solvent. By virtue of that is not counted with a sample of certified reference, you proceeded to evaluate the quality of the results by means of the quantification of the reproducibilidad of the obtained information and a test of homogeneity of the soils used in the experimentation. The strategy is applicable in the investigations that have for objective to establish new analytical methodologies to quantify fractions or total contents of a certain analito.

Key words: chemical analysis, soil, contamination, crude oil.

## **AGRADECIMIENTOS**

A las distinguidas personas del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento económico otorgado al iniciar y culminar los estudios de la maestría en producción agroalimentaria en el trópico.

Al Colegio de Postgraduados, a los docentes que impartieron conocimientos y personal administrativo, en especial al comité del Campus Tabasco por aceptarme como un estudiante más en el postgrado de maestría.

A las personas encargadas del proyecto “Estudio Integral de la Cuenca Hidrológica del Río Tonalá y Lagunas del Carmen y Machona”, registrado en la Línea 1 Manejo Sustentable de los Recursos Naturales y dentro del cual formó parte este proyecto de tesis.

Al consejo particular, por su gran labor otorgada en la dirección y secuencia de mejoras en el trabajo de investigación.

Al Dr. Armando Guerrero Peña por invitarme a participar en un tema de investigación relacionado con mi formación profesional, así como por sus consejos en el seguimiento de la tesis de investigación.

Al Dr. Joel Zavala Cruz por el apoyo brindado en la etapa de campo de esta investigación, así como a sus valiosas aportaciones en la escritura de la tesis.

Al Dr. Alejandro Alarcón por la puntual asesoría y revisión de los avances en la investigación.

Al personal del Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas y Aguas (LASPA) por el apoyo para la realización oportuna de la etapa de laboratorio en esta investigación.

Al Sr. Pascual Corzo Cruz del ejido José Narciso Roviroso, La Venta y la Sra. Rosario García Suárez del ejido La Ceiba, Huimanguillo, Tabasco, por su apoyo en la fase de campo de esta investigación.

A todos los integrantes de mi familia por su apoyo a lo largo de mi vida.

Dedicado

A mis hijos.

Raymundo José  
Muñoz Pons

Francisco Javier  
Montejo Pons

A mi esposo.

Gustavo Mario  
Montejo García

A mis padres.

Francisco  
Pons Yáñez

Leoni  
Jiménez Ramos

# 1. INTRODUCCIÓN

La producción anual de petróleo en el mundo, asciende a más de dos mil millones de toneladas métricas; un 10 % de los productos finales, derivados del petróleo, contaminan ambientes marinos y terrestres (Fernández *et al.*, 2006b). Los suelos contaminados por derrames de petróleo crudo, son uno de los problemas ambientales de mayor preocupación en el mundo, debido a que los suelos agrícolas presenta alteraciones en sus propiedades físicas y químicas, causadas por este tipo de contaminación (Martínez y López, 2001; Corona e Iturbe, 2005; Zavala-Cruz *et al.*, 2005).

Para los propósitos de diagnósticos medioambientales, la determinación de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) en suelos, resulta ser uno de los indicadores de mayor riesgo (Villalobos *et al.*, 2008). Al respecto, Weisman (1998), Donna *et al.* (1999), Lynn *et al.* (2002) y Sadler y Connell (2003) mencionaron que la definición de hidrocarburos totales del petróleo (HTP), depende del método analítico usado para su determinación, ya que la medida de HTP, es la concentración total de los hidrocarburos extraídos y medidos por un método específico, mismos que pueden corresponder a las fracciones del petróleo: ligera, media y pesada. Para el análisis de componentes no volátiles o semi-volátiles, es necesario que los hidrocarburos se encuentren en disolución, y muchos procedimientos EPA, se refieren a este efecto de disolución; estos incluyen la extracción Soxhlet en el método EPA 3540C (1996a), la extracción por ultrasonido en el método EPA 3550C (2007) y la extracción térmica con el método EPA 8275A (1996b). Aplicado al análisis de HAP (hidrocarburos aromáticos policíclicos), es la extracción con fluidos supercríticos en el método 3560; para la recuperación de hidrocarburos totales (EPA, 1996c), el método 3561; para la recuperación de hidrocarburos aromáticos polinucleares (EPA, 1996d), el método modificado de extracción por agitación mecánica y determinación gravimétrica (EPA, 1994) y, el método estándar para la determinación de combustibles en suelos D-5831 (ASTM, 1995). Estos métodos constan habitualmente de cuatro etapas:

pretratamiento, extracción, preconcentración y medida (EPA 1996e y NEPC, 1999). Los extractantes más usados para la separación de los hidrocarburos son: hexano, metanol, éter etílico, diclorometano, butanol, acetato de etilo, acetona, ciclohexano, o la combinación entre ellos (USEPA, 1996 y Szolar *et al.*, 2002), sin embargo, estos métodos, hacen referencia a un suelo en general, y no consideran las características físicas y químicas de los suelos de las regiones productoras de petróleo en el mundo sugiriendo tiempos y solventes de extracción de HTP, que en algunos casos, no resultan ser suficientes para la extracción de este analito de los suelos en las regiones tropicales. Por esta razón, los tiempos empleados por las técnicas de extracción (propuestos en estas metodologías EPA), deberían ser optimizados en función de las características físicas y químicas del suelo que se estudie.

Considerando los aspectos señalados anteriormente, en la presente investigación se plantearon los siguientes objetivos e hipótesis:

## **1.1. Objetivos**

- Optimizar un método para la extracción de hidrocarburos y compuestos derivados del petróleo, en suelos con diferentes características físicas y químicas, utilizando como disolventes de extracción: hexano, metanol y diclorometano.
- Evaluar la homogeneidad en cada uno de los suelos y analito de interés.

## **1.2. Hipótesis**

- El tiempo de extracción de hidrocarburos y compuestos derivados del petróleo, depende de las características físicas y químicas del suelo.
- La homogeneidad en un suelo, es definida mediante la precisión alcanzada en los diferentes análisis efectuados.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Introducción, estadísticas de producción y derrames

El estado de Tabasco aporta diariamente el 16 % del petróleo crudo extraído a nivel nacional, con 539 100 barriles diarios (INEGI, 2004). Debido a los derrames ocurridos durante la producción de hidrocarburos, los estados de Veracruz, Tabasco, Campeche, sur de Tamaulipas y norte de Chiapas, son susceptibles al deterioro ambiental. En México, el alto consumo de petróleo hace que, paralelamente a la creación de centros de explotación o de refinerías, se generen asentamientos humanos con su correspondiente demanda de servicios, generación de aguas residuales y basura (Jiménez, 2002). La producción por municipio en el estado de Tabasco se puede observar en la Figura 1.

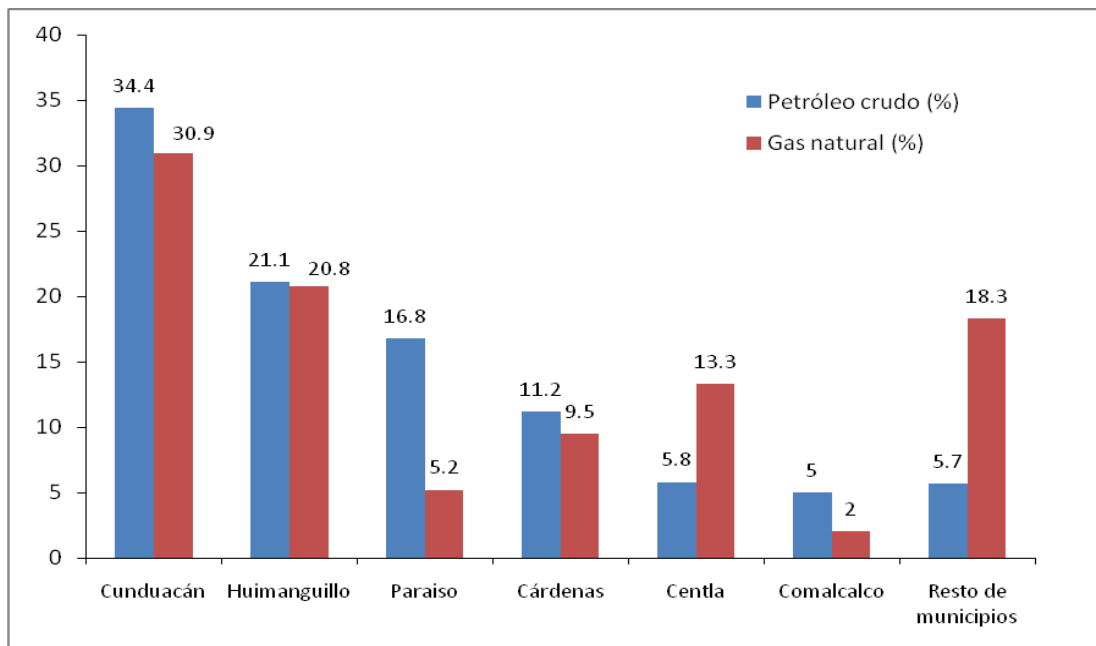


Figura 1. Volumen de la producción anual de petróleo crudo y gas natural por los principales municipios en 2005 (PEMEX, 2005).

Gran cantidad de productos del petróleo, contaminan ambientes marinos y terrestres. Los grandes accidentes que se presentan en la industria del petróleo,



como derrame de tanques, rupturas de tuberías y extracción de pozos, representan 10 % de estas descargas, las cuales son más evidentes por la gran cantidad de hidrocarburos liberados en un sitio y tiempo determinado. Sin embargo, el restante 90 % es debido a descargas menores de las actividades industriales, que contaminan el suelo y son arrastradas por las aguas continentales (Fernández *et al.*, 2006b).

Las estadísticas mundiales durante el período 1978-1997, indican que suceden 289 derrames por año (Guerrero, 2006). Tan sólo en el estado de Tabasco, durante el año 2005 (PROFEPA, 2009) se reportaron 27 emergencias ambientales asociadas a fugas, derrames y explosiones.

En el municipio de Cárdenas se localiza el activo Cinco Presidentes, el cual presenta una producción diaria de 3290 barriles (PEMEX, 2005). La Cuenca Baja del Río Tonalá (la cual coincide con la zona de producción de hidrocarburos Activo Cinco Presidentes) presenta un desarrollo agropecuario marginal y es la segunda por la extensión de sus humedales (Zavala *et al.*, 1997, Zavala *et al.*, 1998; Palma-López *et al.*, 1999; Palma-López y Cisneros, 2000; García-López *et al.*, 2006; Marín, 2006).

El activo Cinco Presidentes consta de 10 campos petroleros, una unidad petroquímica (La Venta), 28 instalaciones de almacenamiento y bombeo, y más de mil pozos petroleros (Zavala *et al.*, 1996), los suelos son inundables y han estado sujetos a derrames frecuentes de petróleo (Palma-López *et al.*, 1999).

En la Figura 2 se presenta información sobre las reservas totales de petróleo por activo, y se observa, que el activo Cinco Presidentes cuenta con una reserva aproximadamente 330 millones de barriles de petróleo.

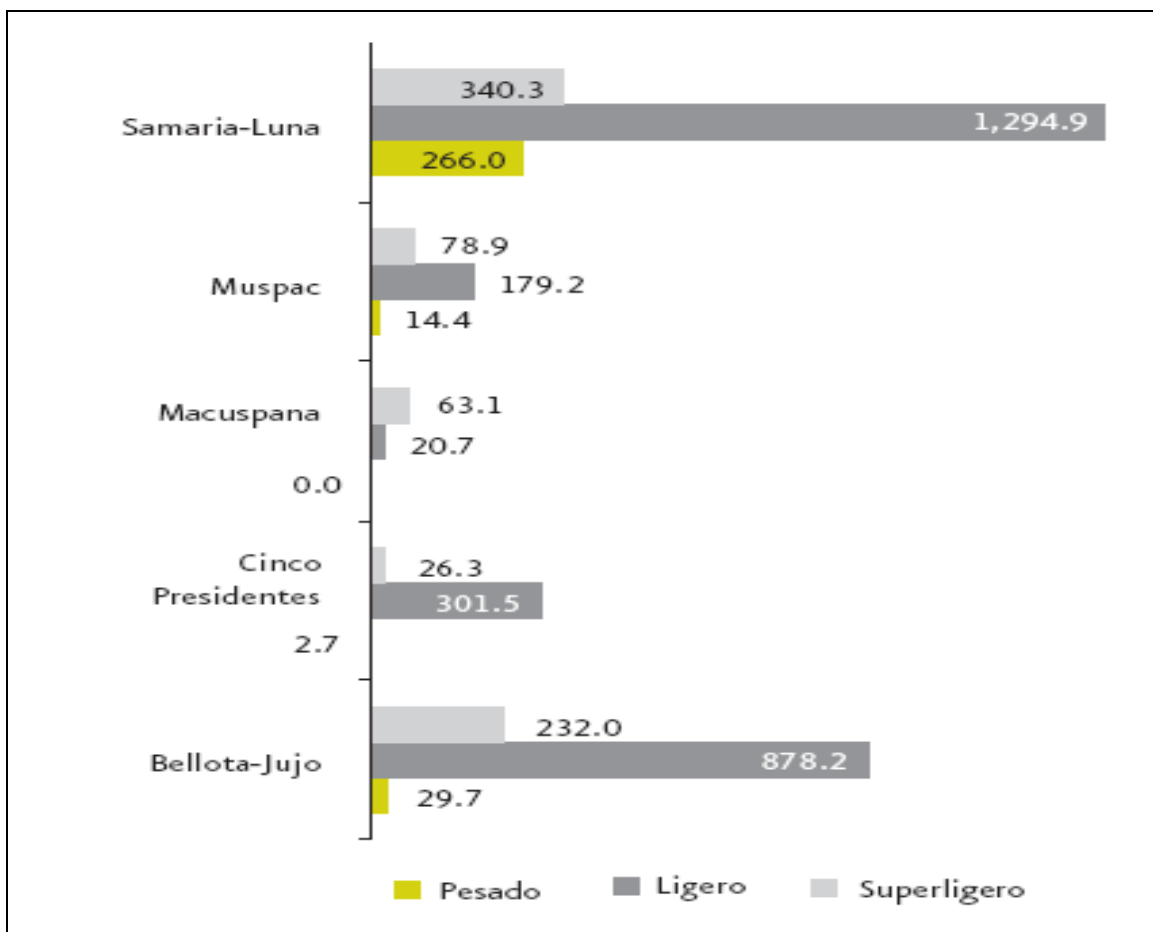


Figura 2. Composición de las reservas totales por activo al primero de enero de 2007 (millones de barriles) (PEMEX, 2007).

Al coincidir la cuenca baja del Río Tonalá, con la zona de producción de hidrocarburos “Activo Cinco Presidentes”, se originan frecuentes derrames de petróleo debido a la rotura de oleoductos, afectando el suelo, agua y vegetación. Al respecto, Ponce-Vélez y Botello (2005), mencionan que en los márgenes de las petroquímicas “La Venta” y “Cinco Presidentes” se reportan concentraciones altas de hidrocarburos, llegando hasta más de  $1800 \text{ mg kg}^{-1}$ , lo cual es una consecuencia directa de las actividades petroleras que se realizan en la zona desde hace varias décadas.

En el Cuadro 1 se muestran estudios de contaminación realizados en sitios del Activo Cinco Presidentes. La concentración de hidrocarburos totales varió entre 571 y  $19,953 \text{ mg kg}^{-1}$ ; en los sitios con derrames los cultivos habían desaparecido. En los

suelos Vertisol, Gleysol e Histosol, los contenidos de hidrocarburos totales fueron elevados debido a la dispersión a través de las corrientes de agua en épocas de lluvias, y a la adsorción del contaminante en los materiales arcillosos y orgánicos (Zavala *et al.*, 2000).

Cuadro 1. Hidrocarburos totales en suelos con derrames de petróleo en el activo Cinco Presidentes, Tabasco (Zavala *et al.*, 2000).

Unidad de suelo	Localización	Hidrocarburos totales (mg kg <sup>-1</sup> )			
		NDP	ODP	SMP	T
Arenosol	150 m al sur de Batería 5, campo Sánchez Magallanes	8,570	11,338	0.0	0.0
Luvisol	Pozo Magallanes 615	19,953	11,686	0.0	0.0
Vertisol	Noroeste de Batería 7, campo Tucán	14,151	9,009	7,997	7,956
Gleysol	Este de Batería, la Venta Norte	4,777	571	0.0	3,390
Histosol	100 metros al Este del pozo Blasillo 89	7,782	8,679	11,376	8,515

NDP=Núcleo del derrame de petróleo; ODP=Orilla del derrame de petróleo; SMP= suelo con manchas aisladas de petróleo, T=Testigo.

Los niveles de contaminación, presentados en el Cuadro 1 varían en función del tipo suelo y el tiempo de exposición en el ambiente. Se observa, que las mayores concentraciones de hidrocarburos totales fueron encontradas en el núcleo del derrame para los suelos Luvisol, Vertisol y Gleysol, mientras que para el suelo Arenosol e Histosol, las mayores concentraciones se encontraron en puntos distintos al núcleo del derrame. El Cuadro 1 indica, que la dispersión de los hidrocarburos en las unidades de suelo, depende de las propiedades físicas y químicas del suelo, y del posible efecto de las corrientes de agua.

## 2.2. Composición del petróleo crudo

Los hidrocarburos son los constituyentes más importantes del petróleo y están formados principalmente por carbono e hidrógeno; se dividen en varias familias químicas según su estructura (Wauquier, 2004) (Figura 3). Los hidrocarburos alifáticos son compuestos de cadenas abiertas. Son saturados si la molécula posee un enlace (alcanos) entre los átomos de carbono, e insaturados si tiene cuando menos un doble (alquenos) o triple (alquinos) enlace. Los hidrocarburos alifáticos saturados son químicamente más estables que los insaturados (Freedman, 1989 y Chang, 1999). En los hidrocarburos alicíclicos, algunos o todos sus átomos de carbono están arreglados en una estructura de anillos, y pueden ser saturados e insaturados (Freedman, 1989 y Botello, 2005).

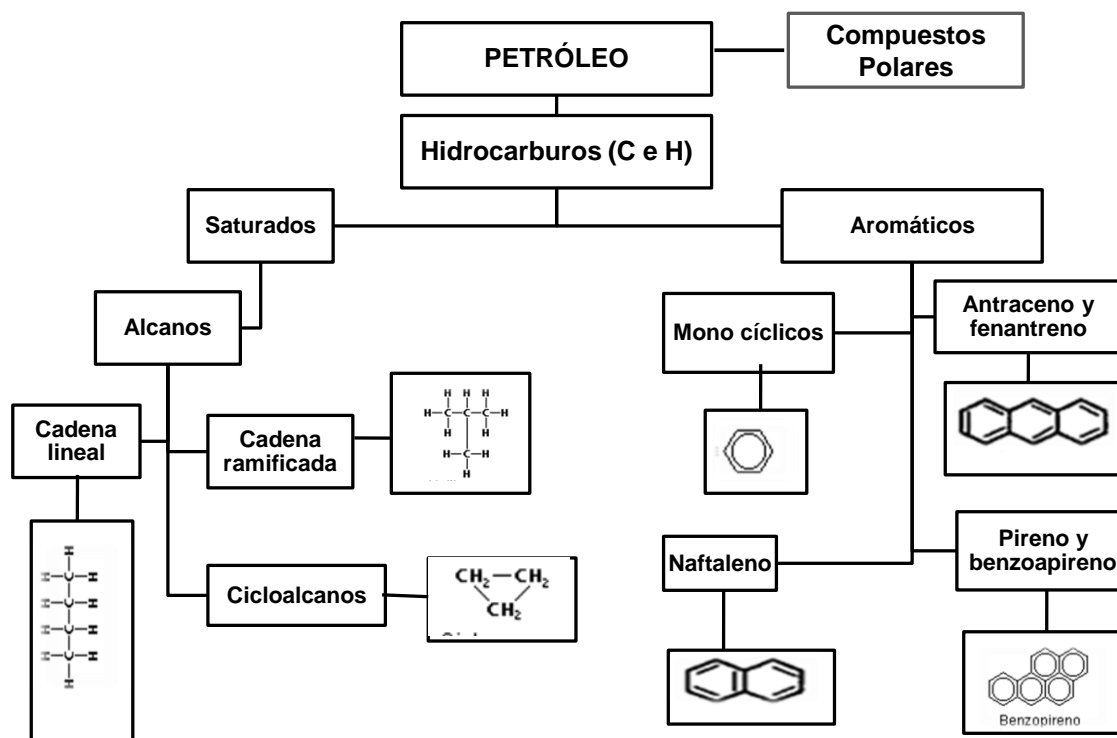


Figura 3. Componentes del petróleo crudo (Wade, 1993; Botello, 2005; Melo y Cuamatzi, 2007).

Los hidrocarburos aromáticos están presentes en una gran proporción en los crudos de petróleo y su base elemental es el anillo bencénico (Wauquier, 2004). Villalobos *et al.* (2008), consideró a los hidrocarburos como compuestos no polares ó medianamente polares del petróleo crudo.

