

## EXTRACCIÓN DE HIDROCARBUROS Y COMPUESTOS DERIVADOS DEL PETROLEO EN SUELOS CON CARACTERISTICAS FISICAS Y QUIMICAS DIFERENTES

### Removal of oil and petroleum compounds from soils with different physical and chemical characteristics

M Pons-Jiménez ✉, A Guerrero-Peña, J Zavala-Cruz, A Alarcón

(MPJ) Instituto Mexicano del Petróleo. Eje Central Lázaro Cárdenas, Norte 152 San Bartolo Atepehuacan, Deleg. Gustavo A. Madero C.P. 07730, Distrito Federal. mpons@imp.mx  
(AGP)(JZC) Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco. México  
(AA) Colegio de Postgraduados, Montecillos. Estado de México

**Artículo recibido:** 19 de febrero de 2010, **aceptado:** 26 de febrero de 2011

**RESUMEN.** 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, la cual indica un tiempo de extracción sin considerar las propiedades físicas y químicas del suelo. Este trabajo planteó optimizar el tiempo de extracción de compuestos derivados del petróleo en un sistema Soxhlet, en tres suelos con diferentes características físicas y químicas contaminados por petróleo crudo. En la experimentación, las variables estudiadas fueron suelo, tiempo de extracción y disolvente, con un arreglo factorial  $3 \times 4 \times 3$  respectivamente en un diseño completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento. Los suelos Antrosol, Gleysol e Histosol fueron empleados, y 4 tiempos de extracción (4, 8, 12 y 16 h) y 3 disolventes (metanol, hexano y diclorometano) fueron evaluados. Los tratamientos con metanol proporcionaron las mayores recuperaciones de compuestos en el suelo Gleysol, mientras que en el suelo Histosol los tratamientos con este disolvente evidenciaron las menores recuperaciones. En los tratamientos con hexano se evidenciaron bajas recuperaciones en los suelos Antrosol y Gleysol, y altas recuperaciones en el suelo Histosol. La capacidad extractora del diclorometano fue manifestada principalmente en los suelos Antrosol e Histosol. La interacción suelo, disolvente y tiempo originó efectos positivos significativos (Tukey  $p \leq 0.05$ ). Se concluye que el tiempo de extracción de compuestos que derivan del petróleo en un sistema Soxhlet es función directa del tipo de suelo y del disolvente.

**Palabras clave:** Análisis químico, suelo, contaminación, petróleo crudo.

**ABSTRACT.** Among the techniques most used in the analysis of hydrocarbons of the heavy fraction petroleum in soils, is the method published in the Official Mexican Standard NMX-AA-134-SCFI-2006, that establishes an extraction time without taking into account the physical and chemical properties of the soil. This study aimed to optimise the extraction time of petroleum compounds in a Soxhlet system, in three soils polluted by crude oil and with different physical and chemical characteristics. The variables studied in the experiment were soil, extraction time and solvent, with a  $3 \times 4 \times 3$  factorial arrangement respectively, in a completely randomised design, with three replicates per treatment. The soils used were Anthrosol, Gleysol and Histosol, and 4 times of extraction (4, 8, 12 and 16 h) and 3 solvents (methanol, hexane and dichloromethane) were evaluated. The treatments with methanol provided the greatest recoveries of compounds in the Gleysol soil, whereas the treatments with this solvent presented the lowest recoveries in the Histosol soil. The treatments with hexane resulted in low recoveries in the Gleysol and Anthrosol soils, and high recoveries in the Histosol soil. The extraction capacity of dichloromethane was evident mainly in the Histosol and Anthrosol soils. The interaction soil, solvent and time generated significant positive effects (Tukey  $p \leq 0.05$ ). It is concluded that the extraction time of compounds derived from petroleum in a Soxhlet system is a direct function of the type of soil and the solvent.