Además de los hidrocarburos, en el petróleo existen moléculas que contienen átomos diferentes al carbono y al hidrógeno. Entre ellas, se distinguen los compuestos orgánicos con hetero-átomos y los órgano-metálicos (Wade, 1993; Botello, 2005; Melo y Cuamatzi, 2007). Los átomos de oxígeno, nitrógeno, azufre y metales como (vanadio y níquel) hacen que estas moléculas sean consideradas los constituyentes polares del petróleo (Figura 4).

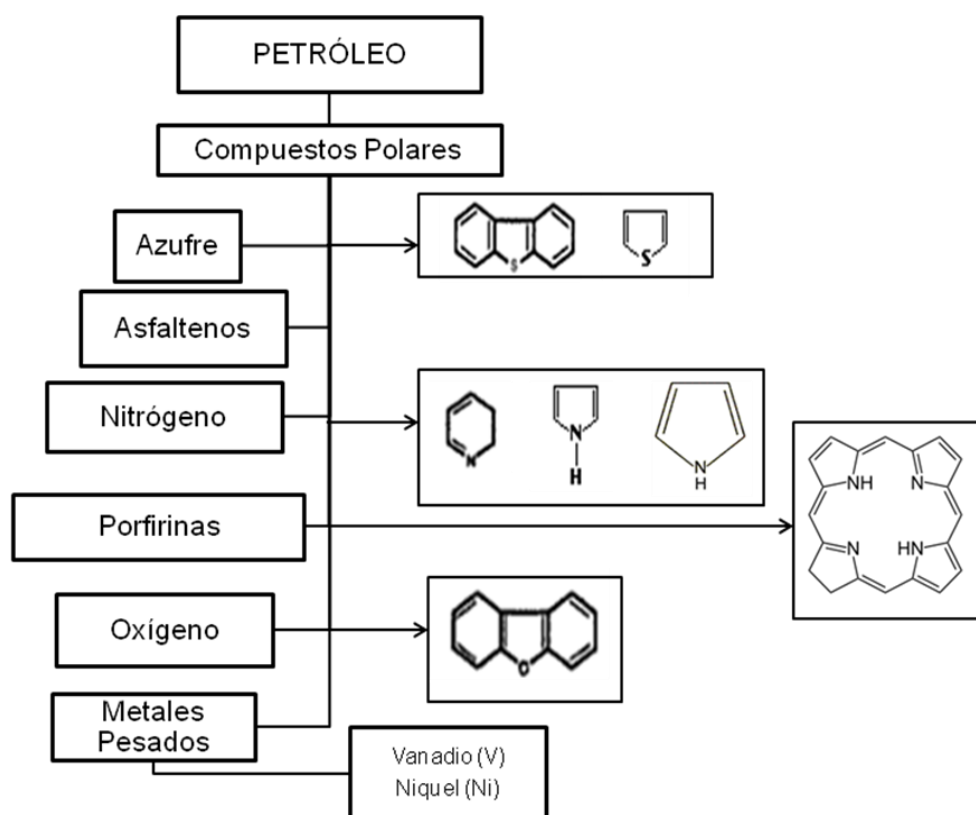


Figura 4. Componentes polares del petróleo crudo (Botello, 2005).

El azufre es el heteroátomo más abundante en los petróleos crudos, con una concentración, que varía desde 0.1 a más de 8 % en peso (Cuadro 2); este contenido está relacionado con la densidad del crudo, y por lo tanto con su calidad (ligero o pesado) (Wauquier, 2004).

Cuadro 2. Características de las fracciones 250 °C para distintos crudos (Wauquier, 2004 y Centeno *et al.*, 2004).

Crudo	Origen	Viscosidad (mm <sup>2</sup> /s)	Asfáltenos (% p)	O ( <sup>†</sup> %p)	N ( <sup>†</sup> %p)	S ( <sup>†</sup> %p)	Ni ( <sup>††</sup> ppm)	V ( <sup>††</sup> ppm)
Batiraman	Turquía	1.180	22.1	0.53	0.49	7.04	99	153
Boscan	Venezuela	595	14.1	0.79	0.74	5.46	125	1.2
Lacq superior	Francia	81.1	13.2	0.57	0.42	4.94	19	29
Chauvin Source	Canadá	28	6.0	0.48	0.66	2.80	35	67
Bellshill Lake	Canadá	7.9	2.2	0.34	<0.3	1.97	11	18
Esmeralda	Congo	113	1.7	1.10	0.65	0.57	64	9
Anguila	Gabón	14.1	1.2	0.92	0.26	0.82	115	14
Duri	Sumatra	51	0.7	0.65	0.47	<0.1	39	1.5
Permatang	Sumatra	10.2	0.1	0.51	0.26	<0.1	15	0.6
Edjeleh	Argelia	5.3	0.1	0.73	0.34	<0.1	1.5	2.3
Hassi Messaoud	Argelia	2.32	0.1	1.93	0.38	<0.1	<0.2	<0.2
Maya	México	ns	11	0.34	0.36	3.51	53	252

<sup>†</sup>%p= por ciento en peso <sup>††</sup>ppm= partes por millón ns= no se menciona en la referencia.

Botello (2005) mencionó que el petróleo contiene también una fracción significativa (0-20 %) de materiales de alto peso molecular (1000 a 10000 g/mol) (Cuadro 2), constituido por moléculas mixtas de hidrocarburos con algunos compuestos polares, de estructura muy compleja, que puede estar formada por 10 ó 20 anillos de benceno y cadenas laterales de hidrocarburos alifáticos. Al respecto, Centeno *et al.* (2004) al precipitar asfáltenos del petróleo crudo Maya, con *n*-heptano en un sistema a presión, encontraron un porcentaje en peso de aproximadamente 82.41, 7.78, 1.73, 8.32 para los átomos de carbono, hidrógeno, nitrógeno y azufre, respectivamente. Fernández *et al.* (2006), al hacer un estudio de biodegradabilidad de las fracciones de resinas y asfáltenos en un suelo impactado, mencionaron, que la solución que resulta de la precipitación de los asfáltenos, constituyen los maltenos

(resinas, saturados y aromáticos), los cuáles pueden separarse mediante una cromatografía líquida de adsorción en columna sobre gel de sílice, a fin de obtener las fracciones de resinas de hidrocarburos presentes en los crudos. Wauquier (2004) mencionó que las resinas tienen carácter fuertemente aromático y contienen heteroátomos (N, O, S y a veces Ni y V) con masa molecular entre 500 y 1000. Borges y Acevedo (2007) hicieron la caracterización de distintas fracciones de un crudo extrapesado, y mencionaron que de acuerdo con la información espectroscópica y estructural, la fracción ácida del crudo soluble en heptano (asfáltenos), está constituida por compuestos alifáticos de peso molecular bajo; con aspecto físico resinoso y asfáltenos con grupos carbonílicos; de aspecto sólido negruzco.

En los productos de procesos de conversión del petróleo, se encuentran diolefinas, hidrocarburos acetilénicos que no están presentes en los crudos del petróleo, o si lo están es sólo como trazas, en lo particular se menciona el butadieno 1,3 y el isopreno (Wauquier, 2004):



La composición aproximada de los crudos, en función de los elementos que pueden estar presentes, se muestran en el Cuadro 3. El elemento con mayor presencia es el carbono y el hidrógeno, principales constituyentes de los hidrocarburos.

Cuadro 3. Composición de los crudos (Puig y Corominas 1990; Lluch, 2008)

Elemento en el Crudo	% peso
Carbono	84-87
Hidrógeno	11-14
Azufre	0-5
Nitrógeno	0-0.2
Vanadio	Trazas
Plomo	Trazas
Arsénico	Trazas
Niquel	Trazas

### 2.3. Hidrocarburos del petróleo: características e interés medioambiental

Desde el punto de vista químico, los hidrocarburos que componen el petróleo crudo, se pueden agrupar en las siguientes series de hidrocarburos: parafinas, isoparafinas, cicloparafinas o nafténicos, aromáticos, naftalenos o asfáltenos (Gooding, 2009). Algunos de los principales hidrocarburos, se enlistan en el Cuadro 4.

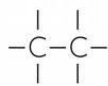
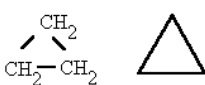
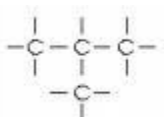
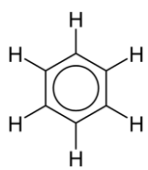
Los hidrocarburos de petróleo también, se pueden clasificar en fracciones con base en lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SS-2003:

- Hidrocarburos de fracción ligera. Son una mezcla de hidrocarburos cuyas moléculas contienen cadenas lineales entre cinco y diez átomos de carbono ( $C_5$  a  $C_{10}$ ).
- Hidrocarburos de fracción media. Son una mezcla de hidrocarburos cuyas moléculas contienen cadenas lineales entre diez y veintiocho átomos de carbono ( $C_{10}$  a  $C_{18}$ ).
- Los hidrocarburos de fracción pesada son una mezcla de hidrocarburos cuyo peso molecular es mayor a  $C_{18}$ .

Al respecto, Weisman (1998), Donna *et al.* (1999), Lynn *et al.* (2002) y Sadler y Connell (2003) mencionaron que la definición de HTP (hidrocarburos totales del petróleo), depende del método analítico usado para su determinación, ya que la medida de HTP, es la concentración total de los hidrocarburos extraídos y medidos por un método específico, mismos que pueden corresponder a las fracciones ligera, media y pesada, del petróleo. Los HTP, han sido objeto de estudio en varios trabajos de biodegradación o recuperación de suelos (Stephens *et al.*, 1999; Harris *et al.*, 2002; Sánchez *et al.*, 2004; Rivera-Cruz *et al.*, 2005; Vallejo *et al.*, 2005; Lu *et al.*, 2009).



Cuadro 4. Principales hidrocarburos agrupados de acuerdo con la serie (Botello, 2005; Gooding, 2009).

Serie	Hidrocarburo	Fórmula	
Parafinas (alcanos)  	Metano	CH <sub>4</sub>	
	Etano	CH <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	
	Propano	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	
	n-Butano	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	
	n-Pentano	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	
	n-Hexano	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> CH <sub>3</sub>	
	n-Heptano	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> CH <sub>3</sub>	
	n-Octano	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> CH <sub>3</sub>	
	n-Nonano	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> CH <sub>3</sub>	
	n-Decano	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> CH <sub>3</sub>	
Cicloparafinas (Nafténicos)  	Metilciclopentano	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub>	
	Ciclopropano	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub>	
	Ciclohexano	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub>	
Isoparafinas  	Isopentano	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CHCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	
	Isobutano	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CHCH <sub>3</sub>	
	Isohexano	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	
Aromáticos (1 anillo de benceno)  	†Benceno	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	
	†Tolueno	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>3</sub>	
	†Etilbenceno	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	
	†O-Xileno	O-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	
	†m-Xileno	m-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	
	†p-Xileno	p-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	
	Estireno	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH=CH <sub>2</sub>	
	(2 anillos de benceno)	Bifenilo	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
		Naftaleno	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub>
	(3 anillos de benceno)	Antraceno	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub>
		Fenantreno	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub>
	(4 anillos de benceno)	Pireno	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub>
	(5 anillos de benceno)	Benzo-pireno	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>

†- Perteneciente a la familia de los BTEX (Benceno, Tolueno Etilbenceno y Xilenos)

Kerr *et al.* (2001) realizaron la identificación de compuestos en un aceite crudo, y mencionaron que los hidrocarburos aromáticos, encontrados con mayor

frecuencia son: el naftaleno, el criseno, fenantreno, el benzo(a)pireno y el antraceno. Por otra parte, uno de los problemas de contaminación ambiental más importantes a nivel mundial, es el vertido de hidrocarburos derivados del petróleo en ecosistemas acuáticos y terrestres (Riser-Roberts, 1998; Rahman *et al.*, 2003 y Fernández *et al.*, 2006b). Al respecto, García-Gómez *et al.* (2004) identificaron hidrocarburos aromáticos en una muestra de suelo de Minatitlán, Veracruz, México, utilizando métodos espectroscópicos, encontrando, mediante la técnica de síncronos de excitación: fenantreno, dibenzo(a,h)antraceno y benzo(a)pireno. El conocimiento del tipo de contaminación por hidrocarburos, y su concentración, es fundamental para establecer las condiciones del sitio, el riesgo que representa y la selección de posibles tecnologías de recuperación (Fernández *et al.*, 2006b). Los límites de limpieza para hidrocarburos en suelos y aguas dependerán de los criterios o normas vigentes. En la Norma Oficial Mexicana, NOM-138-SEMARNAT/SS-2003, se establecen los límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos (Cuadro 5).

Cuadro 5. Límites máximos permisibles para fracciones de hidrocarburos en suelos (NOM-138-SEMARNAT/SS-2003).

Fracción de hidrocarburos	Uso de suelo predominante <sup>1</sup>		
	(mg kg <sup>-1</sup> base seca)		
	Agrícola <sup>2</sup>	Residencial <sup>3</sup>	Industrial
Ligera	200	200	500
Media	1200	1200	5000
Pesada	3000	3000	6000

<sup>1</sup>Para usos de suelos mixtos, deberá aplicarse la especificación al menor de los valores de usos de suelo involucrados.

<sup>2</sup>Incluye suelo forestal, recreativo y de conservación.

<sup>3</sup>Incluye comercial.

Los hidrocarburos de la fracción ligera, generalmente entre 5 y 10 carbonos (C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>); son tóxicos, volátiles, y no perduran en el ambiente (Gustafson *et al.*, 1997). Adams *et al.* (2008) afirmaron que en sitios donde se presentan hidrocarburos de fracción media, o de moderada meteorización en el suelo superficial, puede existir alguna toxicidad hacia las plantas y animales del suelo (tales como lombrices) pero

sólo cuando la concentración supere los 10000 mg HTP kg<sup>-1</sup> suelo; a concentraciones menores, la afectación es solo temporal (~2-3 meses).

El método EPA 4030 (1996f) es un procedimiento usado para evaluar la concentración de HTP presentes, y la exploración de concentraciones, bajo este método puede dar como resultado baja ( $\leq 100$  partes por millón), medio (100-1000 partes por millón) y alta ( $> 1000$  partes por millón); la sensibilidad del método, depende de la naturaleza de la contaminación por hidrocarburos y cualquier degradación que opere en el sitio (EPA, 1996f). La degradación en un suelo contaminado, es afectada por la cantidad de oxígeno disuelto, pH, temperatura, potencial de oxido-reducción, disponibilidad de nutrimentos orgánicos, salinidad, y la concentración de los contaminantes presentes tomando en cuenta que el número de organismos presentes, tiene un importante papel en los procesos de degradación (Riser-Roberts, 1998). Por otra parte Seoáñez (1998), mencionó que el tipo de suelo favorece o dificulta la actividad microbiana, argumentando que las arcillas aumentan el grado de crecimiento de la población microbiana.

Ortínez *et al.* (2003) mencionaron que en México no existen normas con respecto a los límites permisibles de hidrocarburos en el ambiente (suelo, agua y aire), por lo que se ha recurrido a referencias de organismos internacionales (Canadá, Países Bajos y Estados Unidos de América). En México, la PROFEPA ha manejado los criterios de limpieza que se encuentran en la Norma Oficial NOM-138-SEMARNAT/SS-2003 para BTEX e hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP).

#### **2.4. Efectos de hidrocarburos en suelos**

En el suelo, la fracción de n-alcános de bajo (C<sub>5</sub>-C<sub>9</sub>) y medio (C<sub>10</sub>-C<sub>18</sub>) peso molecular, hidrocarburos aromáticos (1 anillo) se volatilizan o degradan con cierta facilidad, mientras que los de alto peso molecular; n-alcános (C<sub>20</sub> a C<sub>40</sub>), aromáticos (5 ó 6 anillos), asfáltenos y resinas se degradan lentamente (Eweis *et al.*, 1998; IMO, 2005).

Gutiérrez y Zavala (2002) mencionaron, que las investigaciones realizadas para conocer los tipos de hidrocarburos que se han acumulado en los suelos tropicales, han demostrado que los tipos de suelo tienen diferente capacidad de respuesta a la acumulación del contaminante.

Las arcillas y la materia orgánica favorecen la inmovilización de compuestos del petróleo, evitando su diseminación en la superficie o infiltración en el perfil del suelo, principalmente alifáticos, y aromáticos originados por la combustión incompleta del petróleo (Bohn *et al.*, 1980; Gupta y Lin, 1993; Gutiérrez y Zavala, 2002; Sadler y Connell, 2003). Por el contrario, la textura arenosa favorece la movilidad e infiltración de los hidrocarburos a lo largo del perfil (Gupta y Lin, 1993; Totshe *et al.*, 1997; Gutiérrez y Zavala, 2002). La presencia de naftas además de los BTEX en el suelo inhibe la germinación de semillas y reducen el crecimiento de maíz y frijol (Chaineau *et al.*, 1997). García-Gómez *et al.* (2004) afirmaron, que los porcentajes de humedad, carbono, materia orgánica, junto con la textura, sirven para evaluar el grado de retención de los contaminantes en el suelo.

El petróleo afecta varias propiedades físicas y químicas del suelo. El contenido de carbono orgánico aumenta en el suelo mediante el proceso de oxidación y se relaciona con los contenidos de HTP (Udo y Bayomi, 1975; Ortínez *et al.*, 2003). El complejo mineral húmico incrementa la adsorción de pireno, antraceno, xileno y etilbenceno (Gupta y Lin, 1993; Totshe *et al.*, 1997; Onken y Traina, 1997). Zavala *et al.* (2005) afirmaron que los derrames de petróleo aumentan el contenido de carbono orgánico en los suelos Antrosol, Acrisol y Gleysol del Activo Cinco Presidentes, Tabasco.

Riser-Roberts (1998), Seoáñez, (1998) y Manahan (2007) afirmaron que el petróleo disminuye el pH del suelo, debido a la acumulación de carbono orgánico y generación de ácidos orgánicos. Por otra parte Martínez y López (2001) mencionaron que la capacidad de intercambio catiónico (CIC) no es afectada por el petróleo en el suelo y que el contenido de carbono orgánico se incrementa en el suelo, debido a la

oxidación de hidrocarburos. Al respecto, Zavala *et al.* (2003) encontraron asociación en las variables CIC y contenido de hidrocarburos (aromático y policíclicos) en tierras de barrial y arenilla. Seoáñez (1998) también afirmó que los derrames de petróleo afectan la porosidad del suelo.

Jury (1986), Cole (1994), y Ortínez *et al.* (2003) mencionaron que los parámetros del suelo que más influyen en el transporte del contaminante son: el contenido de agua, porosidad, permeabilidad, contenido de arcilla, contenido de materia orgánica y profundidad del agua subterránea; y dentro de los parámetros del contaminante que más influyen para su transporte son la solubilidad, presión de vapor, grupos funcionales y polaridad. Nudelman *et al.* (2000), mencionaron que la capacidad adsorptiva de hidrocarburos, por parte de las arcillas es mayor, cuando un suelo está seco y el contenido de materia orgánica es pobre. Al respecto, Sadler y Connell (2003) y Manahan (2007), mencionaron que los hidrocarburos son fuertemente retenidos por la materia orgánica del suelo.

En la materia orgánica del suelo pueden existir sustancias que son consideradas contaminantes orgánicos (Cuadro 6). Gómez (2004) mencionó que la movilidad de los compuestos orgánicos en el suelo está relacionada con su solubilidad en agua, a mayor solubilidad mayor movilidad. Por otra parte, Nudelman *et al.* (2000), también mencionaron que cuando el contenido de humedad es >5% se inhibe la adsorción de la fracción polar del petróleo. Con un aumento considerable en la humedad disminuye la adsorción de hidrocarburos líquidos en la MO y arcilla, así como el espacio libre en poros y capilares del suelo (Fine *et al.*, 1997). Por otra parte Ortínez *et al.* (2003) mencionaron que el aumento de la retención del agua en la capa superficial, es una de las propiedades físicas del suelo más afectada cuando ocurre un derrame de petróleo.

Cuadro 6. Composición de la materia orgánica del suelo (Dragun, 1998; Manahan, 2007)

Sustancias	Existencia en forma natural en el suelo	Características/función
Productos metabólicos	Aminoácidos y azúcares: <i>a</i> -alanina, <i>b</i> -alanina, arginina, ácido aspártico, cysteina, lisina, ácido glutámico, etc.	Son exudados por los microorganismos a causa de sus funciones metabólicas. Los que tienen nitrógeno enlazado contribuyen a la fertilidad del suelo.
Polímeros orgánicos	Péptidos, proteínas, ácidos nucleicos, polisacáridos, carbohidratos, celulosa, lignina, celulosa lignina-celulosa-hemicelulosa (combinación de polímeros), pectina, etc.	Cadenas largas de moléculas con alto peso molecular, de las cuales algunas se degradan rápidamente en el suelo. Exudados por microorganismos ó derivados de las plantas.
Sustancias húmicas	Ácidos fúlvicos(15-45% de benceno en su estructura);solubles en agua a todos los pH. Ácidos húmicos: insolubles en agua a pH<2 y solubles a pH>2 Huminas. Insolubles en agua a todos los pH.	Moléculas de alto peso molecular y estructuras químicas complejas, con grupos carboxílicos (COOH) e hidroxilo (OH), de color café a negro, derivados de plantas y residuos de animales resistentes a la degradación, y solubles en agua a distintos pH.
Grasas, resinas y ceras	Lípidos extraíbles por disolventes orgánicos.	Constituyente pobre de la materia orgánica, tal vez son fitotóxicos.
Compuestos orgánicos	Alcanos, ácidos alcanoicos, alcanoides, cicloalcanos, cianidas orgánicas, y derivados aromáticos (hidrocarburos aromáticos poli cíclicos) †BTEX (1-5 mg kg <sup>-1</sup> ), acetona, metil alcanona, propano, taninos, terpenos, benzo[a]antraceno, benzo[a]pireno, benzo[a]fluoranteno, antraceno, indeno, pireno, criseno, entre otros.	La mayoría son generados por la actividad enzimática, y su existencia depende de las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo.
Compuestos de fósforo	Esteres de fosfato, fosfato de inositol (ácido fítico), fosfolípidos.	Fuente de fosfato para las plantas.