**Key words:** Chemical analysis, soil, contamination, crude oil.

## INTRODUCCIÓN

La determinación de suelos contaminados por hidrocarburos es uno de los análisis más frecuentes en el estudio de sitios contaminados y también uno de los menos estandarizados (Sadler & Connell 2003). Los HTP, han sido objeto de estudio en los 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). Los contaminantes orgánicos derivados del petróleo, además de contener la fracción de hidrocarburos (alcanos, cicloalcanos y aromáticos), también comprenden compuestos polares (compuestos azufrados, organosulfurados, constituyentes con nitrógeno, asfaltenos y elementos metálicos como el vanadio y el níquel) (Kawanaka *et al.* 1989; Centeno *et al.* 2004; Melo & Cuamatzi 2007). Al respecto, Donna *et al.* (1999), Lynn *et al.* (2002), Sadler & 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 ligera, media y pesada del petróleo. Para el análisis de componentes no volátiles o semivolátiles en muestras de suelo, es necesario que los hidrocarburos se encuentren en disolución (Sadler & Connell 2003).

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, no provee información relativa a la composición del crudo y propone eliminar la presencia de compuestos polares en las muestras de suelo contaminadas, purificando la muestra con gel de sílice, para obtener una medida confiable en la concentración de HTP en la absorción de luz en el infrarrojo (George 1994). Al respecto, Pawlak *et al.* (2008) mencionaron que el método EPA 418.1 también induce a la cuantificación de compuestos no derivados de los hidrocarburos como los ácidos húmicos, en suelos orgánicos.

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 de la existencia de compuestos con temperaturas de ebullición superior a la del hexano, y sugiere determinar por gravimetría, la cantidad de hidrocarburos presentes [EPA 9071B (1998); Weisman 1998; DOF 2006; Villalobos *et al.* 2008].

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; Szolar *et al.* 2002). En la Tabla 1, es presentada una cronosecuencia de las investigaciones, 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 sin justificación, aún cuando se utilice el mismo método de extracción y el disolvente. Los métodos para análisis de hidrocarburos, mencionados en la Tabla 1, fueron aplicados a diferentes tipos de suelos, sin importar sus características físicas y químicas, por lo cual, se puede inferir que no existe un método único para el análisis de HTP en suelos y se han empleado distintas condiciones para su extracción. Al respecto, Hernández-Valencia & 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), efectuando la determinación de hidrocarburos según el método gravimétrico EPA 3540C (1996a) y utilizando como extractante diclorometano. Aunque en este trabajo no se mencionó el tiempo de extracción empleado, el método EPA 3540C (1996a) especifica que un disolvente en un sistema de extracción Soxhlet actuará en un período de 16 a 24 h, por lo cual resultaría de gran aporte conocer un tiempo óptimo de extracción con este disolvente, que permitiera reducir los intervalos de tiempo empleados en la recuperación de HTP y CDP, en este suelo de textura arenosa. De acuerdo a lo antes expuesto, el objetivo del presente trabajo fue optimizar el tiempo de extracción, con un equipo Soxhlet, de HTP y compuestos derivados del petróleo, en suelos con diferentes características físicas y químicas, utilizando hexano, metanol y diclorome-

**Tabla 1.** Extracción de hidrocarburos totales del petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP) en diversos estudios de suelos.

**Table 1.** Extraction of total petroleum hydrocarbons (TPH) and oil compounds (CDP) in several soil studies.

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†	5	Nadim <i>et al.</i> 2002
Biodegradación	Agitación mecánica	Diclorometano	0.5	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 & 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)	0.5	Vallejo <i>et al.</i> 2005
Análisis de TPH	Soxhlet	Hexano	4	Duran & Contreras 2006
TPH en sedimentos	Soxhlet	Hexano	4	Fernández <i>et al.</i> 2006a
Fitorremediación	Agitación mecánica	Diclorometano	0.5	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

tano como disolventes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Etapa de campo

Se realizó la elección de tres sitios que presentaron contaminación por derrames de petróleo y en tres suelos con características físicas y químicas diferentes, a una profundidad de 0-30 cm en los tres sitios. En cada sitio fueron colectados 20 kg de suelo, con una pala recta. La descripción de los sitios de muestreo se presenta en la Tabla 2.

### Preparación de las muestras

Las muestras de suelo fueron secadas (a la sombra y a una temperatura ambiente de 27 °C), molidas (con rodillo de madera) y tamizadas (a través de malla de 2 mm de diámetro, para los suelos de los sitios 1 y 2, y con malla de 1 mm de diámetro para el suelo orgánico del sitio 3); posteriormente fueron almacenadas en frascos de vidrio con tapa metálica de rosca. Finalmente, cada muestra de sue-

lo, se homogeneizó, mediante rotación manual del frasco contenedor de cada uno de los suelos durante 17 h.

### Cuantificación de HTP y CDP en suelos

Las muestras fueron analizadas mediante extracción Soxhlet y detección gravimétrica, de acuerdo con los métodos EPA 3540C (1996a) y 9071B (1998), respectivamente, utilizando tres disolventes de distinta polaridad y aplicando diferentes tiempos de extracción. El criterio para la selección de tres disolventes para la extracción, se basó en la constante dieléctrica; la cual, se tomó como una medida de la polaridad del disolvente (Wade 1993; Lide 1999; Dupont & Gokel 2007).

Para realizar la investigación, se propuso un diseño experimental con los factores bajo estudio indicados en la Tabla 3, donde se observa cuatro niveles para el factor tiempo (4, 8 12 y 16 h), 3 niveles del factor suelo (Antrosol, Gleysol e Histosol) y 3 niveles de disolvente (metanol, hexano y diclorometano). Los nombres de los suelos, se emplearon

**Tabla 2.** Particularidad de algunas variables en los sitios seleccionados.  
**Table 2.** Details of some variables in the selected sites.

Variable	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3
Tipo de suelo	†Antrosol Dístrico Hórtico	††Gleysol Hístico (Dístrico Húmico)	††Histosol Rehico Sáprico (Éútrico Tóxico Sódico)
Coordenadas geográficas	15Q393022 y UTM E 2013986	15Q389415 y UTM E 2013986	15Q390015 y UTM E 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).

como una abreviatura de los nombres presentados en la Tabla 2, para el suelo de cada sitio.

Se empleó un modelo factorial 3x4x3, en un diseño completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento para cada tipo de suelo, con el fin de hacer la estimación de los efectos del factor suelo con los niveles de disolvente y tiempo. El efecto simultáneo de los factores estudiados (suelo, tiempo y disolvente) proporcionó un total de 36 tratamientos, que resultaron de la combinación entre los niveles de los factores estudiados.

**Tabla 3.** Variables y niveles de estudio en el experimento.  
**Table 3.** Variables and study levels in the experiment.

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

### Análisis estadístico

Se aplicó el procedimiento GLM para el análisis estadístico y se utilizó la prueba de Tukey para determinar diferencias estadísticas de las medias de los tratamientos ( $p < 0.05$ ) (SAS Institute 2002). Esta comparación de medias entre tratamientos se hizo fijando los dos factores cualitativos (A y C) en un nivel específico cada uno y se aplicó la prueba de Tukey a las medias del factor cuantitativo

B con los niveles fijados para A y C. Esto con el fin de encontrar una diferencia estadística entre las recuperaciones de HTP y CDP en cada suelo, al emplear un mismo disolvente y diferentes tiempos de extracción. Como el objetivo es obtener 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. 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.

### RESULTADOS

Las características físicas y químicas más relevantes de los suelos en estudio son presentadas en la Tabla 4. De acuerdo a los criterios que establece la Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000 (DOF 2002) en los suelos de los sitios 2 y 3, debido al alto contenido de materia orgánica ( $MO > 16.1\%$ ), no se realizó el análisis de textura; sugerido en el trabajo de Porta *et al.* (2003) para el conocimiento de la distribución porcentual de partículas inorgánicas con tamaño inferior a 2 mm, como son las arcillas ( $< 2 \mu m$ ), limos (2-50  $\mu m$ ) y arenas (50-2000  $\mu m$ ). Estos autores también mencionaron que un alto contenido de materia orgánica favorece la agregación de componentes texturales inorgánicos (arena, limo y arcilla) y orgánicos-biológicos (en partículas de 250 a 2000  $\mu m$ ), muy estables, debido a las interacciones fisicoquímicas que presentan. Esto explica, que la determinación de textura, sugerida en la Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000 (DOF 2002) para la destrucción de

**Tabla 4.** Características físicas y químicas de las muestras de suelo.  
**Table 4.** Physical and chemical characteristics of the soil samples.