†BTEX= Benceno, Tolueno, Etilbenceno y Xilenos.

Gutiérrez y Zavala (2002) mencionaron, que cuando un suelo presenta un ambiente reducido y existe una fuente de energía, el Fe y el Mn pueden ser removidos dentro del perfil. Al respecto Ortíz *et al.* (2003) describieron el aumento de manganeso e hierro intercambiable como una consecuencia de los derrames de petróleo en el suelo.

## **2.5. Métodos analíticos para la determinación de hidrocarburos 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* "USEPA").

La concentración de hidrocarburos totales del petróleo (HTP), puede incluir miles de compuestos, de los cuales se toman aquellos de propiedades físicas y químicas conocidas, como enfoque dentro de las acciones de limpieza (Donna *et al.*, 1999). Para el análisis de componentes no volátiles o semi-volátiles en muestras de suelo, es necesario que los hidrocarburos se encuentren en disolución (Sadler y Connell, 2003). Muchos procedimientos de la *Environmental Protection Agency* (EPA), se refieren a este efecto de disolución (Cuadro 7). La extracción térmica con el método EPA 8275A (1996b); es aplicada al análisis de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP); la extracción con fluidos supercríticos en el método EPA 3560 (1996c), es utilizada para la recuperación de hidrocarburos totales, y el método EPA 3561 (1996d), es utilizado para recuperación de hidrocarburos aromáticos polinucleares. Vallejo *et al.* (2005) compararon la eficiencia en los procesos de extracción y determinación de HTP, con el método EPA modificado de extracción por agitación mecánica y determinación gravimétrica (EAMG)(1994), y el método estándar ASTM para la determinación de combustibles en suelos D-5831 (1995); encontrando que el método EAMG presenta una mejor precisión y exactitud que el método ASTM, para diferentes matrices de suelo (contaminadas y no contaminadas).

Cuadro 7. Métodos para el análisis de componentes no-volátiles o semi-volátiles en suelos.

Método (Referencia)	Disolventes de extracción sugeridos	Límite de detección mg/kg (suelo)	Técnica de extracción
3540C (EPA, 1996)	Acetona/hexano (1:1), diclorometano/acetona (1:1), diclorometano, hexano, tolueno:metanol (2:1), 2-propanol, acetonitrilo.	50	Soxhlet
3550C (EPA, 2007)	Acetona, cloruro de metileno, acetona:hexano (1:1), acetona/diclorometano (1:1), †hexano, †2-propanol, †ciclohexano, †acetonitrilo, †metanol.	20	Ultrasonido
8275A (EPA, 1996b)	Cloruro de metileno, metanol, disulfuro de carbono, tolueno.	1	Unidad térmica con solvente antes del análisis †TE/GC/MS
3560 (EPA, 1996c)	*Tetracloroetano †(IR), *isooctano o diclorometano (GC)	Depende de la determinación †(IR ó GC).	Fluidos supercríticos (CO <sub>2</sub> ) para HTP
3561 (EPA, 1996d)	CO <sub>2</sub> /metanol/diclorometano (95/1/4), CO <sub>2</sub> /metanol/agua (95/1/4)	0.1-10	Fluido supercrítico (CO <sub>2</sub> )
*(EAMG) (EPA, 1994)	Acetona/diclorometano (1:1), hexano/metil tertbutil éter (80/20)	625	Agitación mecánica o Soxhlet
††D-5831 (ASTM, 1995)	Alcohol isopropílico	75	Reflujo o agitación mecánica
418.1 (EPA, 1986a)	Clorotrifluoroetileno, hexano	10	Soxhlet o agitación mecánica
8440 (1996)	CO <sub>2</sub> , supercrítico	10	Fluidos supercríticos
8015B (EPA, 1986b)	Metanol, n-hexano, 2-propanol, ciclohexano, acetonitrilo, acetona, cloruro de metileno, acetona/hexano (1:1), acetona/cloruro de metileno (1/1), hexano	Depende de la técnica de disolución empleada	Agitación mecánica, Soxhlet, Ultrasonido
9071B (EPA, 1998)	Hexano	50	Soxhlet

\*Método modificado de extracción por agitación mecánica y determinación gravimétrica

†Su elección depende del método instrumental que se usará para la determinación del analito de interés.

†† Método estándar para la determinación de combustibles en suelos D-5831.

‡TE/GC/MS=Extracción térmica/cromatografía de gas/espectrómetro de masas IR= Infrarrojo  
GC=Cromatografía de gas y CO<sub>2</sub>=Dióxido de carbono.



El método EPA 418.1 (1986a) es uno de los más usados para la determinación de HTP (Rivera Cruz *et al.*, 2005; Fernández *et al.*, 2006; Romaniuk *et al.*, 2007). Sin embargo, propone purificar la muestra con gel de sílice (eliminando la presencia de compuestos polares), para obtener mediciones confiables (George, 1994).

Al respecto, Pawlak *et al.* (2008) mencionaron que el método 418.1 también induce a la cuantificación de compuestos no derivados de los hidrocarburos como los ácidos húmicos. Debido a los efectos del 1,1,2-triclorotrifluoroetano (CFC-113) sobre la capa de ozono, este método fue reemplazado por el método D7066-04, publicado en la ASTM Internacional en el 2004 (EPA, 2009), en el cual, se sugiere como disolvente de extracción el clorotrifluoroetileno (S-316).

El método EPA 8015B (1986b), además de sugerir la extracción de los hidrocarburos semi-volátiles previo al análisis por cromatografía de gas con detector de ionización de flama (GC-FID), con un disolvente para reportar una concentración en el intervalo del diesel, permite efectuar la cuantificación de hidrocarburos volátiles (en el intervalo de la gasolina), los cuales son medidos por purga y trampa en análisis por GC-FID (Sadler y Connell, 2003; Pawlak *et al.*, 2008). El límite de detección para este método, no se menciona en el Cuadro 7, porque depende de la técnica de disolución empleada. Actualmente muchos laboratorios han adoptado el método EPA 9071B (1998), como reemplazo al método EPA 418.1 (1986a) (Pawlak *et al.*, 2008). Este método es recomendado cuando se sospecha la existencia de compuestos con temperaturas de ebullición superior a la del hexano, y sugiere determinar por gravimetría, la cantidad de hidrocarburos presentes (EPA, 1998; Weisman, 1998; NMX-AA-134-scfi-2006 y Villalobos *et al.*, 2008).

Los métodos antes mencionados, para el análisis de hidrocarburos semi volátiles y no volátiles, constan habitualmente de cuatro etapas: pretratamiento, extracción, preconcentración y medida (EPA, 1996e; NEPC, 1999). Los extractantes más usados para la separación de los hidrocarburos son: hexano, metanol, éter

etílico, diclorometano, butanol, acetato de etilo, acetona, ciclohexano, o la combinación entre ellos (USEPA, 1996 y Szolar *et al.*, 2002). En el Cuadro 8, es presentada una cronosecuencia de investigación, a cerca de contaminación en suelos con petróleo, destacando el método de extracción Soxhlet y el diclorometano como extractante; sin embargo, el tiempo de extracción es modificado, aún cuando sea utilizado el mismo método de extracción y el disolvente.

En el Cuadro 8, se observa que el diclorometano es uno de los disolventes más ampliamente utilizados para las determinaciones de HTP; además de que también se ha utilizado, para extracciones de HAP en otras matrices sólidas (Rey-Salgueiro *et al.*, 2004). Por otra parte, García-Falcón *et al.* (2005) y Rey-Salgueiro *et al.* (2009) utilizaron hexano como disolvente para la extracción de HAP en muestras sólidas (café y mariscos respectivamente), y los HAP estudiados en ambos casos fueron: pyreno, benzo[a]anthraceno, criseno, metilcriseno, benzo[j]fluoranteno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[a]pyreno, dibenzo[a,h]pyreno, dibenzo[a,h]antraceno, benzo[g,h,i]perileno e indeno[1,2,3-cd]pireno.

Cuadro 8. Extracción de hidrocarburos totales del petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo en diversos estudios de suelos.

Tipo de estudio	Sistema de extracción	Extractante	Tiempo (h)	Referencia
Biorremediación	Soxhlet	Diclorometano	24	Stephens, <i>et al.</i> , 1999
Análisis de TPH	Ultrasonido	Diclorometano y Freón-113 <sup>†</sup>	5	Nadim <i>et al.</i> , 2002
Biodegradación	Agitación mecánica	Diclorometano	0.50	Harris <i>et al.</i> , 2002
Degradación de asfáltenos	Agitación con barra magnética	n-heptano	18	Pineda-Flores <i>et al.</i> , 2002
Identificación de compuestos	Soxhlet	Diclorometano:metanol (2:1)	8	Ortiz y García, 2003
Precipitación de asfáltenos	Reflujo y agitación	n-heptano	0.33-10	Centeno <i>et al.</i> , 2004
Análisis de TPH	Agitación orbital	Diclorometano	4	Pardo <i>et al.</i> , 2004
Análisis de TPH	Soxhlet	Diclorometano	8	Sánchez <i>et al.</i> , 2004
Evaluación de suelos contaminados	Soxhlet	Diclorometano	8	Rivera-Cruz <i>et al.</i> , 2005
Biodegradación	Agitación mecánica	Acetona: Diclorometano (1:1)	0.50	Vallejo <i>et al.</i> , 2005
Análisis de TPH	Soxhlet	Hexano	4	Duran y Contreras, 2006
TPH en sedimentos	Soxhlet	Hexano	4	Fernández <i>et al.</i> , 2006a
Fitorremediación	Agitación mecánica	Diclorometano	0.50	Sangabriel <i>et al.</i> , 2006
Remediación	Soxhlet	Freón	ns	Romaniuk <i>et al.</i> , 2007
Análisis de TPH	Ultrasonido	Hexano	0.42	Villalobos <i>et al.</i> , 2008
Análisis de TPH	Soxhlet	Hexano	8	Villalobos <i>et al.</i> , 2008
Biodegradación	Soxhlet	Diclorometano	8	Lu <i>et al.</i> , 2009

ns - no se menciona en la referencia, † usados por separado

## 2.6. Disolventes orgánicos utilizados para la extracción de hidrocarburos

Las muestras a analizar que se reciben en un laboratorio no están en la forma apropiada para realizar directamente el análisis y es necesario aplicar técnicas que “extraigan” el analito de la matriz en que se encuentre y lo coloquen en una matriz apropiada para la realización del análisis. El conjunto de técnicas analíticas que “extraen” analitos de una matriz para pasarlo a otra se denominan “técnicas de extracción” (Sogorb *et al.*, 2004).

Para matrices sólidas de las cuales, los solutos son difíciles de extraer, se utilizan las técnicas tradicionales (extracción Soxhlet y extracción por ultrasonido). Las condiciones de extracción se facilitan con disolventes orgánicos recomendados en las técnicas tradicionales de extracción (Camel, 2001; Rey-Salgueiro *et al.*, 2009).

Wade (1993) así como Melo y Cuamatzi (2007) mencionaron, que los disolventes de extracción, pueden existir como moléculas polares o apolares; argumentan que las moléculas polares constituyen un dipolo, es decir, dos cargas iguales y opuestas separadas en el espacio, que generan un momento dipolar molecular ( $\mu$ ), el cual se toma como un indicador del índice de polaridad de una sustancia.

En la Figura 5, se indica la dirección del momento dipolar de la molécula del diclorometano ( $\text{H}_2\text{CCl}_2$ ), que resulta, de la suma de los dos dipolos correspondientes a cada enlace carbono-cloro. En el triclorometano o cloroformo ( $\text{HCCl}_3$ ) hay tres enlaces carbono-cloro y la polaridad total de la molécula, será la suma vectorial de los tres enlaces carbono-cloro. Para el tetracloruro de carbono ( $\text{CCl}_4$ ), puesto que todos los enlaces carbono-cloro están opuestos y dirigidos hacia los vértices de un tetraedro (Wade, 1993; Melo y Cuamatzi, 2007), la suma vectorial de los cuatro dipolos se anula y el momento dipolar es cero.

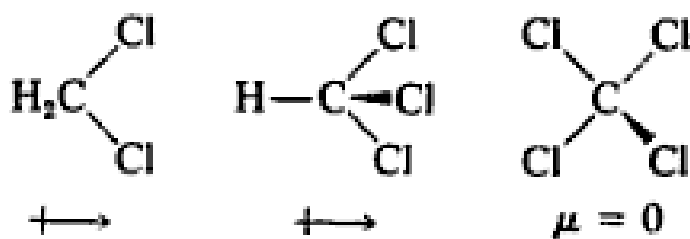


Figura 5. Polarización en los clorometanos (Dupont y Gokel, 2007)

Al igual que el índice de polaridad de un disolvente, la constante dieléctrica ( $\epsilon$ ) es una medida de la polaridad del disolvente (Wade, 1993 y Lide, 1999). El Cuadro 9 enumera las constantes dieléctricas de algunos disolventes comunes.

Cuadro 9. Propiedades de los disolventes más comunes (Wade, 1993; Lide, 1999; Dupont y Gokel, 2007).

Solvente	Punto de ebullición, °C	Constante dieléctrica ( $\epsilon$ )	Momento dipolar, $\mu$
Metanol	65	1.7	32.6
Etanol (anhidro)	78.5	1.7	24.3
2-propanol	82	1.7	18.3
terc-Butanol	83	1.7	10.9
n-Propanol	97	1.7	20.1
n-Butanol	118	1.7	17.1
2-Metoxietanol	124	2.2	16.0
Etilenglicol	198	2.3	37.7
Acetona	56	2.9	20.7
Agua	100	1.8	81.5
Hexano	69	0	1.89
Ciclohexano	81	0	2.02
Diclorometano	40	1.6	8.9

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

El experimento se desarrolló en dos etapas: i) Trabajo de campo, muestreo en tres sitios que presentan contaminación por derrames de petróleo, ii) Cuantificación de los hidrocarburos totales del petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP), en suelos con características físicas y químicas diferentes.

#### **3.1. Trabajo de campo**

##### **3.1.1 Localización del área de muestreo**

El muestreo se realizó en la Cuenca Baja del río Tonalá y lagunas 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° 59´ 30” y 18° 18´02” de latitud norte, y los 93° 46´58” y 94° 07´48” de longitud oeste, en los municipios de Cárdenas y Huimanguillo. El sitio se sitúa en la provincia fisiográfica de llanuras y pantanos tabasqueños, 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 y palmar. En esta zona fue posible localizar las tres matrices de suelo requeridas para esta investigación.

##### **3.1.2 Herramientas de muestreo**

Como materiales se utilizaron bolsas de nylon con capacidad para 2 kg, pala recta, machete, cubetas metálicas, etiquetas, lápiz y libreta de campo.

### 3.1.3 Muestreo de suelos en la cuenca baja del río Tonalá

Se utilizó un muestreo dirigido de acuerdo con la Normativa Oficial Mexicana (NOM-138-SEMARNAT/SS-2003) en tres áreas. El criterio de selección de sitios, fue suelos con diferentes características físicas y químicas. El estudio se realizó en las comunidades: el Yucateco (sitio 1), ejido José Narciso Rovirosa (sitio 2), y ejido La Ceiba (sitio 3) en el estado de Tabasco, México (Cuadro 10 y Figura 6). Se realizó la recolecta de suelo superficial (0-30 cm de profundidad) en las tres áreas. En cada sitio fueron recolectados 20 kg de suelo con pala recta. El uso del suelo en el sitio 1, es el cultivo de coco, pastos pelillo y humidícola [*Brachiaria humidicola* (Rendle) Sch.] (García-López *et al.*, 2006). En el sitio 2, se encontró cultivo de pasto para la ganadería bovina, la especie dominante es el pasto japonesa (zoysia japónica) y se pueden encontrar otras especies de menor cobertura como tulillo (*Cyperus articulatus*) y tres lomas (Ciperácea). El clima es cálido húmedo con abundantes lluvias en verano, con 2240 mm de precipitación anual y 25.8 °C de temperatura media anual (INEGI, 2001). El suelo presenta contaminación severa con petróleo por derrame crónico de petróleo ubicado en el terreno (Figuras 7 y 8). Por otra parte, el sitio 3 permanece por lo regular 9 meses inundados y 3 meses secos a lo largo del año, y presentó un derrame desde hace 7 años. El uso de este suelo, es cultivo de pasto egipto [*Brachiaria mutica* (Forsksskal) Stapf] y alemán [*Echinochloa polystachya* (H. B. K.) Hitchcok] para la ganadería bovina.

Cuadro 10. Características de los sitios seleccionados.

Variable	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3
Tipo de suelo	†Antrosol Dístrico Hórtico	††Gleysol Hístico (Dístrico Húmico)	††Histosol Rehico Sáprico (Éutrico Tóxico Sódico)
Coordenadas geográficas	15Q393022 y UTM 2013986	15Q389415 y UTM 2013986	15Q390015 y UTM 1995514
Uso del suelo	Cultivos de coco y pastos.	Cultivo de pastos	Cultivo de pastos
Presencia de derrames	Moderada	Severa	Severa

Fuente: †Zavala (2004) y ††Palma-López *et al.* (2007).

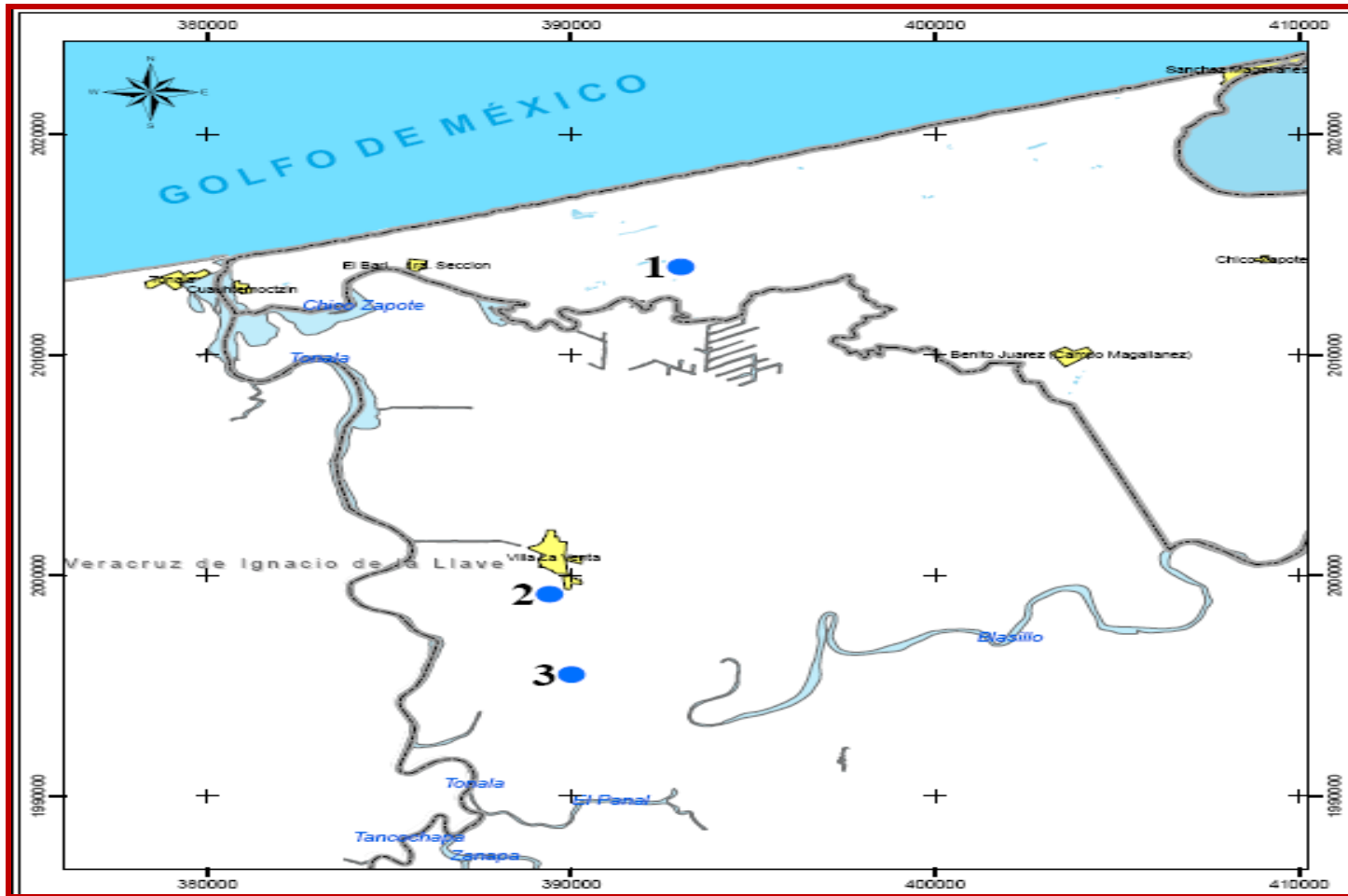


Figura 6. Ubicación Geográfica del Antrosol Dístico Hórtico (1), Gleysol Hístico (Dístico Húmico) (2), Histosol Rehico Sáprico (Étrico Tóxico Sódico) (3).