Variable	Método Analítico	<sup>1</sup> Sitio 1	<sup>2</sup> Sitio 2	<sup>2</sup> Sitio 3
MO (%)	Walkley y Black; y por combustión seca (mufla)	0.77	31	83.8
CIC (cmol kg <sup>-1</sup> )	Acetato de amonio (1.0 N, pH 7.0)	3	32.6	71.5
pH (H <sub>2</sub> O)	(potenciometría)	5.1	5.4	4.1
Textura	Bouyoucos	Arena	Nd	Nd
†Humedad (%)	Gravimetría	2.21	11.49	14.01

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

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

Nd - No determinada.

componentes texturales no puede ser empleada en los suelos Histosol (MO = 83.8%) y Gleysol (MO = 31%). En la Tabla 4, se observa que los tres suelos estudiados, presentan diferencias en el contenido de MO y capacidad de intercambio catiónico (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).

En la Tabla 5 se presentan los tratamientos del diseño experimental, así como las cuantificaciones obtenidas. La respuesta considerada, fue el promedio de recuperaciones de los distintos hidrocarburos totales del petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP). Cuando se comparó al metanol con los otros dos extractantes, los tratamientos con metanol a diferentes tiempos, proporcionaron las mayores cuantificaciones de HTP y CDP (39 302, 45 104, 48 266 y 49 095 mg kg<sup>-1</sup>, en los tiempos de 4, 8, 12 y 16 h respectivamente) en el suelo Gleysol, mientras que la menor cuantificación (55 536, 68 220, 70 231 y 74 991 mg kg<sup>-1</sup>) se evidenció en el suelo Histosol con este disolvente.

Los tratamientos que incluyen hexano como disolvente al compararse con los otros extractantes, en los diferentes tiempos, proporcionaron las menores cuantificaciones de HTP y CDP para los suelos Antrosol (4 111, 4 902, 4 920, 5 002 mg kg<sup>-1</sup>) y Gleysol (21 831, 21 997, 22 256 y 22 497 mg kg<sup>-1</sup>), mientras que para el suelo Histosol se observaron cuantificaciones altas (86 929, 89 026, 89 775 y 90 890 mg kg<sup>-1</sup>) y cercanas a las obtenidas con diclorometano (107 838, 110 029, 109 744, 111 015 mg kg<sup>-1</sup>), quien mostró cuantificaciones 1.2 veces

más grandes que las obtenidas con hexano en los tiempos de 4, 8, 12 y 16 h.

Los tratamientos con diclorometano muestran las cuantificaciones más altas de HTP y CDP para los suelos Antrosol e Histosol. Al respecto, Deuel & Holliday (1997) mencionaron que el diclorometano ha mostrado ser el extractante más eficiente de aceites y grasas en el suelo. Sin embargo en el suelo Gleysol, la capacidad extractora del metanol en los 4 tiempos fue de 1.35 a 1.6 veces mayor (39 302, 45 104, 48 266 y 49 095 mg kg<sup>-1</sup>), comparada con la del diclorometano (28 994, 28 583, 30 467 y 30 677 mg kg<sup>-1</sup>).

En la Tabla 6 se muestra que los factores A, B y C son 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), B x C (tiempo-disolvente), y A x B x C (suelo-tiempo de extracción-disolvente) también son estadísticamente significativas. La significancia de la interacción suelo-disolvente se refleja también, en los resultados presentados para la Tabla 5. El efecto de los disolventes en cada uno de los suelos, además de verificarse en forma estadística, también se puede observar en la Figura 1.

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

En la Figura 1, se observa la cuantificación de HTP y CDP obtenidas en un suelo a) Antrosol Dístico Hórtico (sitio 1), b) Histosol Rehico Sápri-

**Tabla 5.** Concentraciones en las muestras de suelos, cuantificadas mediante extracción Soxhlet y método gravimétrico. HTP = Hidrocarburos Totales del Petróleo, CDP = Compuestos Derivados del Petróleo.

**Table 5.** Concentrations in the soil samples, quantified by Soxhlet extraction and the gravimetric method. TPH= Total Petroleum Hydrocarbons, CDP= Oil Compounds.

Tratamiento	HTP + CDP (mg kg <sup>-1</sup> )			
	(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,  $p < 0.05$ )

co (Éutrico Tóxico Sódico) (sitio 2) y c) Gleysol Hístico (Dístrico, Húmico) (sitio 3).

El suelo Antrosol presentó una coloración par-  
da comparada con los suelos orgánicos (sitio 2 y 3)  
que presentaron coloraciones oscuras. De acuerdo  
con la Figura 1a, para este suelo, el tiempo optimi-  
zado al utilizar hexano como disolvente en el sistema  
de extracción Soxhlet es de 4 h, si se quiere cuan-  
tificar la máxima cantidad de hidrocarburos presen-  
tes. La cuantificación de HTP y CDP en el suelo  
Antrosol, no presentó diferencias estadísticas signi-  
ficativas cuando se realizó la extracción con hexano  
a tiempos superiores a 4 h.

Lo anterior, coincide con la Norma Oficial Me-  
xicana NOM-138-SEMARNAT (DOF 2005) y el mé-  
todo EPA 9071B (1998), los cuales establecen un  
tiempo de extracción de 4 h, cuando se utiliza he-  
xano.

En el presente trabajo se ha optimizado un  
tiempo de extracción de 4 y 8 h respectivamente,  
para los disolventes diclorometano y metanol cuan-  
do se emplea un sistema de extracción Soxhlet en  
un suelo Antrosol de bajo contenido de MO y ba-

ja CIC (Figura 1a) (Tabla 4). A mayor tiempo de  
extracción las cuantificaciones de HTP y compues-  
tos derivados del petróleo no son estadísticamente  
diferentes.

En la Figura 1b, se aprecia (al igual que en el  
suelo Antrosol), que las mayores cuantificaciones de  
HTP y compuestos derivados del petróleo, fueron  
obtenidas al usar diclorometano como disolvente de  
extracción en el suelo Histosol. El comportamiento  
de los disolventes metanol y hexano en este suelo, es  
diferente al comportamiento observado en la Figura  
1a para el suelo Antrosol. En el suelo Histosol, se  
observa que las cuantificaciones de HTP y CDP con  
hexano son de 1.21 a 1.56 veces mayor a las obteni-  
das con metanol, mientras que en el suelo Antrosol,  
el comportamiento de los disolventes se invierte (las  
cuantificaciones de HTP y CDP con metanol son de  
1.11 a 1.44 veces mayor que las obtenidas con he-  
xano). El tiempo optimizado al usar diclorometano  
o hexano como disolvente de extracción es de 8 h,  
el efectuar las extracciones a tiempos superiores no  
proporcionó cuantificaciones estadísticamente dife-  
rentes para un suelo Histosol. Para el caso de usar

**Tabla 6.** Análisis de varianza (ANOVA) para el diseño factorial.  
**Table 6.** Analysis of variance (ANOVA) for the factorial design.

Efecto	Suma de cuadrados (*10 <sup>10</sup> )	Grados de libertad	Cuadrado medio (*10 <sup>10</sup> )	F	P
Tratamientos	16.25	35	0.464	11623.0	< .0001
A	14.547	2	7.27	182093	< .0001
B	0.4645	3	0.1548	387.69	< .0001
C	0.3016	2	0.1508	3775.92	< .0001
A * B	0.0224	6	0.0037	93.82	< .0001
A * C	1.2857	4	0.3214	8047.38	< .0001
B * C	0.0314	6	0.0052	131.35	< .0001
A * B * C	0.0145	12	0.0012	30.29	< .0001
ET†	0.0355	89	0.000039		
SCT††	16.2529	124			

A = Unidad de suelo (Antrosol, Gleysol e Histosol) B = Tiempo de extracción C = Disolvente †Error experimental y ††Suma de cuadrados totales.

metanol como disolvente de extracción, se observa en la Figura 1b, que a medida que se incrementa el tiempo de extracción, aumentan significativamente las cuantificaciones de HTP y CDP.

Para este suelo, el tiempo optimizado al utilizar hexano como disolvente de extracción, no coincide con el tiempo de 4 h, propuesto en la Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT (DOF 2005) y el método EPA 9071B (1998), lo que puede atribuirse a un alto contenido de compuestos orgánicos como los hidrocarburos lineales (Villalobos *et al.* 2008), que interaccionan con el disolvente en tiempos superiores a 4 h de extracción. Además de acuerdo con el método EPA 4030 (1996b), las cuantificaciones de HTP y CDP que se obtienen para los tiempos optimizados son altas en este suelo (sitio 2).