Figura 7. Aspecto del derrame de petróleo crudo en el ejido José Narciso Rovirosa, ubicado 2 km al sur de la petroquímica La Venta (sitio 2).



Figura 8. Perfil de suelo contaminado con petróleo crudo, en la profundidad de 0-30 cm, de un suelo Gleysol en el ejido José Narciso Rovirosa (sitio 2).

## **3.2. Cuantificación de HTP y compuestos derivados del petróleo en cada uno de los suelos**

### **3.2.1 Preparación de las muestras**

Los suelos se secaron al aire y a la sombra en charolas de acrílico (a 27 °C aproximadamente), se molieron con rodillo de madera, se tamizaron en malla de 2 mm de diámetro, y malla de 1 mm para el suelo orgánico proveniente del sitio 3. Los suelos se almacenaron en frascos de vidrio con tapa metálica de rosca y se homogeneizaron en un periodo de 17 horas mediante rotación manual del frasco.

### **3.2.2 Análisis Soxhlet**

El análisis de los contenidos totales de hidrocarburos en suelos con características físicas y químicas diferentes (apartado 3.2.4), se realizó mediante extracción por reflujo Soxhlet, empleando el método EPA 3540C (1996a), disolventes de distinta polaridad y aplicando diferentes tiempos de extracción. En la Figura 9, se presenta el sistema Soxhlet, que se empleó para las extracciones.



Figura 9. Sistema Soxhlet

Las propiedades físicas de los disolventes empleados en este trabajo se mencionan en el apartado 3.2.3. Este método de extracción asegura el contacto íntimo de la matriz de la muestra con el disolvente. Para la óptima extracción de los compuestos orgánicos, el suelo se pulverizó en partículas pequeñas, para asegurar un mejor contacto con el disolvente, y así lograr una extracción más eficiente.

El disolvente fue evaporado, y el extracto orgánico obtenido se cuantificó gravimétricamente. El resultado se reporta como porcentaje de la muestra total en base peso seco.

### 3.2.3 Reactivos

Las propiedades físicas de los disolventes empleados en este trabajo están listadas en el Cuadro 11. El criterio para la selección de los disolventes de extracción, se basó en la constante dieléctrica, la cual se tomó como una medida de la polaridad del disolvente (Wade, 1993), lo que permitió elegir tres disolventes de polaridad contrastante.

Cuadro 11. Constantes físicas de los disolventes utilizados (Wade, 1993; Lide, 1999, Dupont y Gokel, 2007).

Solvente	<sup>†</sup> F	£	<sup>†</sup> PE (°C)	Características
Metanol	CH <sub>3</sub> OH	24.30	69	Tóxico e inflamable
Hexano	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	1.89	80	Tóxico e inflamable
Diclorometano	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	8.90	40	Tóxico y ligeramente inflamable

<sup>†</sup>F=Fórmula Química, PE=Temperatura de ebullición normal, £=Constante dieléctrica.

### 3.2.4 Matrices de suelo

A continuación se describen los suelos (Palma-López *et al.*, 2007 y Zavala, 2004), los cuales presentaron características físicas y químicas diferentes:

**Histosol (HS).** Suelo que tiene material orgánico (horizonte H de más de 20% de materia orgánica) de 40 cm de espesor o más. Los Histosoles tienen como característica principal una fuerte acumulación de materia orgánica en diferentes estados de descomposición. La acumulación de materia orgánica en el trópico húmedo, es debida a condiciones de anegamiento que no permite la difusión del oxígeno y por ende la oxidación de la materia orgánica. Estas condiciones se presentan en lugares bajos que están sujetos al anegamiento la mayor parte del año, de tal forma que estos suelos sólo están libres de agua en la superficie, 30 ó 40 días. En el estado de Tabasco (México), se han identificado las subunidades: Histosoles Sápricos (HSsa) e Histosoles Sodi-Sápricos (HSsosa), presentan una CIC muy alta, el contenido de bases intercambiables es alto y el pH es ácido (Palma-López *et al.*, 2007).

**Antrosol Districo Hórtico (ATordy).** Suelos que tienen un origen antropogenico, con un horizonte hórtico en la capa (0-97 cm), en el cual no existe labranza profunda. Este horizonte permite diferenciar los Atordy de los Arenosoles, aunque por su textura ambos suelos son similares. Los ATordy son profundos y de textura arenosa, el pH es muy ácido en la capa superficial; el contenido de materia orgánica es pobre, el contenido de bases intercambiables es baja, la CIC y la CE, también son muy bajas (Zavala, 2004).

**Gleysoles (GL).** Suelo que presenta propiedades gléyicas (saturación con agua durante ciertos períodos, del año o todo el año y que manifiestan procesos de reducción o una reducción asociada a la segregación de hierro) a menos de 50 cm de profundidad, no deben tener características de diagnóstico de un Vertisol o Arenosol, ni propiedades sálicas; no deben tener plintita. En el estado de Tabasco, se han identificado las subunidades: Gleysoles Mólicos (GLmo), Gleysoles Húmicos (GLhu), Gleyisol Úmbrico (GLum), Gleyisol Éutrico (GLEu), y Gleyisol Dístrico (GLdy), el cual presenta un porcentaje de saturación de bases inferior a 50% entre 20 y 50 cm de profundidad y un pH ácido (Palma-López *et al.*, 2007).

En los suelos colectados se determinó la humedad de acuerdo a la Normatividad Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000, con objeto de reportar las concentraciones de HTP y compuestos derivados del petróleo en base peso seco (ps).

### 3.2.5 Diseño experimental

Para realizar las extracciones, se propuso el diseño experimental (Cuadro 13) con las variables indicadas en el Cuadro 12. Se empleó el modelo factorial 4x3 (tiempo x solvente), para analizar el efecto de interacciones en las variables de estudio, en un diseño completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento para cada tipo de suelo.

El modelo establecido fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + B_i + C_j + (B \cdot C)_{ij} + E_{ijk}$$

Donde:

$Y_{ijk}$  = Variable de respuesta en la repetición k,  $i=1,2,\dots,a$   
nivel J de b, nivel i de A.  $j= 1,2,\dots,b$

$\mu$ = Media general.

$B_i$ = Efecto del factor B al nivel i.

$C_j$ = Efecto del factor C al nivel J.

$(BC)_{ij}$ = Efecto de la interacción BC al nivel i,j.

$E_{ijk}$ = Error aleatorio.

Este modelo indica el efecto de interacciones entre B y C, y la significancia de los niveles de B y C. En cada suelo se aplicaron 12 tratamientos que resultan de la combinación de los tiempos de extracción y los diferentes extractantes.

Cuadro 12. Factores y niveles de estudio.

Factores	Clave	Niveles
Suelo	A	Sitio 1(Antrosol) Sitio 2(Gleysol) Sitio 3(Histosol)
Tiempo (horas)	B	4 8 12 16
Disolvente	C	Metanol Hexano Diclorometano

En el Cuadro 12, se observan los cuatro niveles del factor tiempo y los 3 niveles de los factores suelo y disolvente, respectivamente. Los nombres de los suelos (Antrosol, Gleysol e Histosol) presentados en el Cuadro 12, se emplearon como una abreviatura de los nombres presentados en el Cuadro 10, para el suelo de cada sitio.

Cuadro 13. Diseño experimental.

Factor B (Tiempo)	Factor C (Disolvente)	Factor A		
		a <sub>1</sub> (Antrosol)	a <sub>2</sub> (Gleysol)	a <sub>3</sub> (Histosol)
b <sub>1</sub>	C <sub>1</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	a <sub>3</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>
	C <sub>2</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>	a <sub>3</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub>
	C <sub>3</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>3</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> c <sub>3</sub>	a <sub>3</sub> b <sub>1</sub> c <sub>3</sub>
b <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> c <sub>1</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> c <sub>1</sub>	a <sub>3</sub> b <sub>2</sub> c <sub>1</sub>
	C <sub>2</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> c <sub>2</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> c <sub>2</sub>	a <sub>3</sub> b <sub>2</sub> c <sub>2</sub>
	C <sub>3</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> c <sub>3</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> c <sub>3</sub>	a <sub>3</sub> b <sub>2</sub> c <sub>3</sub>
b <sub>3</sub>	C <sub>1</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>3</sub> c <sub>1</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>3</sub> c <sub>1</sub>	a <sub>3</sub> b <sub>3</sub> c <sub>1</sub>
	C <sub>2</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>3</sub> c <sub>2</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>3</sub> c <sub>2</sub>	a <sub>3</sub> b <sub>3</sub> c <sub>2</sub>
	C <sub>3</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>3</sub> c <sub>3</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>3</sub> c <sub>3</sub>	a <sub>3</sub> b <sub>3</sub> c <sub>3</sub>
b <sub>4</sub>	C <sub>1</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>4</sub> c <sub>1</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>4</sub> c <sub>1</sub>	a <sub>3</sub> b <sub>4</sub> c <sub>1</sub>
	C <sub>2</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>4</sub> c <sub>2</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>4</sub> c <sub>2</sub>	a <sub>3</sub> b <sub>4</sub> c <sub>2</sub>
	C <sub>3</sub>	a <sub>1</sub> b <sub>4</sub> c <sub>3</sub>	a <sub>2</sub> b <sub>4</sub> c <sub>3</sub>	a <sub>3</sub> b <sub>4</sub> c <sub>3</sub>

En el Cuadro 13, las combinaciones de cada nivel del factor tiempo, con cada nivel del factor disolvente, dio como resultado un tratamiento, que se aplicó en cada una de las unidades de suelos (con derrames de petróleo), por lo cual se aplicaron 12 tratamientos (extracciones a 4, 8 12 y 16 horas con diferentes disolventes) en cada suelo. El factor suelo, tomó tres niveles dentro del diseño experimental (Cuadro 13).

### 3.2.6 Análisis estadístico

Para analizar las relaciones que tienen todas las variables entre sí, se utilizó la matriz de correlación de Pearson. El análisis estadístico de los datos se hizo con el paquete SAS y MINITAB para Windows. Los valores de correlación ( $r$ ) cercanos a 1 indican fuerte asociación positiva entre las variables y los valores cercanos a -1 asociación negativa entre ellas, y valores próximos a cero que no existe relación lineal entre ellos (Infante, 1990). Se aplicó el procedimiento GLM y se utilizó la prueba de Tukey para determinar diferencias estadísticas de las medias de los tratamientos ( $p < 0,05$ ) (SAS Institute, 2002).

Para verificar la homogeneidad de cada uno de los suelos, se tomó el criterio del coeficiente de variación, en las mediciones realizadas de HTP ó CDP, y humedad (Serra y Aranceta, 2006). De igual forma, para hacer tal verificación, se realizó la prueba de esfericidad y el análisis de varianza de medidas repetidas. El modelo de medidas repetidas es el siguiente (Moreno, 1993 y Ruíz-Ochoa *et al.*, 2006).

$$Y_{ij} = \mu + a_i + t_j + e_{ij},$$

Donde  $i = 1, \dots, n$  individuos

$j = 1, \dots, p$  niveles o tratamientos

Si las diferencias entre los niveles están correlacionadas a través de los tratamientos (tiempo), entonces los contrastes usados para probar la hipótesis no

deberían ser independientes uno del otro (Underwood, 1981; Maxwell y Delaney, 2004).

La esfericidad dentro del modelo anterior supone que, existe una relación especial entre las respuestas dentro de los niveles de las variables que está implícita en el modelo de la matriz de varianzas y covarianzas, es decir existe igualdad de las varianzas obtenidas a partir de las diferencias entre dos tratamientos (Vallejo, 2001).

El supuesto de esfericidad, prueba la hipótesis que la estructura de covarianzas del análisis de medidas repetidas es de forma que las probabilidades de una distribución F es correcta, es decir, verificará la hipótesis que los componentes ortogonales no están correlacionados y tienen varianza común (Herrera y Barreras, 2005).



## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las características físicas y químicas más relevantes de los suelos en estudio se presentan en el Cuadro 14. Debido al alto contenido de MO en los suelos de los sitios 2 y 3, no se realizó el análisis de textura. Los tres suelos de estos sitios, difieren mucho en cuanto al contenido de MO y CIC. Estas propiedades, son las que sustentan el tener suelos, con características físicas y químicas diferentes; además de considerar al suelo del sitio 3, como un suelo orgánico (Adams *et al.*, 2008).

Cuadro 14. Características físicas y químicas de las muestras de suelo.

Variable	Método Analítico	<sup>1</sup> Sitio 1 (Antrosol)	<sup>2</sup> Sitio 2 (Gleysol)	<sup>2</sup> Sitio 3 (Histosol)
MO (%)	Walkley y Black; y por combustión seca (mufla)	0.77	31.00	83.80
CIC (cmol kg <sup>-1</sup> )	Acetato de amonio (1.0 N, pH 7.0)	3.0	32.6	71.5
pH <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	(potenciometría)	5.1	5.4	4.1
Textura	Bouyoucos	Arena	Nd	Nd
†Humedad (%)	Gravimetría	2.21	11.49	14.01
‡Na <sup>+</sup>	Acetato de amonio (1.0 N, pH 7.0)	0.055	2.35	11.3
‡Ca <sup>2+</sup>	Acetato de amonio (1.0 N, pH 7.0)	1.23	11.68	27.54
‡Mg <sup>2+</sup>	Acetato de amonio (1.0 N, pH 7.0)	0.58	4.93	33.14
‡K <sup>+</sup>	Acetato de amonio (1.0 N, pH 7.0)	0.105	0.97	0.47

Fuente: <sup>1</sup>Zavala *et al.* (2005) y <sup>2</sup>Zavala *et al.* (2010).

†Medición efectuada al momento de efectuar la extracción de hidrocarburos.

‡Na<sup>+</sup>= sodio intercambiable ‡Mg<sup>2+</sup>= magnesio intercambiable ‡Ca<sup>2+</sup>= calcio intercambiable

‡K<sup>+</sup>= potasio intercambiable Nd- No determinada.

El alto contenido de MO en los suelos indica que esta propiedad retiene fracciones de HTP (Al-Sarawi y Massoud, 1998; Sadler y Connell, 2003). El contenido la MO también se puede atribuir al método usado para su determinación, ya que los hidrocarburos se cuantifican como carbono orgánico (Martínez y López, 2001; Villalobos *et al.*, 2008). Por otra parte, Zavala *et al.* (2005) mencionaron que los derrames de petróleo aportan agua salada, los cuales aumentan la concentración

de sales solubles como el Na, situación que se observa en las unidades de suelo Gleysol e Histosol.

#### **4.1. Prueba homogeneidad en las muestras de suelo**

En virtud de que no se cuenta con una muestra de referencia, certificada o interna, se procedió a evaluar la calidad de los resultados mediante la cuantificación de la reproducibilidad de los datos obtenidos y una prueba de homogeneidad de los suelos utilizados en la experimentación. La homogeneidad y precisión se puede verificar con la reproducibilidad al momento de efectuar las mediciones repetidas, para observar si en efecto, existe concordancia de los resultados obtenidos en las mediciones de hidrocarburos totales de petróleo (HTP), compuestos derivados del petróleo (CDP) y humedad, en cada uno de los suelos.

En los Cuadros 15, 16, 17, se presentan las mediciones repetidas de HTP y CDP para cada suelo; también se presentan los valores promedios, las desviaciones estándar, y los coeficientes de variación de cada uno de los suelos. Se observa, que los coeficientes de variación son inferiores al 5 % en todas las repeticiones; excepto en el suelo Antrosol, en el cual, las mediciones realizadas en la prueba de 8 h con hexano proporcionan un coeficiente de variación (CV), mayor a 5 %. Al respecto Serra y Aranceta (2006), mencionaron que una técnica analítica, tiene alta precisión, cuando su coeficiente de variación es inferior al 5 % y baja precisión cuando es superior a 10 %, siendo calificados como aceptables los valores intermedios. En el 99 % de los casos, los coeficientes de variación son bajos en las determinaciones de HTP y CDP; de acuerdo con este criterio se tiene alta precisión (Minkkinen, 1986). Adicionalmente se comprueba la homogeneidad en las determinaciones para cada uno de los suelos.

Cuadro 15. Precisión en las determinaciones de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP) en el suelo Antrosol.

Tratamiento (Tiempo -Solvente)	Resultados de las repeticiones de HTP y CDP (mg kg <sup>-1</sup> base seca)				Desviación estándar	Media	Coeficiente de variación (%)
	1	2	3	4			
4 horas-hexano	4190	3979	4294	3982	156.45	4111.33	3.81
4 horas-diclorometano	8755	8781	8682	Nd	51.17	8739.52	0.59
4 horas-metanol	4393	4602	4702	4700	145.16	4599.19	3.16
8 horas-hexano	4585	4801	5316	4902	305.54	4901.72	6.23
8 horas-diclorometano	9292	9194	9097	Nd	97.57	9194.55	1.06
8 horas-metanol	6331	5719	6028	5828	268.77	5976.48	4.50
12 horas-hexano	4950	4557	4583	5082	133.85	4920.10	2.72
12 horas-diclorometano	9402	9096	8997	Nd	211.16	9165.09	2.30
12 horas-metanol	6637	6638	7162	6601	42.74	6644.84	0.64
16 horas-hexano	4907	5306	4902	4993	141.20	5001.30	2.82
16 horas-diclorometano	9303	9305	9155	Nd	86.26	9254.24	0.93
16 horas-metanol	7290	6979	7239	7321	155.74	7207.00	2.16

Nd- No determinado

Cuadro 16. Precisión en las determinaciones de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP) en el suelo Gleysol.

Tratamiento (Tiempo -Solvente)	Resultados de las repeticiones de HTP y CDP (mg kg <sup>-1</sup> base seca)				Desviación estándar	Media	Coeficiente de variación (%)
	1	2	3	4			
4 horas-hexano	22708	21005	22486	21126	890.27	21831.42	4.08
4 horas-diclorometano	29599	28916	28467	Nd	570.34	28994.01	1.97
4 horas-metanol	39872	39163	38871	Nd	514.79	39302.14	1.31
8 horas-hexano	22362	21357	21220	23049	866.83	21997.05	3.94
8 horas-diclorometano	27684	28574	27232	Nd	226.15	28583.60	0.79
8 horas-metanol	45081	45727	44503	Nd	612.41	45104.02	1.36
12 horas-hexano	22258	22938	21578	22249	555.35	22256.08	2.50
12 horas-diclorometano	31187	29040	31175	Nd	1235.96	30467.49	4.06
12 horas-metanol	46546	48692	49561	Nd	1552.25	48266.37	3.22
16 horas-hexano	22806	22294	22392	Nd	271.43	22497.39	1.21
16 horas-diclorometano	31291	29652	31089	Nd	893.88	30677.27	2.91
16 horas-metanol	49166	49013	49105	Nd	76.99	49094.63	0.16

Nd- No determinado

Cuadro 17. Precisión en las determinaciones de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP) en el suelo Histosol.

Tratamiento (Tiempo -Solvente)	Resultados de las repeticiones de HTP y CDP (mg kg <sup>-1</sup> base seca)				Desviación estándar	Media	Coeficiente de variación (%)
	1	2	3	4			
4 horas-hexano	88487	84998	88326	85903	1747.28	86928.46	2.01
4 horas-diclorometano	107672	107821	108021	Nd	175.05	107838.08	0.16
4 horas-metanol	55464	54301	56040	56338	899.38	55535.73	1.62
8 horas-hexano	88970	89524	89032	88576	388.84	89025.58	0.44
8 horas-diclorometano	109710	110136	110241	Nd	281.14	110029.29	0.26
8 horas-metanol	68029	68466	68166	Nd	223.91	68220.34	0.33
12 horas-hexano	90812	90938	90963	90848	1230.34	89774.77	1.37
12 horas-diclorometano	109805	109860	109566	Nd	156.33	109743.26	0.14
12 horas-metanol	70115	71154	69766	69889	632.14	70231.12	0.90
16 horas-hexano	90812	90938	90963	90848	71.53	90890.24	0.08
16 horas-diclorometano	111061	110579	111404	Nd	414.45	111014.69	0.37
16 horas-metanol	75441	75107	74657	74758	356.62	74990.96	0.48

Nd- No determinado

En el Cuadro 18, se presentan las mediciones repetidas de humedad, para cada suelo; de igual forma son presentados los valores promedios, las desviaciones estándar, y los coeficientes de variación de cada uno de los suelos. Se observa, que los coeficientes de variación son inferiores al 5 % en todas las repeticiones; por lo que la mediciones efectuadas tienen alta precisión (Serra y Aranceta, 2006). En el Cuadro 18, los resultados de las repeticiones para la variable humedad muestran que existe homogeneidad en las determinaciones para cada unidad de suelo (Minkkinen, 1986). Los resultados presentados en el Cuadro 18, en conjunto con los Cuadros 15, 16 y 17, demuestran que las unidades de suelo presentan uniformidad de propiedades en todas sus partes, alcanzada durante la preparación de la muestra (NOM-021-RECNAT-2000).