En la Figura 1c, 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 3). Se observa, que las cuantificaciones más altas se obtuvieron al emplear metanol en un tiempo de 12 h para efectos de extracción de HTP y CDP en el suelo Gleysol.

## DISCUSIÓN

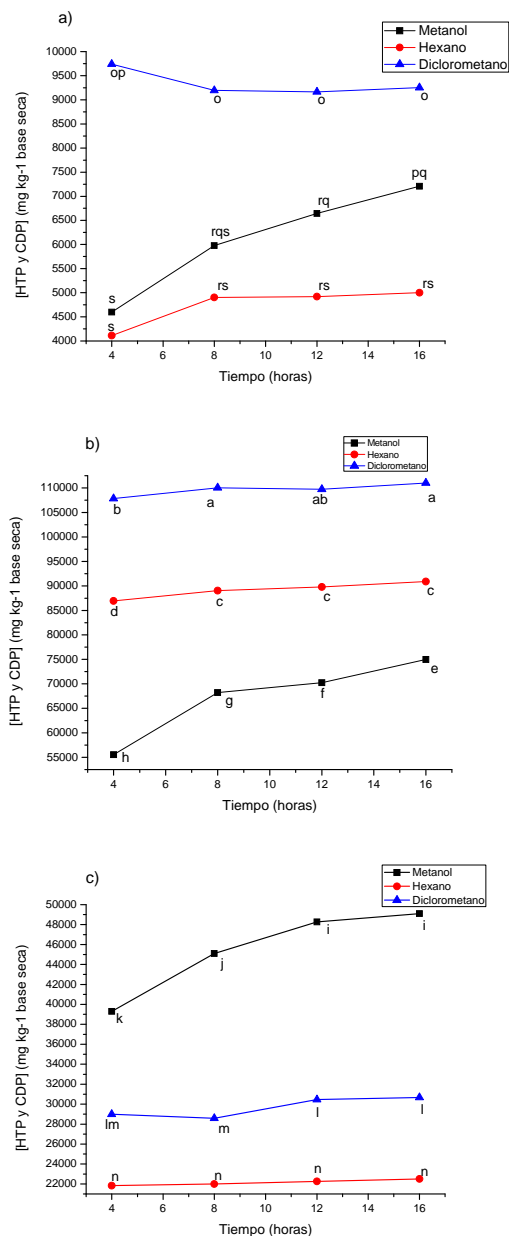
Con base en lo establecido en el método EPA 4030 (1996b) las concentraciones de hidrocarburos y compuestos derivados del petróleo, son clasificadas como altas en los tres sitios (Tabla 5). Se obser-

va que en cada suelo, se tiene asignación de letras diferentes para las respuestas de HTP y CDP. 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 (1996c). Los CDP fueron 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 & Cuamatzi 2007).

El efecto de los disolventes de extracción es más marcado en el suelo Histosol (Tabla 5). Esto se explica, porque los Histosoles son formados de materiales orgánicos en cantidades superiores al 20 %, mientras que un suelo Antrosol es considerado un suelo mineral (Núñez 2000; Porta *et al.* 2003). Por estas cualidades mencionadas, el efecto de un disolvente sobre un suelo, está en función de la fracción orgánica o mineral presente.

Al hacer un diagnóstico exploratorio en las concentraciones de hidrocarburos con los tres disolventes, se observa que las mayores concentraciones de HTP y CDP, se encontraron en los suelos con mayor contenido de materia orgánica (Histosol y Gleysol). Al respecto, García-Falcón *et al.* (2004) así como Dreyer & Radke (2005) señalaron que la baja solubilidad en agua y baja polaridad de los HAP los convierten en compuestos 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.



**Figura 1.** Cuantificación de Hidrocarburos Totales del Petróleo (HTP) y compuestos derivados del petróleo (CDP) en suelos: a) Antrosol Dístico-Hórtico, b) Histosol Rehico Sápico (Étrico Tóxico Sódico) y c) Gleysol Hístico (Dístico, Húmico). Distintas letras en cada curva son estadísticamente diferentes (Tukey,  $p = 0.05$ ).