Cuadro 18. Precisión en las determinaciones de humedad para las unidades de suelo Antrosol, Gleysol e Histosol.

Unidad de suelo	Resultados de las repeticiones de humedad (%)			Desviación estándar	Media	Coeficiente de variación (%)
	1	2	3			
Antrosol	2.2143	2.2460	2.1624	0.04	2.21	1.91
Gleysol	11.5101	11.4330	11.5376	0.0542	11.51	0.47
Histosol	13.7719	14.1356	14.1389	0.21	13.77	1.53

Los suelos Gleysol e Histosol presentan alta humedad, lo que significa que la circulación de oxígeno sea deficiente en estas unidades de suelo y hace predominante los procesos de reducción que pueden disminuir la movilidad de distintos elementos (Porta *et al.*, 2003). La humificación y mineralización de la materia orgánica se llevan a efecto lentamente a condiciones favorables de humedad, por lo que se acumulará en el perfil del suelo (Porta *et al.*, 2003 y Manahan, 2007). Los altos contenidos de MO presentados en el Cuadro 14 dan razón de la existencia de este hecho en las unidades de suelo Gleysol e Histosol.

Adicional a las pruebas anteriores se plantearon dos hipótesis bajo el supuesto de esfericidad:

$H_0$ = Las concentraciones de cada tratamiento están correlacionadas, es decir presentan esfericidad.

$H_1$ = Las concentraciones de cada tratamiento no están correlacionadas, y tienen varianzas comunes.

Mediante la prueba de Mauchly (1940), se aceptó la hipótesis  $H_0$ , de que los datos presentan esfericidad (Cuadro 19) ya que la probabilidad asociada para la aproximación de Chi-Cuadrada en ambas variables (HTP ó CDP y humedad), es mayor a 0.1, cuando debería ser menor para aceptar  $H_1$ . Al aceptar  $H_0$  se asume que las varianzas de los diferentes tratamientos son homogéneas (Herrera y Barreras, 2005), y los suelos presentan homogeneidad.

Cuadro 19. Prueba de Mauchly al evaluar la esfericidad en hidrocarburos totales de petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP) ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) así como humedad (%) con los estimadores Greenhouse-Geisser y Huynh-Feldt.

Variable	Mauchly	$X^2$	g.l	p-Valor	$\epsilon$	
					Greenhouse-Geisser	Huynh-Feldt
HTP y CDP	0.552	5.178	5	0.394	0.748	1.651
Humedad	0.419	0.869	2	0.647	0.632	1.22

g. l- grados de libertad ( $p \leq 0.1$ )

De acuerdo a Ruíz-Ochoa *et al.* (2006), el índice épsilon ( $\epsilon$ ) de Box (1954) constituye una medida del grado en que las varianzas y covarianzas del diseño se adaptan a dicho patrón de esfericidad, tomando un valor cercano a  $\epsilon=1$  en caso de cumplir la esfericidad y un valor mínimo,  $\epsilon=0.33$ , en caso contrario. En el Cuadro 19, se observa, que los valores de  $\epsilon$  cumplen con el supuesto de esfericidad.

Como  $H_1$  se rechazó, Herrera y Barreras (2005), mencionaron que cuando esto sucede, se usa una prueba aproximada, tal como la que provee el procedimiento

REPEATED de SAS, es decir conviene realizar un análisis de varianza univariado (Cuadro 20 y 21).

En el Cuadro 20, se observa que los coeficientes de correlación entre los valores de todas las repeticiones para la concentración de HTP y CDP fueron significativos ( $p < 0.0002$ ) indicando que existe una fuerte asociación entre todas las repeticiones, por lo cual, existe homogeneidad en el suelo.

Cuadro 20. Análisis de varianza de las medidas repetidas. Coeficientes de correlación parcial de las concentraciones de medidas repetidas.

Variable	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	Repetición 4
Repetición 1	1	-0.999*	0.999*	0.999*
Repetición 2		1	*0.997*	0.999*
Repetición 3			1	0.999*
Repetición 4				1

\* Correlación significativa al nivel de 0.0002 ( $p < 0.0002$ ).

En el Cuadro 21, se observa que los coeficientes de correlación entre los valores de las repeticiones de humedad para los tres suelos, fueron significativos ( $p < 0.05$ ) indicando que existe una fuerte asociación entre todas las repeticiones, por lo cual, tomando el criterio de las repeticiones de humedad, se deduce, de igual forma que existe homogeneidad en las tres unidades de suelo. Para hacer el análisis estadístico presentado en el Cuadro 21, se utilizaron las 3 medidas repetidas de humedad de los suelos Antrosol, Gleysol e Histosol en forma simultánea.

Cuadro 21. Análisis de varianza de las medidas repetidas. Coeficientes de correlación parcial de humedad en medidas repetidas.

Variable	Humedad 1	Humedad 2	Humedad 3
Repetición 1	1	-0.999*	0.999*
Repetición 2		1	0.997*
Repetición 3			1

\* Correlación significativa al nivel de 0.05 ( $p < 0.05$ ).

Por otra parte, se aplicó la prueba de efectos principales dentro de sujetos (Herrera y Barreras, 2005). Esta prueba examina las diferencias de las concentraciones de HTP y CDP obtenidas en las repeticiones de cada uno de los



tratamientos. La hipótesis nula es que la concentración de HTP ó CDP no cambia en las repeticiones de cada uno de los tratamientos, y la hipótesis alternativa es que la concentración de HTP y CDP varía dentro de las repeticiones para cada tratamiento. El programa estadístico SAS, muestra las pruebas presentadas en el Cuadro 22.

Cuadro 22. Criterio estadístico para la hipótesis de efecto en las repeticiones.

Estadístico	Valor	F Valor	Pr>F
Wilk' Lambda	0.815	0.6	<0.6307
Pillai's Trace	0.184	0.6	<0.6307
Hotelling-Lawley Trace	0.226	0.6	<0.6307
Roy's Greatest Root	0.226	0.6	<0.6307

Significancia al nivel de 0.0001 ( $p < 0.0001$ ) para todos los estadísticos.

De acuerdo con Herrera y Barreras (2005), la prueba Wilk's Lambda es la más comúnmente usada. Debido a que  $p < 0.0001$  no se cumple para ninguna de las pruebas estadísticas, se acepta la hipótesis nula ( $H_0$ ), se rechaza la hipótesis alternativa ( $H_1$ ), y se concluye que las concentraciones de HTP y CDP no cambian en las repeticiones de cada uno de los tratamientos. Con base en la información presentada, las determinaciones de humedad, así como contenido de HTP y CDP, garantizaron unidades experimentales (suelos Antrosol, Gleysol e Histosol) uniformes en sus propiedades físicas o químicas, por lo cual los suelos presentan homogeneidad.

Con las pruebas realizadas, se logró calificar la calidad analítica de los resultados emitidos, la homogeneidad de las muestras utilizadas en la experimentación, así como establecer una estrategia metodológica para evaluar los resultados cuando no se cuenta con estándares de referencia.

#### **4.2. Relación entre las propiedades del suelo con los contenidos de HTP y CDP**

Las relaciones que tienen todas las variables entre sí, se presentan por medio de la matriz de correlación de Pearson, tomando en cuenta que los análisis de HTP y CDP se hicieron con tres disolventes diferentes (Cuadros 23, 24 y 25).

Cuadro 23. Matriz de correlación de propiedades del suelo (Antrosol, Gleysol e Histosol) con el contenido de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP) en metanol para el horizonte superficial.

Variable	pH	CIC	MO	Arcilla	HTP y CDP
pH	1	-0.6425	-0.6998	0.09578	-0.47067
CIC		1	*0.9970	0.82430	*0.97851
MO			1	-0.77803	*0.95962
Arcilla				1	-0.92333
CDP					1

CIC= Capacidad de intercambio catiónico MO= Materia orgánica pH= Potencial de Hidrógeno.  
 CDP= Compuestos derivados del petróleo \* Correlación significativa al nivel de 0.05

Cuadro 24. Matriz de correlación de propiedades del suelo (Antrosol, Gleysol e Histosol) con el contenido de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP) en hexano para el horizonte superficial.

Variable	pH	CIC	MO	Arcilla	HTP y CDP
pH	1	-0.6425	-0.6998	0.09578	-0.8099
CIC		1	*0.9970	-0.82430	*0.9698
MO			1	-0.77803	*0.9857
Arcilla				1	-0.6614
CDP					1

CIC= Capacidad de intercambio catiónico MO= Materia orgánica pH= Potencial de Hidrógeno.  
 HTP= Hidrocarburos totales del petróleo \* Correlación significativa al nivel de 0.05

Cuadro 25. Matriz de correlación de propiedades del suelo (Antrosol, Gleysol e Histosol) con el contenido de hidrocarburos totales del petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP) en diclorometano para el horizonte superficial.

Variable	pH	CIC	MO	Arcilla	HTP y CDP
pH	1	-0.6425	-0.6998	0.09578	-0.8063
CIC		1	*0.9970	-0.82430	*0.9712
MO			1	-0.77803	*0.9867
Arcilla				1	0.6659
CDP					1

CIC= Capacidad de intercambio catiónico MO= Materia orgánica pH= Potencial de Hidrógeno.  
 HTP= Hidrocarburos totales del petróleo \* Correlación significativa al nivel de 0.05

La determinación de CDP (en metanol) (Cuadro 23) correlacionó positivamente con la MO, de acuerdo con el coeficiente de correlación de Pearson (0.95962) y el nivel de significancia (NCS) ( $NCS \leq 0.5$ ) (Cuadro 25) e indica que los compuestos derivados del petróleo, y solubles en metanol, están adsorbidos en la materia orgánica (Sadler y Connell 2003). También se observó asociación positiva de los CDP solubles en metanol y la CIC (0.97851 y  $NCS \leq 0.5$ ), por lo cual se asume, que a mayor sedes de intercambio en un suelo, se favorece la adsorción de los compuestos solubles en metanol. Esto se explica porque, de acuerdo con Wade (1993), los compuestos solubles en metanol son polares.

El contenido de HTP y CDP (en hexano), correlacionó positivamente con la MO de acuerdo con el coeficiente de correlación de Pearson (0.9857) y el nivel de significancia ( $NCS \leq 0.5$ ) (Cuadro 24). Ortiz y García (2003) mencionaron que los compuestos solubles en hexano, son principalmente hidrocarburos saturados e hidrocarburos aromáticos más benzotiofenos, nafténicos, parafinicos y algunas resinas, por lo cual la alta correlación de HTP y CDP (en hexano) con la MO es explicada muy posiblemente por la adsorción de estos en la materia orgánica (Sadler y Connell, 2003). También se observó asociación positiva de los HTP con la CIC (0.9698 y  $NCS \leq 0.5$ ), lo cual se asemeja con lo reportado por Zavala *et al.* (2003), quienes encontraron relación positiva entre la variable CIC y el contenido de hidrocarburos aromáticos y policíclicos. Esta asociación positiva, posiblemente se debe a una interrupción causada por los hidrocarburos entre las interacciones electrostáticas de los nutrientes catiónicos ( $Ca^{++}$ ,  $K^+$ ,  $NH_4^+$ ) con las partículas del suelo con carga negativa (Adams *et al.*, 2008).

El contenido de HTP (en diclorometano) correlacionó positivamente con la MO de acuerdo al coeficiente de correlación de Pearson 0.9867 y  $NCS \leq 0.5$  (Cuadro 25), indicando que los compuestos solubles en diclorometano son también retenidos en la materia orgánica, al igual que los solubles en metanol y hexano (Sadler y Connell, 2003). Pardo *et al.*, (2004) mencionan que los compuestos solubles en diclorometano son principalmente hidrocarburos policíclicos aromáticos. Por otra parte, en este suelo también se observa asociación positiva del contenido de HTP con la CIC

(0.9712); lo cual, contrasta con lo reportado por Martínez y López (2001), quienes no encontraron asociación entre ambas variables.

En ninguna de las determinaciones de HTP y CDP con los tres disolventes, se observó asociación significativa entre la arcilla y el pH del suelo, lo cual coincide con lo reportado por Zavala *et al.* (2003), pero contrario a lo reportado por Bohn *et al.* (1980), Gupta y Lin (1993), Gutiérrez y Zavala (2002), y Sadler y Connell (2003) para el caso de la arcilla. Este proceso, se atribuye a la humedad y precipitación presentes en el suelo, que como consecuencia disminuye la adsorción de los hidrocarburos en la arcilla y poros del suelo (Zavala *et al.*, 2003). De acuerdo con lo anterior, aunque se tengan grandes proporciones de arcilla y espacio poroso en un suelo, su capacidad adsorptiva de hidrocarburos, dependerá de la cantidad de agua presente, ya que cuando ocurre un derrame en el suelo, los hidrocarburos compiten pobremente con el agua en el espacio poroso (Cole, 1994). En los Cuadros 23 ,24 y 25, se observa una correlación positiva de la arcilla con el pH, la MO y la CIC del suelo, por lo cual la arcilla ejerce una gran influencia sobre las propiedades químicas y físicas del suelo (Porta *et al.*, 2003), más no en la adsorción de HTP ó CDP.

Los coeficientes de correlación presentados en los Cuadros 23, 24 y 25 indicaron, que los contenidos de HTP y CDP están altamente asociados con la CIC y con la MO.

### **4.3. Resultados del diseño experimental**

En el Cuadro 26 se presentan los parámetros del diseño experimental, así como las respuestas obtenidas. La respuesta considerada, fue el promedio de recuperaciones de los distintos HTP y CDP (compuestos derivados del petróleo).

Cuadro 26. Concentraciones de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP) en cada suelo.

		HTP y CDP (mg kg <sup>-1</sup> base seca)		
Tratamiento		(Antrosol)	(Gleysol)	(Histosol)
4 horas	Metanol	4599s	39302k	55536h
	Hexano	4111s	21831n	86929d
	Diclorometano	8739op	28994lm	107838b
8 horas	Metanol	5977rqs	45104j	68220g
	Hexano	4902rs	21997n	89026c
	Diclorometano	9194o	28583m	110029a
12 horas	Metanol	6645rq	48266i	70231f
	Hexano	4920rs	22256n	89775c
	Diclorometano	9165o	30467l	109744ab
16 horas	Metanol	7207pq	49095i	74991e
	Hexano	5002rs	22497n	90890c
	Diclorometano	9254o	30677l	111015a

Medias con distinta letra en sentido vertical son estadísticamente diferentes (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

El Cuadro 26 muestra que en cada tipo de suelo, se tiene asignación de letras diferentes para las respuestas de HTP y CDP, lo que se atribuye a una diferenciación estadística para cada unidad de suelo (suelos Antrosol, Gleysol e Histosol) efectuada por el estadístico SAS (SAS Institute, 2000) al evaluar el diseño experimental. En el Cuadro 26 se observa que las letras asignadas para los diferentes tratamientos a cada unidad de suelo, no se repiten para las otras unidades. La fracción de HTP se define como aquellos hidrocarburos del extracto orgánico total pertenecientes a la fracción aromática y la fracción saturada, como se estableció en el método EPA 3611b (1996g). Los CDP son considerados en esta investigación, como aquellos compuestos derivados del petróleo que tienen en su estructura química átomos diferentes al carbono e hidrógeno (Wade, 1993; Centeno *et al.*, 2004; Melo y Cuamatzi, 2007). Los tratamientos con metanol a diferentes tiempos, proporcionaron las mayores cuantificaciones de HTP y CDP en el suelo Gleysol, mientras que para

el suelo Histosol se obtuvieron las menores cuantificaciones de HTP y CDP extraídos con metanol, cuando se compararon con los otros dos extractantes.

Por otra parte, los tratamientos con hexano en los diferentes tiempos, proporcionaron las menores cuantificaciones de HTP y CDP para los suelos Antrosol y Gleysol, mientras que para el suelo Histosol se observaron cuantificaciones altas, cercanas a las obtenidas con diclorometano (Cuadro 26).

Los tratamientos con diclorometano mostraron las cuantificaciones más altas de HTP y CDP para los suelos Antrosol e Histosol. Sin embargo, en el suelo Gleysol, este extractante no proporcionó las mayores cuantificaciones (Cuadro 26).

El efecto de los disolventes de extracción fue más marcado en el suelo Histosol. Esto se explica, porque los Histosoles son formados de materiales orgánicos, con propiedades físicas y químicas que difieren fuertemente de los suelos minerales (FAO/ISRIC/SICS, 1999) (Cuadro 6). Al respecto, Núñez (2000) y Porta *et al.* (2003) mencionaron que un suelo Histosol presenta un contenido de materia orgánica superior al 20 % y está saturado con agua gran parte del año, mientras que un suelo Antrosol es considerado un suelo mineral. Por estas cualidades mencionadas, el efecto del disolvente en la extracción está en función de la fracción orgánica o mineral de un suelo.

Eweis *et al.* (1998) y Pardo *et al.* (2004) mencionaron que la tasa de biodegradación en el suelo, se duplica cuando los factores como la temperatura y humedad del suelo son adecuados, sobre todo en los hidrocarburos más fácilmente degradables, como son los hidrocarburos lineales. Además, Riser-Roberts (1998) mencionó que el pH del suelo afecta la movilidad, formas ionizables y solubilidad de contaminantes en el suelo, y que el pH óptimo para la degradación de contaminantes y residuos, está en el intervalo de 6.5 a 8. Al respecto Pardo *et al.* (2004) mencionaron que valores de pH extremos afectan de manera negativa a las comunidades microbianas inhibiendo su capacidad para degradar hidrocarburos. En el Cuadro 14, se observan valores de pH bajos, para los suelos Gleysol e Histosol comparados con el intervalo óptimo, y al hacer un diagnóstico exploratorio en las

concentraciones de hidrocarburos con los tres solventes, de acuerdo con el método EPA 4030(1996f), para cada suelo, las concentraciones de hidrocarburos y compuestos derivados del petróleo, son altas en los tres sitios (Cuadro 26), lo cual supone la existencia de compuestos que no presentan condiciones favorables para su degradación e indica que existe contaminación del suelo ya que se rebasan los niveles establecidos por Adams *et al.* (2008) y la Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SS-2003. Además se observó que las mayores concentraciones de HTP y CDP, se encontraron en los suelos con mayor contenido de materia orgánica (Gleysol e Histosol).

Al respecto, García-Falcón *et al.* (2004) así como Dreyer y Radke (2005) señalaron que las características de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) (baja solubilidad en agua y baja polaridad) los convierten en componentes con alta capacidad para ser adsorbidos por la materia orgánica de los suelos. Por otra parte, Riser-Roberts (1998) señaló a los HAP de 4 ó 5 anillos bencénicos como los más persistentes en el ambiente.

Para encontrar el tratamiento que proporcionó la máxima recuperación de HTP y CDP en cada suelo, fue utilizado el análisis de varianza (ANOVA) para estimar la significancia de los efectos principales y sus interacciones, tal y como se indica en el Cuadro 27. En este Cuadro la suma de cuadrados fue el factor utilizado para estimar las relaciones F, es decir las relaciones de los respectivos cuadrados medios de los efectos y el cuadrado medio del error. El valor P indica cual factor es estadísticamente significativo, y cuál no lo es.

El Cuadro 27 muestra que los factores A, B y C fueron todos significativos en el proceso de extracción en estudio. Es decir, existen diferencias significativas ( $P < 0.0001$ ) entre los niveles de disolvente, tiempo de extracción y suelo. Las interacciones de A x B (suelo-tiempo de extracción), A x C (suelo-disolvente), y B x C (tiempo-disolvente), también fueron estadísticamente significativas. La significancia de la interacción suelo-disolvente se reflejó también, en la información presentada para el Cuadro 26.

Cuadro 27. Análisis de varianza (ANOVA) para el diseño factorial.

Efecto	Suma de cuadrados (*10 <sup>10</sup> )	Grados de libertad	Cuadrado medio (*10 <sup>10</sup> )	F	P
Tratamientos	16.2348	23	0.7058	3944.40	<.0001
A	14.5470	2	7.2700	40644.70	<.0001
B	0.4645	3	0.1548	86.54	<.0001
C	0.3016	2	0.1508	842.82	<.0001
A * B	0.0224	6	0.0037	20.94	<.0001
A * C	1.2857	4	0.3214	1796.24	<.0001
B * C	0.0314	6	0.0052	29.32	<.0001
ET <sup>†</sup>	0.0180	101	0.0002		
SCT <sup>††</sup>	16.2529	124			

A=Unidad de suelo (Antrosol, Gleysol e Histosol) B=Tiempo de extracción C=Disolvente

<sup>†</sup>Error experimental y <sup>††</sup>Suma de cuadrados totales.

El efecto de los disolventes en cada uno de los suelos, además de verificarse en forma estadística, también se puede observar en las Figuras 10, 11 y 12. Aunque el efecto, de forma física es más notorio para el diclorometano, en el suelo Antrosol y Gleysol.

El suelo Antrosol presentó un derrame de petróleo crudo con antigüedad de más de 20 años, y aunque el aspecto físico del suelo antes de la extracción manifestaba estar ausente de contaminación, la capacidad extractora del diclorometano fue suficiente para disolver compuestos que no se apreciaron de igual forma en los extractos con hexano y metanol. Estos compuestos se atribuyen a compuestos aromáticos policíclicos de alto peso molecular y muy lenta degradación (Pardo *et al.*, 2004; IMO, 2005) que no son cuantificables en las determinaciones de la fracción pesada de hidrocarburos con hexano en los método EPA 9071B (1998) y la Norma Oficial Mexicana NMX-AA-134-scfi-2006 (derivada de la Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SS-2003).



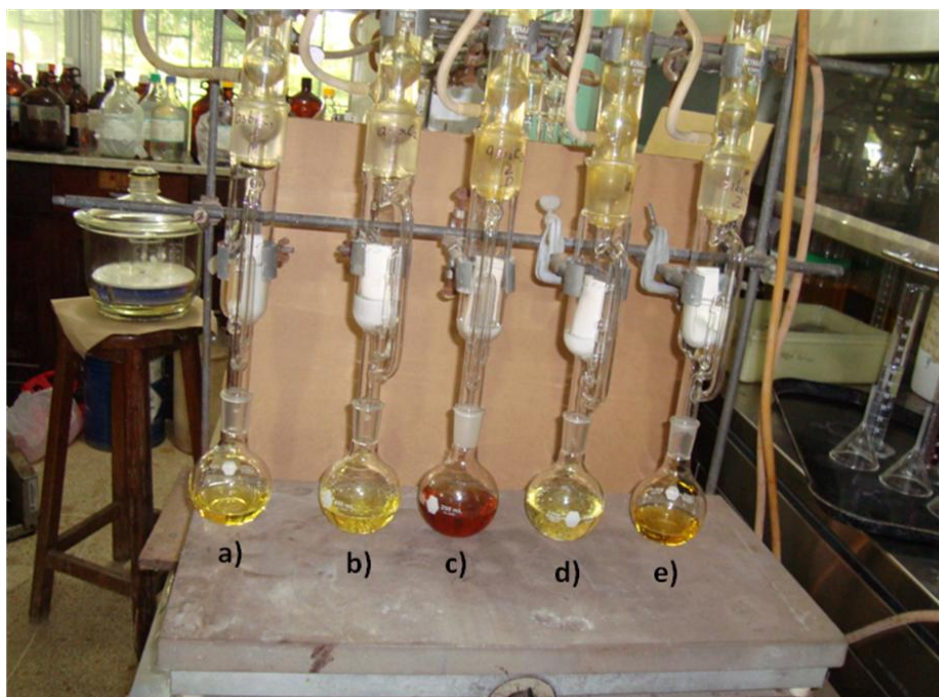


Figura 10. Aspecto de la extracción Soxhlet de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP) después de 6 horas con metanol (a y e), hexano (b y d) y diclorometano (c) en el suelo Antrosol.



Figura 11. Aspecto de la extracción de hidrocarburos totales del petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP) con los disolventes, hexano (a), diclorometano (b) y metanol (c) en un suelo Gleysol.

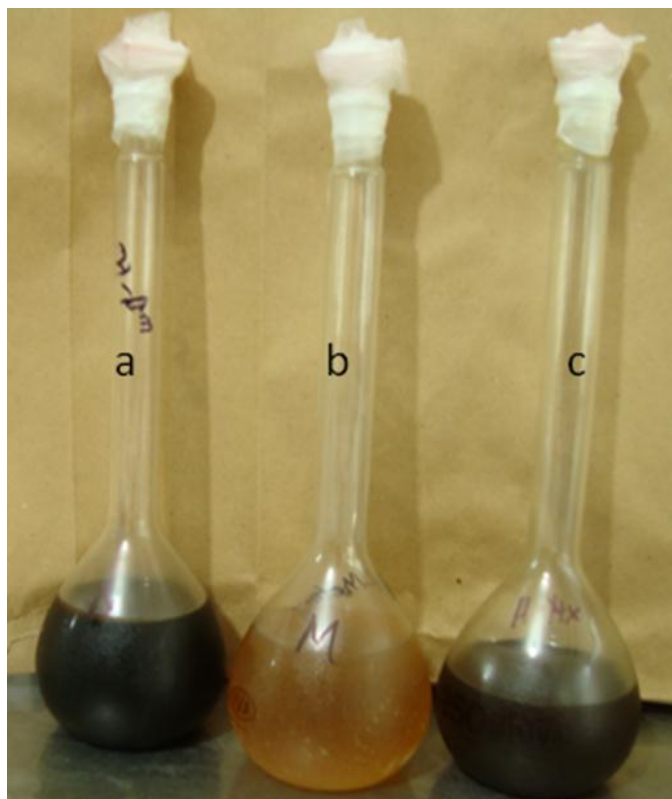


Figura 12. Aspecto de la capacidad extractora de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP) por efecto de los disolventes diclorometano (a), metanol (b) y hexano (c), en el suelo Histosol.

En la Figura 12, se observa que las coloraciones de extractos obtenidos con hexano y diclorometano son muy marcadas en el suelo Histosol, siendo imposible establecer una diferencia física en los efectos de estos disolventes. Gamboa *et al.* (2005) mencionaron que las fracciones de petróleo recuperadas con diclorometano corresponden a compuestos saturados, aromáticos y polares. En los extractos con diclorometano, es probable la existencia de estos compuestos.

Los extractos con metanol presentaron coloraciones más claras en los tres suelos al ser comparadas con los extractos obtenidos a partir de hexano y diclorometano. Aunque son escasos los trabajos en los que se emplea metanol para la extracción de HTP y CDP en suelos, Armenta *et al.* (2008) efectuaron la caracterización espectroscópica de estructuras orgánicas de ácidos húmicos extraídas con metanol en muestras de suelo, empleando un extractor Soxhlet, y

encontraron señales asociadas a alcoholes, fenoles, hidrocarburos alifáticos, ácidos carboxílicos, amidas, ésteres y una alta complejidad estructural que manifiesta la presencia de compuestos con un mayor carácter aromático. La coloración de extractos con metanol, se puede atribuir a la posible presencia de los compuestos antes mencionados, además de los HTP y CDP que pudieran estar presentes.

#### 4.4. Optimización de la etapa de extracción de HTP y CDP en función de las propiedades físicas y químicas de cada suelo

En la Figura 13, se observa la cuantificación de HTP y CDP obtenidas en un suelo Antrosol Distrito Hórtico, al emplear los diferentes extractantes (sitio 1). Se aprecia que las determinaciones gravimétricas de HTP y CDP obtenidas con diclorometano, son muy superiores a las obtenidas a partir de metanol y hexano a medida que se incrementa el tiempo de extracción.

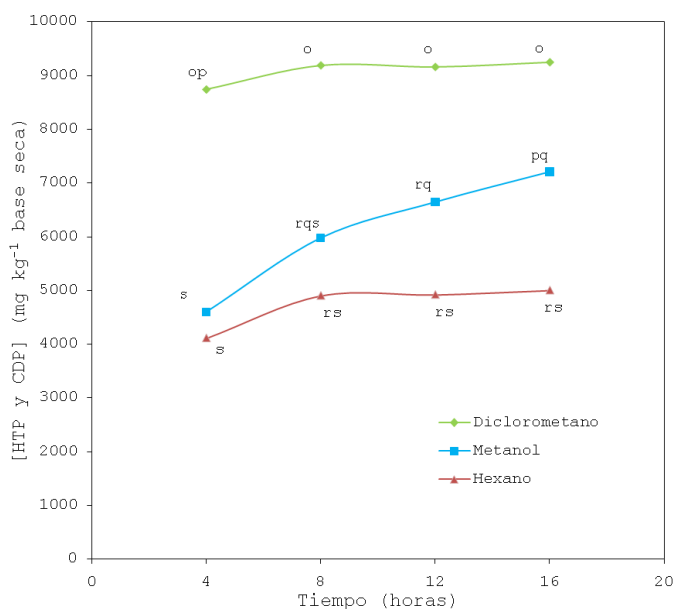


Figura 13. Cuantificación de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP), en un suelo Antrosol Distrito Hórtico. Letras distintas en cada curva son estadísticamente diferentes (Tukey,  $p=0.05$ ).

El petróleo es una mezcla compleja de compuestos polares (compuestos con azufre, nitrógeno, oxígeno o metales pesados en su estructura) y compuestos no polares (hidrocarburos) (Murgich *et al.*, 1999; Centeno *et al.*, 2004; Melo y Cuamatzi, 2007), por lo que al utilizar hexano como disolvente en las extracciones, son cuantificables algunos compuestos no polares, como los hidrocarburos lineales (Villalobos *et al.*, 2008). Por otra parte, el empleo de diclorometano, además de hidrocarburos lineales, permite la cuantificación de otros compuestos, entre ellos los hidrocarburos aromáticos policíclicos (Pardo *et al.*, 2004 y Gamboa *et al.*, 2005).

Este suelo presenta una coloración parda; a lo cual Porta *et al.* (2003) señalaron que esta coloración es propia de suelos bien aireados y con buen drenaje. Por otra parte, Gutiérrez y Zavala (2002) mencionaron que un buen drenaje favorece la volatilización, lixiviación u oxidación de los hidrocarburos. Sin embargo, las altas cuantificaciones de HTP y CDP, a partir de los tres disolventes muestran la posible existencia de compuestos aromáticos policíclicos que han sufrido una lenta degradación (IMO, 2005) a lo largo de casi 20 años, y a los que Adams *et al.* (2008) atribuyeron a hidrocarburos de medio a alto peso molecular, que además fueron poco solubles en hexano y evidenciaron la poca eficiencia de este extractante en un suelo de textura arenosa (sitio 1), al observar las menores cuantificaciones de HTP y CDP frente a los otros disolventes (Figura 13). Por otra parte, Adams *et al.* (2008) mencionaron que en suelos arenosos con presencia de antiguos derrames, se desarrolla una lámina delgada de hidrocarburos meteorizados que reduce la capacidad de humectación del suelo e incrementa significativamente la repelencia al agua a concentraciones de HTP en el rango de 2400 mg kg<sup>-1</sup> de suelo. Este rango de concentración e incluso superiores, son observadas en la Figura 13, para las mediciones de HTP y CDP efectuadas con los tres solventes, por lo que se justifica la presencia de baja humedad en el suelo Antrosol (Cuadro 18).

En el suelo Antrosol, el tiempo optimizado al utilizar hexano como solvente en el sistema de extracción Soxhlet es de 4 horas, si se quiere cuantificar la máxima cantidad de hidrocarburos presentes. La cuantificación de HTP en el suelo Antrosol no presentó diferencias estadísticas significativas cuando se realizó la extracción con

hexano en los cuatro tiempos propuestos. Lo anterior, coincide con la Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SS-2003 y el método EPA 9071B (1998), los cuales establecen un tiempo de extracción máximo de 4 horas, cuando se utiliza hexano.

Hernández-Valencia y Mager (2003) evaluaron en un ensayo en invernadero, la capacidad de fitorremediación de dos gramíneas, en un suelo contaminado de textura arenosa y baja capacidad de intercambio catiónico (CIC), por lo cual realizaron la determinación de hidrocarburos según el método gravimétrico EPA 3540C (1996a) utilizando como extractante diclorometano. Aunque en este trabajo no se menciona el tiempo de extracción empleado, el método EPA 3540C (1996a), argumenta que un disolvente en un sistema de extracción Soxhlet actuará en un período 16 a 24 horas. En la Figura 13, se observa que el tiempo optimizado al utilizar diclorometano en un suelo Antrosol de textura arenosa, bajo contenido de MO y baja CIC (Cuadro 14), fue de 4 horas. A mayor tiempo de extracción las cuantificaciones de HTP y CDP no fueron estadísticamente diferentes, con lo cual se reduce en 12 a 20 horas la extracción de HTP y CDP en suelos Antrosoles.

Los trabajos en donde se utilice metanol como solvente en un sistema de extracción Soxhlet para la determinación de hidrocarburos son escasos. Sin embargo, si se ha empleado en combinación con otro disolventes (Cuadro 8), y en forma independiente para la identificación y cuantificación de hidrocarburos aromáticos policíclicos empleando sistemas de extracción diferentes al Soxhlet (Van Shooten *et al.*, 1997; García-Gómez *et al.*, 2004 y Richardson *et al.*, 2004).

En el presente trabajo se ha optimizado un tiempo de extracción de 8 horas, al utilizar metanol como disolvente para un suelo Antrosol.

Al tratar el suelo con un disolvente de alta polaridad como el metanol, las cuantificaciones de HTP y CDP obtenidas se pueden atribuir a esa fracción polar que es removida en el procedimiento de limpieza con gel de sílice, sugerido en el método EPA 418.1 (1978 y 1986a), método EPA 9071B (1998) y la Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SS-2003). Por otra parte, Villalobos *et al.* (2008) mencionaron

que esta técnica de limpieza con gel de sílice, puede omitirse en las determinaciones gravimétricas, debido a que está no retiene la materia orgánica natural causante de interferencias en las mediciones de HTP y convenientemente, es aplicable a suelos con un contenido de carbono orgánico por encima del 5%. La omisión de limpieza, indicada por Villalobos *et al.* (2008) fue la opción utilizada en el presente trabajo.

Gutiérrez y Zavala (2002) al estudiar la relación de rasgos hidromórficos, mineralogía, y actividad biológica de suelos tropicales como variables de impacto en la acumulación de hidrocarburos, mencionan que los suelos arenosos presentan condiciones oxidantes generadas por los poros de conducción, que favorecen la degradación de hidrocarburos y hacen que las concentraciones sean bajas. Por esta razón la concentración de hidrocarburos en estos suelos, debería ser baja, situación que no se observa para las cuantificaciones altas de HTP y CDP en las extracciones con los tiempos optimizados (>1000 mg/kg), de acuerdo con el método EPA 4030(1996f), lo cual puede atribuirse a la antigüedad del derrame (alrededor de 20 años), la composición del crudo presente, y la posible presencia de compuestos con alto peso molecular (alquilaromáticos y alcanos ramificados) (Pardo *et al.*, 2004). Al respecto Adams *et al.* (2008) consideraron bajas las concentraciones de HTP, en un rango de 2500-4000 mg kg<sup>-1</sup> de suelo, y mencionan que para sitios muy meteorizados en el suelo superficial (derrames muy viejos) existe afectación de la fertilidad del suelo a este rango de concentración de HTP.

Gutiérrez y Zavala (2002) mencionaron que a concentraciones bajas de HTP en suelos arenosos, los contaminantes encuentran pocas superficies activas para ser retenidos y Porta *et al.* (2003) señalaron que la CIC determina la influencia de adsorción en el suelo, al permitir la retención de elementos contaminantes incorporados al suelo, así mismo interviene en el desarrollo de estructura y estabilidad de agregados. Aún cuando se obtuvo un valor de CIC bajo y una textura arenosa (Cuadro 14), para el suelo Antrosol, los contenidos de HTP y CDP estuvieron por encima de 4000 mg kg<sup>-1</sup>, a partir de los tres disolventes, debido a que en el medio tropical los hidrocarburos que podrían perdurar después de un derrame

corresponden a la fracción media ( $C_{11}$ - $C_{28}$ ) o la fracción pesada ( $>C_{28}$ ) (Adams *et al.*, 2008).

En la Figura 14, se pueden observar las cuantificaciones de HTP y compuestos derivados del petróleo, obtenidas a partir de los disolventes empleados en un suelo Histosol Rehico Sáprico (Eutríco Tóxico Sódico) (sitio 3). Para el caso de este suelo, las cuantificaciones mayores de HTP y compuestos derivados del petróleo, fueron obtenidas al usar diclorometano como disolvente de extracción, al igual que en el suelo Antrosol.

Deuel y Holliday (1997) mencionaron que el diclorometano ha mostrado ser un extractante efectivo de aceites y grasas en el suelo. El comportamiento de los disolventes metanol y hexano en este suelo, es diferente al comportamiento observado para el suelo Antrosol (Figura 13). En el suelo Histosol, se observa que la cuantificación de HTP con hexano es superior a la obtenida con metanol, mientras que en el suelo Antrosol, el comportamiento de los disolventes sucede en forma inversa.

Wade (1993) mencionó que el momento dipolar y la constante diélectrica, son indicadores de la polaridad de una molécula y que la disolución entre sustancias sólo se lleva a efecto cuando ambas tienen índices de polaridad semejantes. La mayor capacidad de disolución del hexano (índice de polaridad=0) en el suelo Histosol, contrario a lo que sucede en el suelo Antrosol, se atribuye a la composición del crudo presente (compuestos polares y no polares) y a la existencia de hidrocarburos de cadena lineal (Villalobos *et al.*, 2008) adsorbidos en la materia orgánica del suelo, que posiblemente no se encuentran en las mismas proporciones en el suelo Antrosol. Sin embargo en el suelo Antrosol, el metanol mostró una mayor capacidad de disolución de compuestos frente al hexano, compuestos que pueden tratarse de fenoles, alcoholes, ácidos carboxílicos y grupos alifáticos característicos de los asfaltenos (Fernández *et al.*, 2009).

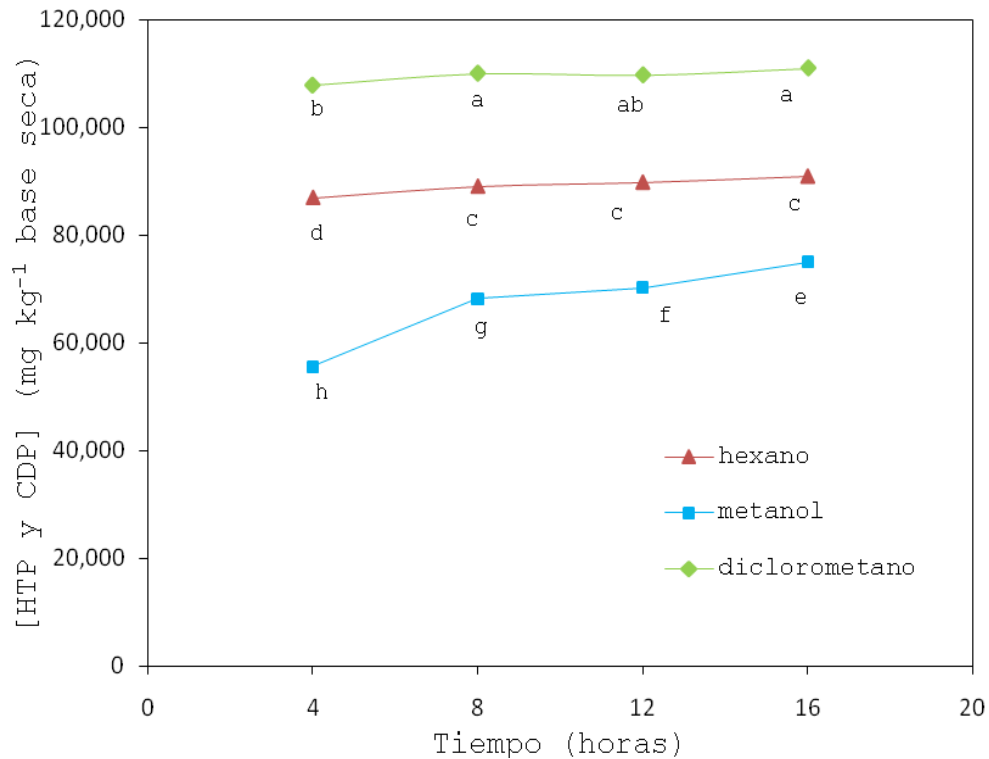


Figura 14. Cuantificación de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP), en un suelo Histosol Rehico Sáprico (Eutrico Tóxico Sódico). Letras distintas en cada curva son estadísticamente diferentes (Tukey,  $p=0.05$ ).

Por otra parte, Dragun (1998) mencionó que la magnitud de las fuerzas de Van der Waals y las interacciones dipolo-dipolo entre las moléculas, determinan la solubilidad de compuestos químicos en los disolventes orgánicos. Esto explica las altas cuantificaciones obtenidas con hexano y metanol en el suelo Histosol, que puede estar constituido por compuestos con grupos funcionales complejos (hidratos de carbono, celulosa, hemicelulosa, lignina, taninos, proteínas y macromoléculas lipídicas) que favorecen las interacciones dipolo-dipolo entre las moléculas (Porta *et al.*, 2003). Por lo tanto, no se descarta la posibilidad de que estos compuestos puedan estar presentes en las cuantificaciones, además de los compuestos derivados del petróleo; debido a las interacciones dipolo-dipolo entre los compuestos



derivados de la materia orgánica de este suelo (Cuadro 6). Al respecto, Manahan (2007) mencionó que la presencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos es una característica importante de la materia orgánica del suelo, y que los compuestos encontrados de forma natural en el suelo incluyen el fluoranteno, el pireno y el criseno. Estos autores también mencionaron, que el humus del suelo es de los componentes orgánicos más importantes y que la capacidad de retención de contaminantes en el suelo aumenta en un relación directa y positiva por la presencia de sustancias húmicas.

En consecuencia, los tiempos optimizados para la extracción de HTP y CDP en este suelo (Histosol) son mayores (Figura 14), comparados con los obtenidos en el suelo Antrosol (Figura 13). El tiempo optimizado al usar diclorometano o hexano como solvente de extracción es de 8 horas, las extracciones efectuadas a mayor tiempo no proporcionaron cuantificaciones estadísticamente diferentes. Para el caso de usar metanol como solvente de extracción, en la Figura 14 se observa que al incrementar el tiempo de extracción aumentan significativamente las cuantificaciones de HTP y CDP, por lo cual, en otra etapa de estas investigaciones para este suelo, deben estudiarse tratamientos que incrementen el tiempo de extracción con este solvente y permitan encontrar el tiempo óptimo de extracción. Skoog *et al.* (2008) mencionaron que el utilizar un extractor Soxhlet para el análisis de hidrocarburos, por lo regular requiere varias horas para alcanzar recuperaciones satisfactorias de analitos, y en ocasiones no se consiguen, situación que se presentó al utilizar metanol como extractante. Al respecto, Armenta *et al.* (2008) emplearon extracciones sucesivas con diferentes disolventes en un equipo Soxhlet para lograr la separación de compuestos orgánicos de los ácidos húmicos en suelos con alto contenido de MO; el metanol fue uno de los disolventes utilizados en forma pura, y en la mezcla metanol-diclorometano (1:1), con un tiempo de contacto de 130 y 133 horas respectivamente con la muestra de suelo al momento de la extracción. Estos prolongados tiempos de contacto disolvente-suelo, se deben posiblemente al tipo de matriz que se estudia, ya que el Histosol es de los suelos más ricos en materia orgánica y por tanto químicamente más complejos.

Para este suelo, el tiempo optimizado al utilizar hexano como solvente de extracción no coincide con el tiempo (4 horas) establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SS-2003 y el método EPA 9071B (1998), lo que puede atribuirse a un alto contenido de compuestos orgánicos que interactúan con el solvente en tiempos superiores a 4 horas de extracción. Además de acuerdo con el método EPA 4030(1996f), las cuantificaciones de HTP y CDP que se obtuvieron para los tiempos optimizados también son altas en este suelo (sitio 3).

En la Figura 15, se pueden observar las cuantificaciones de HTP y CDP, obtenidas a partir de los tres disolventes empleados en un suelo Gleysol Hístico (Dístrico, Húmico) (sitio 2). Se observaron que las cuantificaciones más altas se obtuvieron al utilizar metanol.

Al respecto, García-Gómez *et al.* (2004) efectuaron la cuantificación con diferentes disolventes, mediante cromatografía y análisis espectroscópicos, en extractos de un suelo contaminado con alto contenido de materia orgánica (15.29 %), reportando al fenantreno, naftaleno, fluoreno, fluoranteno, pireno, criseno, benzo(a)pireno y, dibenzo(a,h)antraceno como compuestos solubles en metanol, y concluyeron que conforme la polaridad de un solvente aumenta, se favorece la extracción de hidrocarburos aromáticos. Por lo anterior, las altas cuantificaciones en metanol, se puede atribuir a la presencia de compuestos aromáticos, los cuales posiblemente están presentes con cantidades similares en el petróleo crudo derramado sobre el suelo Antrosol, sin embargo este suelo tiene pocas superficies activas para retener los contaminantes (Gutiérrez y Zavala, 2002) y presenta una CIC baja (Cuadro 14), mientras que el suelo Gleysol presenta una mayor CIC y un alto contenido de MO que favorece la adsorción de hidrocarburos aromáticos policíclicos en la materia orgánica del suelo (García-Falcón *et al.* 2004; Dreyer y Radke (2005). Por esta razón no se extraen cantidades similares de HTP y CDP en los suelos Antrosol y Gleysol, aún cuando presentan derrames muy antiguos. Por todo lo anterior, es de esperarse que las mayores cuantificaciones fueran reportadas para el suelo Gleysol, como se observa en la Figura 15.

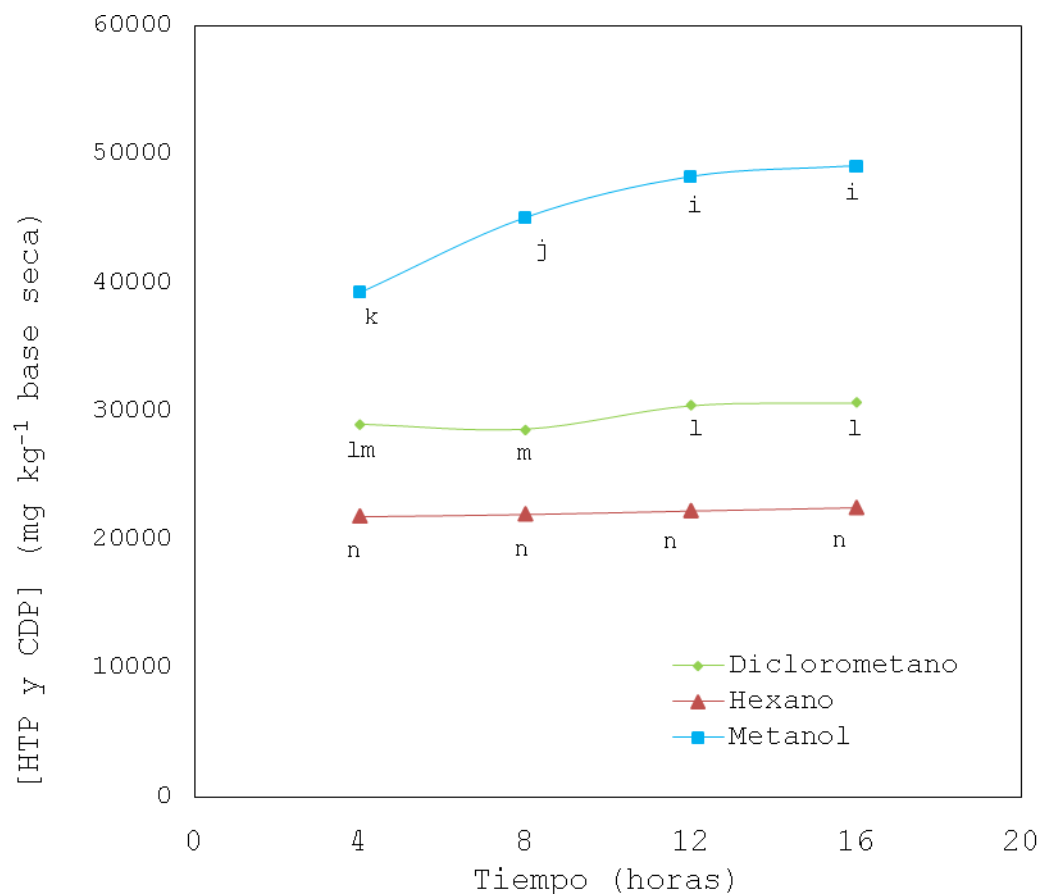


Figura 15. Cuantificación de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP), en un suelo Gleysol Hístico (Dístrico, Húmico). Letras distintas en cada curva son estadísticamente diferentes (Tukey,  $p=0.05$ ).

El tiempo optimizado en este trabajo, al utilizar diclorometano como disolvente fue de 4 horas. Al respecto Sánchez *et al.* (2004) estudiaron la descontaminación por petróleo de un suelo Gleysol histi-orthiéutrico (abruptico) usando pasto alemán (*Echinochloa polystachya*), asociado con poblaciones autóctonas de bacterias y hongos rizosféricos, y efectuaron la extracción de HTP con diclorometano en equipo Soxhlet durante 12 horas. Se concluye entonces, que para este suelo y este disolvente el tiempo de extracción se reduce en 8 horas.

Por otra parte en este suelo, el tiempo que se optimizó al usar hexano como disolvente de extracción, fue de 4 horas, el cuál coincide con el tiempo de 4 horas, propuesto en la Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SS-2003 y el método EPA 9071B (1998). El efecto de los disolventes en este suelo, fue diferente al presentado en la Figura 13 y 14, lo cual se podría explicar por la composición y la concentración del crudo presente. La solubilidad del metanol frente a los otros dos extractantes denota una mayor existencia de compuestos medianamente polares comparada con la existencia de hidrocarburos lineales comúnmente solubles en hexano (Ortiz y García, 2003; Pardo *et al.*, 2004).

Las cuantificaciones de HTP y CDP que se obtuvieron para los tiempos optimizados fueron altas en el suelo del sitio 2, de acuerdo con el método EPA 4030 (1996f), y se observó que las extracciones de HTP y CDP aumentan conforme se incrementa la polaridad del solvente, lo cual coincide con lo señalado por García-Gómez *et al.* (2004). El efecto del disolvente y la necesidad de optimizar tiempos de extracción en las unidades de suelo, se demostró con la significancia de los niveles (Cuadro 29), pero se confirmó, con las figuras presentadas para los tiempos optimizados de extracciones en cada uno de los suelos.

## 5. CONCLUSIONES

Para el análisis de hidrocarburos correspondientes a la fracción pesada en muestras de suelo, el tiempo de extracción propuesto en la Norma Oficial Mexicana y en el método EPA 9071B, fue optimizado en función de las características físicas y químicas del suelo. Especialmente en aquellos suelos que presentan altos contenidos de materia orgánica y los que presentan baja capacidad de intercambio catiónico. Con el presente trabajo se concluye que:

- Para la extracción Soxhlet con hexano, son suficientes 4 horas para los suelos Antrosol y Gleysol, mientras que para el suelo Histosol son necesarias 8 horas.
- Cuando en la extracción Soxhlet sea utilizado metanol serán suficientes 8 y 12 horas para un suelo Antrosol y Gleysol, respectivamente, mientras que para el Histosol son necesarias más de 16 horas.
- La extracción Soxhlet con diclorometano se debe realizar, durante 4 horas para el suelo Antrosol y Gleysol, y durante 8 horas para el suelo Histosol.
- La extracción Soxhlet, es uno de los recursos más empleados en los análisis de HTP y CDP. Sin embargo, está condicionada la elección del solvente y el tiempo de extracción, dependiendo del tipo de suelo.

En la presente investigación, la optimización del tiempo de extracción para tres tipos de suelo y tres disolventes; permitirá invertir menor tiempo en los análisis cuando se tienen que procesar grandes lotes de muestras.

Adicionalmente, se estableció una metodología para evaluar la reproducibilidad de las mediciones realizadas cuando no se cuenta con materiales de referencia certificados; así también se realizaron pruebas estadísticas de reproducibilidad de las mediciones. Lo anterior, es aplicable en investigaciones en las cuales se desarrollan nuevas metodologías analíticas para cuantificar fracciones o contenidos totales de un analito determinado.

## 6. LITERATURA CITADA

- Adams, R. H., J. Zavala-Cruz, F. Morales-García. 2008. Hidrocarburos en suelos del trópico: Afectación a la fertilidad y su recuperación. *Interciencia*. 33:483-489.
- Al-Sarawi, M. y M. S. Massoud. 1998. Preliminary assessment oil contamination levels in soils contaminated with oil lakes in the greater Burgan oil fields, Kuwait. *Water, Air, Soil Pollution*. 106:493-504.
- Armenta, H., L. López, S. Lo. M. 2008. Caracterización espectroscópica de estructuras orgánicas extraídas de ácidos húmicos. *Venesuelos*. 16:6-13.
- ASTM (American Society for Testing Materials). 1995. D5831-96. Standard test method for screening fuels in soils. West Conshohocken, PA. 1-9 p.
- ASTM (American Society for Testing Materials). 2004. D7066-04. Standard test method for dimer/trimer of chlorotrifluoroethylene (S-316) recoverable oil and grease and nonpolar material by infrared determination. Philadelphia, PA. 1-9 p.
- Bohn, H. L., Prosofsky, G. K. and Eckhardt, J. G. 1980. Hydrocarbons adsorption by soils as the stationary phase of gas-solid chromatography. *Journal Environ. Qual.* 9:563-565.
- Borges R., B. C., y S. Acevedo. 2007. Caracterización de distintas fracciones aisladas del crudo extrapesado Carabobo. *Revista latinoamericana de metalurgia y materiales*. 27:83-94.
- Botello, A. V. 2005. Características, composición y propiedades fisicoquímicas del petróleo. *In: Botello, A. V., J. Rendón-von O., G. Gold-Bouchot y, C. Agraz-Hernández (eds.). Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias*. 2a. ed., Universidad Autónoma de Campeche, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Nacional de Ecología. 261-268 p.
- Box, G. 1954. Some theorems on quadratic forms applied in the study of analysis of variance problems: II effects of inequality of variance and of correlation of errors in two-way classification. *Annals of mathematical statistics*, 25: 484-498.
- Camel, V. 2001. Recent extraction techniques for solid-matrices-supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave-assisted extraction: their potential and pitfalls. *The Analyst*. 126:1182-1193.

- Chaineau, C. H., J. L. Morel y J. Oudot. 1997. Phytotoxicity and plant uptake of fuel oil hydrocarbons. *J. Environ. Qual.* 26:1470-1483.
- Chang, R. 1999. *Química*. 6ta. ed. Mc Graw Hill, México, D. F. 995 p.
- Centeno G., F. Trejo, J. Ancheyta, y A. Carlos. 2004. Precipitación de asfaltenos del crudo Maya en un sistema a presión. *Revista de la Sociedad Química de México.* 48: 179-188.
- Corona R., L., y R. Iturbe A. 2005. Atenuación natural en suelos contaminados con hidrocarburos. *Ingeniería: Investigación y Tecnología.* 6: 119-126.
- Cole, G. M. 1994. *Assessment and remediation of petroleum contaminated sites.* Lewis publishers, Florida, USA. 260 p.
- Deuel, L. y, G. H. Holliday. 1997. *Soil remediation for the petroleum extraction industry.* Second edition, Penn Well Publishing Co., Tulsa Oklahoma, USA. 242 p.
- Diario Oficial de la Federación. 2002. NOM-021-RECNAT-2000. Norma Oficial Mexicana, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. Diario Oficial de la Federación martes 31 de diciembre del 2002. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales. México, D. F., México. 85 p.
- Diario Oficial de la Federación. 2005. NOM-138-SEMARNAT/SS-2003. Norma Oficial Mexicana, que establece los límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y remediación. Diario Oficial de la Federación 29 de marzo del 2005. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales. México, D. F., México. 20 p.
- Diario Oficial de la Federación. 2006. NMX-AA-134-SCFI-2006. Norma Oficial Mexicana para suelos-hidrocarburos fracción pesada por extracción y gravimetría-método de prueba. Diario Oficial de la Federación martes 12 de septiembre de 2006. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales. México, D. F., México. 27 p.
- Donna J., V., W. Menzie-Cura, H. Weisman, and J. B. Gustafson. 1999. Human health risk-based evaluation of petroleum release sites: implementing the working group approach (vol. 5). Prepared by total petroleum hydrocarbon criteria working group series. Association for Environmental Health and Sciences (AEHS) (comp.), Amherst Scientific (Ed.), Amherst, Massachusetts United States. 102 p.

- Dragun, J. 1998. The soil chemistry of hazardous materials. 2nd. ed. Amherst Scientific Publishers, Amherst, Massachusetts. 861 p.
- Dreyer, A. and, M. Radke. 2005. Evaluation and optimization of extraction and clean-up methods for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in peat samples. *Journal of Environmental and Analytical Chemistry*. 85: 423-432.
- Dupont D., H. y G. G. Gokel. 2007. *Química orgánica experimental*. 1ra. ed., Reverté, España. 592 p.
- Duran R., M. y N. Contreras C. 2006. Alternativa de tratamiento para tierras fuller contaminadas con aceite dieléctrico. *Scientia et Technica*. 32:419-424.
- EPA (Environmental Protection Agency). 1978. Method 418.1. Test method for evaluating total recoverable petroleum hydrocarbon (spectrophotometric, infrared). United States Government Printing Office, Washington, D. C. 9 p.
- EPA (Environmental Protection Agency). 1986a. Method 418.1 mod. Petroleum hydrocarbon, total recoverable. Spectrophotometric infrared. United States Environmental Protection Agency. Washington, DC: Government Printing Office. 8 p.
- EPA (Environmental Protection Agency). 1986b. Method 8015B. Total petroleum hydrocarbons (TPH) analysis gasoline and diesel fuel. United States Environmental Protection Agency, SW-846 Manual. Washington, DC: Government Printing Office.
- EPA (Environmental Protection Agency). 1994. Method 9071A. Oil and grease extraction method for sludge and sediment samples. *Methods for chemical analysis of water and wastes*. Cincinnati, OH, United States Environmental Protection Agency. 1-15 p.
- EPA (Environmental Protection Agency). 1996. Method 8440. Total recoverable petroleum hydrocarbons by infrared spectrophotometry. United States Environmental Protection Agency. 1-8 p.
- EPA (Environmental Protection Agency). 1996a. Method 3540C. Soxhlet extraction. United States Environmental Protection Agency, SW-846 Manual. Washington, DC: Government Printing Office. 1-8 p.



- EPA (Environmental Protection Agency). 1996b. Method 8275A. Semivolatile organic compounds (PAHs y PCBs) in soils/sludges and solid wastes using thermal extraction/gas chromatography/mass spectrometry (TE/GC/MS). United States Environmental Protection Agency, SW-846 Manual. Washington, DC: Government Printing Office. 1-23 p.
- EPA (Environmental Protection Agency). 1996c. Method 3560. Supercritical fluid extraction of total recoverable petroleum hydrocarbons. United States Environmental Protection Agency, SW-846 Manual. Washington, DC: Government Printing Office. pp: 1-8.
- EPA (Environmental Protection Agency). 1996d. Method 3561. Supercritical fluid extraction of polynuclear aromatic hydrocarbons. United States Environmental Protection Agency, SW-846 Manual. Washington, DC: Government Printing Office. 1-14 p.
- EPA (Environmental Protection Agency). 1996e. Method 3500. Organic extraction and sample preparation. United States Environmental Protection Agency. Washington, DC: Government Printing Office. 1-15 p.
- EPA (Environmental Protection Agency). 1996f. Method 4030. Soil screening for petroleum hydrocarbons by Immunoassay. United States Environmental Protection Agency, SW-846 Manual. Washington, DC: Government Printing Office. 1-17 p.
- EPA (Environmental Protection Agency). 1996g. Method 3611b. Alumina column cleanup and separation of petroleum wastes. United States Environmental Protection Agency. Washington, DC: Government Printing Office. 1-7 p.
- EPA (Environmental Protection Agency). 1998. Method 9071B. n-Hexane extractable material (HEM) for sludge, sediment, and solid samples. United States Environmental Protection Agency, SW-846 Manual. Washington, DC: Government Printing Office. 1-13 p.
- EPA (Environmental Protection Agency). 2007. Method 3550C. Ultrasonic extraction. United States Environmental Protection Agency, SW-846 Manual. Washington, DC: Government Printing Office. 1-17 p.
- EPA (Environmental Protection Agency). 2009. Questions and answers. Oil and grease. Determination of oil and grease and total petroleum hydrocarbons (TPH) in wastewater. U. S. Government Printing Office, Washington, DC.

- Eweis, J. B., S. J. Ergas, D. P. Y. Chang, y E. D. Shroeder. 1998. Bioremediation principles. Series in water resources and environmental engineering. Mc Graw Hill. New York, 296 p.
- FAO/ISRIC/SICS.1999. Base referencial mundial del recurso suelo. Roma, Italia. 89 p.
- Fernández, C., M. Silva, J. C. Pereira, A. Mallia, M. J. Llobregat, V. Altomare. 2006. Biodegradabilidad de las fracciones de resinas y asfaltenos por pseudomonas en suelo impactado con crudo mediano. Ingeniería UC. 13:7-13.
- Fernández, N., A. Cesar, M. González, y T. A. del Valls. 2006a. Nivel de contaminación en sedimentos afectados por el vertido del prestige y sus efectos sobre el desarrollo embrionario del erizo de mar. Ciencias Marinas. 32:421-427.
- Fernández L., L. C., N. G. Rojas A., T. G. Roldán C., M. E. Ramírez I., H. G. Zegarra M., R. Hernández U., R. J. Reyes A., D. Hernández F., y J. M. Arce O. 2006b. Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados. Instituto Mexicano del Petróleo. México, D. F. 180 p.
- Fernández, C., H. Labrador, M. Llobregat, L. Méndez, H. Bastidas y B. Sien. 2009. Efectos del estiércol equino y del humus líquido en el proceso de biodegradación de un suelo contaminado con petróleo. Rev. Fac. Ing. UCV. 24:47-58.
- Fine, P., E. R. Graber, y B. Yaron. 1997. Soil interactions with petroleum hydrocarbons: abiotic processes. Soil Technology 10: 133-153.
- Freedman, B. 1989. Environmental Ecology: the impacts of pollution and other stresses on ecosystem structure and function. Academic Press, Inc. San Diego California. USA. 424 p.
- Gamboa, A., R. Fernández, F. Galarraga. 2005. Determinación de compuestos saturados en partículas sedimentadas en la ciudad de Valencia, Venezuela. Rev. Fac. Ing. Universidad Central de Venezuela. 20:99-104.
- García-Falcón, M. S., C. Perez-Lamela, and J. Simal-Gandara. 2004. Strategies for the extraction of free and bound polycyclic aromatic hydrocarbons in run-off waters rich in organic matter. Analytical Chemical Acta. 508:177-183.

- García-Gómez, R. S., T. Pandiyan, V. Aguilar-Iris, M. Ruíz-Figueroa, C. Durán-de-Bazúa. 2004. Identificación de hidrocarburos aromáticos policíclicos en suelos usando métodos espectroscópicos. *Tecnología: Ciencia Educativa (IMIQ)*. 19:69-82 p.
- García-Falcón, M. S., B. Cancho-Grande, and J. Simal-Gándara. 2005. Minimal clean-up and rapid determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in instant coffee. *Food Chemistry*. 90:643-647.
- García-López E., J. Zavala C. y D. J. Palma-López. 2006. Caracterización de las comunidades vegetales en un área afectada por derrames de hidrocarburos. *Terra*. 24: 17-26.
- George, S. 1994. Bias associated with the use of EPA Method 418.1 for the determination of total petroleum hydrocarbons in soils. *In: Calabrese, E. J., P. T. Kosteki, M. Bonazountas, (eds.). Hydrocarbon contaminated soils and ground water, Vol. 4, chapter 8. Amherst Scientific Publishers, Amherst, MA. 115-142 p.*
- Gómez, O. D. 2004. *Recuperación de espacios degradados*. 1a ed., Mundi-Prensa, Madrid, España, 584 pp.
- Gooding G., N. 2009. *Lubricación industrial*. 1a. ed., Universidad Nacional de Colombia, Colombia, 316 p.
- Guerrero P., A. 2006. Estudio de la contaminación en suelos por petróleo crudo mediante generación de espacio de cabeza-espectrometría de masas. Tesis de Doctorado. Universidad de Salamanca. Salamanca, España.
- Gupta, G. and Y. J. Lin. 1993. Toxicity of gasoline aquos-leachate through sand-clay columns. *J. Environ. Sci. Health*. A28(4):933-940.
- Gutiérrez C., M. C. y J. Zavala C. 2002. Rasgos hidromórficos de suelos tropicales contaminados con hidrocarburos. *Terra Latinoamericana*. 20:101-111.
- Gustafson, J., J. Griffith T., D. Orem. 1997. Selection of representative TPH fractions based on fate and transport considerations. *In: Total petroleum hydrocarbon, criteria working group series, Vol. 3. Association of Environmental Health and Sciences. Amherst, MA, E. U. 102 p.*

- Harris, B. C., J. S. Bonner, P. Dimitriou-Christidis, T. J. McDonald, C. Sterlin M., B. Fuller C. y L. Autenrieth R. 2002. Nutrient effects on the biodegradation rates of chemically-dispersed crude oil. *In: Proceedings of the 25th arctic and marine oil spill conference, (AMOP) Technical Seminar. Environment, Ottawa, Canadá. 877-893 p.*
- Herrera H., J. G. y A. Barreras S. 2005. Análisis estadístico de experimentos pecuarios. Manual de procedimientos. 2a. ed. Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo, estado de México.
- Hernández-Valencia, I., y D. Mager. 2003. Uso de *panicum máximum* y *brachiara brizantha* para fitorremediar suelos contaminados con un crudo de petróleo liviano. *Bioagro. 15:145-155.*
- IMO (Organización Marítima Internacional). 2005. Manual sobre la contaminación ocasionada por hidrocarburos. Parte IV. Lucha contra los derrames de hidrocarburos. 2da. edición. IMO Publishing. 236 p.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática). 2001. Síntesis de información geográfica del estado de Tabasco. 1a. ed. Aguascalientes, Ags. 89 p. Anexo cartográfico.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática). 2004. Base de datos del Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática.
- Infante G., S. 1990. Métodos estadísticos: un enfoque interdisciplinario. 2a ed., Trillas, México D. F. 643 p.
- Jiménez C., B. 2002. La contaminación ambiental en México. 2a ed. Limusa, México, D.F. 925 p.
- Jury W., A. 1986. Chemical movement through soil. *In: Hern, S. C., Melancon, S. M. (eds.). Vadose zone modeling of organic pollutants. Lewis publishers, Chelsea, MI, USA., 300 p.*
- Kerr J., M., J. McMillen S., I. Magaw R., R. Melton H. y Naughton G. 2001. Risk-based soil screening levels for crude oil: The role of polyaromatic hydrocarbons. The petroleum environmental research forum, USA.
- Lide R., D. 1999. Handbook of chemistry and physics. 80th ed. Ed. CRC Press, Boca Raton, Florida, United States of America. 2624 p.

- Lu, M., Z. Zhang, S. Sun, X. Wei, Q. Wang and Y. Su. 2009. The Use of goosegrass (*eleusine indica*) to remediate soil contaminated with petroleum. *Water, Air, and Soil Pollution An International Journal of Environmental Pollution*. Septiembre. <http://www.springerlink.com/content/229444wv237q2145/>. 9 p. Consulta: 13 de noviembre del 2009.
- Lynn, T. B., A. C. Lynn, y D. Balog C. 2002. Analysis of site program TPH field trial data for SW-846 method 9074-The petroFLAG hydrocarbon analyzer. *In: 10 th International on-site 2002 conference, January 22-25*. Dexsil Corporation (ed.). San Diego, CA. 1-15 p.
- LLuch U., J. Tecnología y margen de refino del petróleo. 2008. 1a. ed. Díaz Santos, España. 441 p.
- Manahan S., E. 2007. Introducción a la química ambiental. 3a. ed. Reverté, España. 303-335 p.
- Martínez M., V. E. y, F. López S. 2001. Efecto de hidrocarburos en las propiedades físicas y químicas de suelo arcilloso. *Terra*. 19:9-17.
- Marín A., A. 2006. Caracterización, clasificación y cartografía de suelos citrícolas en Tabasco. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados Campus Tabasco. 116 p.
- Mauchly, J. 1940. Significance test of sphericity of a normal *n*variate distribution. *Annals of Mathematical Statistics*. 29:204-209.
- Maxwell, S. y H. Delaney. 2004. *Designing experiments and analyzing data: a model comparison perspective*. 2a. Edition, Mahwah, N. J. 1104 p.
- Melo R., V. y, O. Cuamatzi T. 2007. *Bioquímica de los procesos metabólicos*. 2a. ed. Reverté, México. 406 p.
- Minkkinen, P. 1986. Monitoring the precision of routine analyses by using duplicate determinations. *Analytica Chimica Acta*. 191:369-376.
- Moreno, W. 1993. *Aplicaciones al diseño y análisis de experimentos*. Ed. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga. 330 p.

- Murgich, J., J. Abanero A. y O. Strausz P. 1999. Molecular recognition in aggregates formed by asphaltene and resin molecules from the athabasca oil sand. *Energy & Fuel*. 13:278-286.
- Nadim, F., S. Liu, G. E. Hoag, J. Chen, R. J. Carley y P. Zack. 2002. A comparison of spectrophotometric and gas chromatographic measurements of heavy petroleum products in soil samples. *Water, Air, and Soil Pollution*. 134: 97–109.
- NEPC (National Environment Protection). 1999. Guideline on laboratory analysis of potentially contaminated soils. (Assessment of Site Contamination) Measure 1999, NEPC.
- Nudelman, N. S., S. M. Ríos, and O. Katusich. 2000. Interactions between crude oil and patagonian soil as function of the soil clay-water content. *Environmental Technology*. 21:437-445.
- Núñez S., J. 2000. Fundamentos de edafología. 3a. ed. EUNED, Costa Rica. 168 p.
- Onken, B. M. and S. J. Traina. 1997. The sorption of pyrene and anthracene to humic acid-mineral complexes: effect of fractional organic carbon content. *Journal of Environmental Quality*. 26:126-132.
- Ortíz B., O., I. Ize L. y A. Gavilán G. 2003. La restauración de suelos contaminados con hidrocarburos en México. Instituto Nacional de Ecología (INE). <http://www2.ine.gob.mx/publicaciones/gacetitas/422/restauracion.html>. (Fecha de consulta: abril 5 del 2010).
- Ortiz, J. E., y M. J. García M. 2003. Técnicas analíticas: identificación de familias de compuestos. *Industria y minería*. 351: 31-40.
- Palma-López, D. J., J. Zavala C., J. J. Obrador O., E. García L., C. F. Ortiz, G., W. Camacho Ch, R. Meseguer E., A. Sol S., J. F. Juárez L., J. Jasso M., A. Guerrero P., R. Ramos R. y A. Triano S. 1999. Diagnóstico de los recursos naturales, niveles de contaminación y alternativas para el desarrollo del área de influencia de los campos petroleros Cinco Presidentes y la Venta Norte. Campus Tabasco, Colegio de Postgraduados, Gobierno del Estado de Tabasco. H. Cárdenas, Tabasco, México. 353 p.
- Palma-López, D. J. y J. Cisneros D. 2000. Plan de uso sustentable de los suelos de Tabasco. Volúmen I. Fundación Produce Tabasco A. C. Villahermosa, Tabasco, México. 115 p.

- Palma-López, D. J. Cisneros D., E. Moreno C. y J. A. Rincón-Ramírez. 2007. Suelos de Tabasco: su uso y manejo sustentable. Instituto del Trópico Húmedo, Colegio de Postgraduados y Fundación Produce Tabasco A.C. Villahermosa, Tabasco, México, 195 p.
- Pardo C., J. L., M. C. Perdomo R., y J. L. Benavides L. M. 2004. Efecto de la adición de fertilizantes inorgánicos compuestos en la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados con petróleo. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. 2:40-49.
- Pawlak, Z., T. Rauckyte, A. Oloyede. 2008. Oil, grease and used petroleum oil management and environmental economic issues. Journal of achievements in materials and manufacturing engineering. 26:11-17.
- PEMEX (Petróleos Mexicanos). 2005. Exploración y Producción. Gerencia de Planeación y Evaluación Región Sur; Superintendencia de Administración de la Información y Difusión.
- PEMEX (Petróleos Mexicanos). 2007. Las reservas de hidrocarburos de México 2007, Pemex Exploración y Producción.
- Pineda-Flores, G., V. Boll-Argüello, A. M. Mesta-Howard. 2002. Biodegradación de asfaltenos por un consorcio microbiano aislado de petróleo crudo "Maya". Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 18:67-73.
- Ponce-Vélez, G., y Botello, A. V. 2005. Niveles de Hidrocarburos en el Golfo de México. In: Botello, A. V., J. Rendón-von O., G. Gold-Bouchot y, C. Agraz-Hernández (eds.). Contaminación e Impacto ambiental: Diagnóstico y tendencias. 2a. ed. Universidad Autónoma de Campeche, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Nacional de Ecología. 261-268 p.
- Porta C., J., M. López-Acevedo R., C. Roquero D. L. 2003. Edafología para la agricultura y el medio ambiente. 3a. ed., Mundi-Prensa, España. 929 p.
- PROFEPA (Procuraduría Federal de Protección al Ambiente). 2009. Reporte de emergencias ambientales en México. 2005. Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA). México. <http://www.profepa.gob.mx/profepa>.
- Puig, J. y J. Corominas. 1990. La ruta de la energía. 1a. ed., Anthropos, España. 477 p.

- Rahman K., S. Rahman, P. Lakshmanaperumalsamy, R. Marchant, y R. Banat. 2003. The potential of bacterial isolates from emulsification with a range of hydrocarbons. *Acta Biotechnologica*. 23:335-345.
- Rey-Salgueiro L., M. S. García-Falcón, B. Soto-González, and J. Simal-Gándara. 2004. Procedure to measure the level of polycyclic aromatic hydrocarbons in wood ashes used as fertilizer in agroforestry soils and their transfer from ashes to water. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52:3900-3904.
- Rey-Salgueiro L., E. Martínez-Carballo, S. García-Falcón and J. Simal-Gándara. 2009. Survey of polycyclic aromatic hydrocarbons in canned bivalves and investigation of their potential sources. *Food Research International*. 42:983-988.
- Richardson, D. M., M. J. Gubbins, I. M. Davies, C. F. Moffat, and P. M. Pollard. 2004. Effects of feeding status on biliary PAH metabolite and biliverdin concentrations in plaice (*Pleuronectes platessa*). *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 17:79-85.
- Riser-Roberts, E. 1998. Remediation of petroleum contaminated soils. Biological, physical, and chemical processes. 1a. ed., Lewis publishers, United States of América. 542 p.
- Rivera-Cruz, M. C., A. Trujillo-Narcia, M. A. Miranda C., y E. Maldonado C. 2005. Evaluación toxicológica de suelos contaminados con petróleos nuevo e intemperizado mediante ensayos con leguminosas. *Interciencia*. 30:326-331.
- Romaniuk R., J., F. Brandt J., R. Ríos P., y L. Giufré. 2007. Atenuación natural y remediación inducida en suelos contaminados con hidrocarburos. *Ciencia del Suelo*. 25:139-149.
- Ruíz-Ochoa, M. A., R. A. Meléndez, M. L. Castellanos, J. H. Palma 2006. Aplicación de medidas repetidas a cuatro propiedades edáficas en los manglares del brazo Calanaca, Río Ranchería. *Ciencias de la Tierra*. 3:233-242.
- Sánchez G., P., V. Volke H., L. Fernández L., R. Rodríguez V., M. C. Rivera-Cruz, R. Ferrara-Cerrato. 2004. Descontaminación de suelos con petróleo crudo mediante microorganismos autóctonos y pasto alemán [*Echinochloa Polystachya* (H. B. K.) Hitchc]. *Agrociencia*. 38:1-12.



- Sangabriel, W., R. Ferrara-Cerrato, D. Trejo A., M. R. Mendoza L., J. S. Cruz S., C. López O., J. Delgadillo M., A. Alarcón. 2006. Tolerancia y capacidad de fitorremediación de combustóleo en el suelo por seis especies vegetales. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 22:63-73.
- Sadler, R. and D. Connell. 2003. Analytical methods for determination of total petroleum hydrocarbons in Soil. *In*: Langley, A., Gilbey M. and B. Kennedy (eds.). Proceedings of the fifth national workshop on the assessment of site contamination. National Environmental Protection Council–Environmental Protection & Heritage Council. Adelaide, Australia. 133-150 p.
- SAS Institute Inc. 2002. The SAS System for windows, ver 9.0 SAS Institute Inc. Cary, North Carolina. EUA.
- Seoánez, C. M. 1998. Contaminación del suelo: estudios, tratamiento y gestión. Colección: Ingeniería del Medio Ambiente. 1a. ed. Mundi-Prensa, Madrid España, 1998, 351 pp.
- Serra M., L., J. Aranceta B. 2006. Nutrición y salud pública. Métodos, bases científicas y aplicaciones. 2a. ed., Masson, España, 826 p.
- Skoog, D. A., F. J. Holler, y S. R. Crouch. 2008. Principios de análisis instrumental 6ta. ed., Cengage Learning, México, D.F., 1064 p.
- Sogorb S., M. A., E. Vilanova, G. 2004. Técnicas analíticas de contaminantes químicos. Aplicaciones toxicológicas, medioambientales y alimentarias. Universidad de Santiago de Compostela, 149 p.
- Stephens, F. L., J. S. Bonner, R. L. Autenrieth and T. J. Mc Donald. 1999. TLC/FID analysis of compositional hydrocarbon changes associated with bioremediation. *In*: Proceeding of the 1999 international oil spill conference, Seattle, Washington, American Petroleum Institute (comp.), Washington, D. C. 219-224 p.
- Szolar O., H. J., B. Rost R. and P. Loibner A. 2002. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. Minimizing sample pre-treatment using automated Soxhlet with ethyl acetate as extraction solvent. *Analytical Chemistry*. 74:2379-2385.
- Totsche, K. U., J. Danzer and I. Kogel-Knabner. 1997. Dissolved organic matter-enhanced retention of polycyclic aromatic hydrocarbons soil miscible displacement experiments. *J. Environ. Qual.* 26:1090-1100.

- Udo, E.J. and N. Bayomi N. 1975. The effect of oil pollution of soil on germination, growth and nutrient uptake of corn. *Journal Enviromental.*, Vol.4, no. 4.
- Underwood, A. 1981. Techniques of analysis of variance in experimental. *Marine biology and ecology.* 19: 513-605.
- USEPA (Environmental Protection Agency United State of America). 1996. Test methods for evaluating solid waste. Physical/chemical methods. publication (SW-846 on-line). Third edition.
- Vallejo V., L. Salgado y F. Roldan. 2005. Evaluación de la Bioestimulación en la biodegradación de TPHs en suelos contaminados con petróleo. *Revista Colombiana de Biotecnología.* 7:67-68.
- Vallejo S., G. 2001. Análisis de diseños multivariados de medidas repetidas. *In: Arnau G., J. (ed.). Diseños de series temporales: técnicas de análisis.* 1a. ed., Universidad de Barcelona, España. 434 pp.
- Van Schooten, F. J., E. J. C. Moonen, L. Van der Wal L., P. Levels, and J. C. S., Kleinjans. 1997. Determination of aromatic hydrocarbons (PAH) and their metabolites in blood, feces, and urine of rats orally exposed to PAH contaminated soils. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology.* 33: 317-322.
- Villalobos M., A. P. Avila-Forcada, y E. Gutiérrez-Ruíz. 2008. An improved gravimetric method to determine total petroleum hidrocarbons in contaminated soils. *Water Air Soil Pollution* 194:151-165.
- Wade L., G. 1993. *Química orgánica.* 2da. ed. Prentice-Hall, México, D.F., 1312 p.
- Wauquier, J. P. 2004. *El refino del petróleo: petróleo crudo, productos petrolíferos, esquema de fabricación.* 1a. ed. Díaz Santos, Madrid España, 462 p.
- Weisman, W. 1998. Analysis of petroleum hydrocarbons in environmental media (vol. 1). Prepared by total petroleum hydrocarbon criteria working group. Association for Environmental Health and Sciences (AEHS) (comp.). Amherst Scientific (Ed.), Amherst, Massachusetts United States. 98 p.

- Zavala-Cruz, J. 1996. Impacto de las actividades petroleras sobre la hidrología superficial del distrito Agua Dulce, Tabasco, México. *In*: Botello, A. V., J. L. Rojas-Galaviz, J. A. Benítez y D. Zárate-Lomelí (eds.). Golfo de México. Contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias. EPOMEX Serie Científica 5. Universidad Autónoma de Campeche. Campeche, México. 505-520 pp.
- Zavala C., J., D. J. Palma-López, L. Aceves N., A. I. Ortiz C., E. García L., A. Ruíz, B. y A. Guerrero P. 1997. Cartografía de suelo, uso actual del suelo y microcuencas de las zonas piloto Samaria-Iride, Cactus-Nuevo Pemex, Giraldas y Cinco Presidentes. Proyecto 244-24E: Informe final. H. Cárdenas, Tabasco. México. 48 p.
- Zavala C., J., D. J. Palma-López, M. Jasso J., E. García L., A. I. Ortiz C., R. Ramos R., A. Guerrero P. y S. Salgado G. 1998. Cartografía, uso actual y vegetación del Activo Cinco Presidentes, Campus Tabasco. H. Cárdenas, Tabasco. México. 74 p.
- Zavala C., J., F. Gavi R., R. H. Adams S., D. J. Palma L. R. Ferrera-Cerrato, H. Vaquera H. y M. E. Domínguez J. 2000. Índices de contaminación por petróleo en suelos con pastizal del Activo Cinco Presidentes, en el municipio de Cárdenas, Tabasco. Campus Tabasco, Colegio de Postgraduados-CIMADES-CCYTET. H. Cárdenas, Tabasco. 70 p.
- Zavala C., J., A. V. Botello, R. H. Adams S., A. Ruíz B. 2003. Hidrocarburos alifáticos y aromáticos en las tierras. *In*: Zavala C., J., M C. Gutiérrez C., D. J. Palma-López (eds.). Impacto ambiental en las tierras del campo petrolero Samaria, Tabasco. 1a. ed., Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco-CCYTEC-CONACYT. Villahermosa, Tabasco. 125 p.
- Zavala, C. J. 2004. Índices de contaminación por petróleo y prácticas de recuperación de suelos con pastizal en el activo Cinco Presidentes, Tabasco. Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Texcoco, Edo. De México, México. 156 p.
- Zavala-Cruz, J., F. Gavi-Reyes, R. H. Adams-Schroeder, R. Ferrara-Cerrato, D. Palma.López, H. Vaquera-Huerta y J. M. Domínguez-Esquivel. 2005. Oil spills on soils and adaptación of tropical grass in Activo Cinco Presidentes, Tabasco, México. *Terra latinoamericana*. 23:293-302.

Zavala-Cruz J., D. J. Palma-López y M. A. Morales G. 2010. Suelos de la cuenca baja del río Tonalá, Tabasco (WRB, 2007). *In*: Zavala-Cruz, J., E. García L. J., D. Palma-López y A. Guerrero P. (eds.). Suelos y vegetación de la cuenca baja del río Tonalá, Tabasco, México. Colegio de Postgraduados, CCYTET. En prensa.