**Figure 1.** Quantification of Total Petroleum Hydrocarbons (TPH) and oil compounds (CDP) in soils: a) Distic-Hortic Anthrosol, b) Rehic Sapric Histosol (Eutric Toxic Sodic) and c) Histic Gleysol (Distic, Humic). Different letters in each curve are statistically different (Tukey,  $p = 0.05$ ).

Con respecto a la coloración parda que presentó el suelo Antrosol, Porta *et al.* (2003) señalaron que esta coloración es propia de suelos bien aireados y con buen drenaje. Por otra parte, Gutiérrez & Zavala (2002) mencionaron que un buen drenaje favorece la volatilización, lixiviación u oxidación de los hidrocarburos. Este argumento, permite entender, porque las menores cuantificaciones de HTP y CDP fueron obtenidas con hexano, más no justifica las altas cuantificaciones de HTP y CDP obtenidas con metanol y diclorometano; lo cual sugiere la posible existencia de compuestos aromáticos policíclicos (Pardo *et al.* 2004; Gamboa *et al.* 2005), 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 evidenciaron la poca eficiencia de hexano como extractante en un suelo de textura arenosa (Figura 1a). 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 & 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), que tal vez no requieren tiempos prolongados de extracción al emplear un sistema Soxhlet, cuando el suelo estudiado presenta una textura arenosa. Por otra parte, la eficiencia del diclorometano como extractante de grasas, mencionada por Deuel & Holliday (1997), se demostró para el suelo Antrosol e Histosol, en tiempos de extracción que no excedieron de 8 h. En el trabajo realizado por Hernández-Valencia & Mager (2003), la extracción con diclorometano de compuestos derivados del petróleo, pudo haberse efectuado a un tiempo menor de 16 h, de acuerdo con las características del suelo estudiado y los resultados obtenidos en este trabajo para un suelo de textura arenosa, al emplear diclorometano como disolvente.

Al tratar el suelo con un disolvente de alta polaridad como el metanol, las cuantificaciones de HTP y CDP obtenidas se pueden atribuir a la 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 (DOF 2005).

Gutiérrez & 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, mencionaron 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 ( $> 1000 \text{ mg kg}^{-1}$ ) de acuerdo con el método EPA 4030(1996b), lo cual puede atribuirse a la antigüedad del derrame, 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  $\text{mg kg}^{-1}$  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.

Wade (1993) mencionó que el momento dipolar y la constante dieléctrica, 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. Por otra parte, Dragun (1998) mencionó que la magnitud de las fuerzas de van der Waals y las interacciones dipolo-dipolo entre las moléculas, determina la solubilidad de compuestos químicos en los disolventes orgánicos. Esto explica las altas cuantificaciones de HTP y compuestos derivados del petróleo obtenidos con hexano y metanol en el suelo Histosol, así como el tiempo superior a 4 h que requiere el hexano para extraer la máxima cantidad de HTP y compuestos derivados del petróleo presentes en este suelo; constituido principalmente por hidratos de carbono, celulosa, hemicelulosa, lignina, taninos, proteínas y macromoléculas lipídicas, de los suelos (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, del derrame de petróleo y nutrientes de este suelo. 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. Porta *et al.* (2003) y Manahan (2007) 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 presencia de sustancias húmicas.

En consecuencia, los tiempos optimizados para la extracción de HTP y compuestos derivados del petróleo en este suelo, son mayores (Figura 1b) comparados con los obtenidos en el suelo Antrosol (Figura 1a). Las altas cuantificaciones de HTP y CDP, a medida que se incrementan los tiempos de extracción con metanol para el suelo Histosol, sugieren que en otra etapa de esta investigación se estudien tratamientos para este suelo que consideren mayores tiempos de extracción con este disolvente y permitan encontrar el tiempo óptimo. 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 alguna vez no se consiguen, situación que se presentó al utilizar metanol como extractante. Los trabajos en donde se utilice metanol como disolvente en un sistema de extracción Soxhlet para la determinación de hidrocarburos son escasos. 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 como mezcla metanol-diclorometano (1:1), con tiempos de extracción que oscilaron en el rango de 130 a 133 h, hasta que los reflujos en el sistema Soxhlet no proporcionarían coloración alguna. La amplitud de estos tiempos de contac-

to disolvente-suelo, posiblemente se estimó debido al tipo de matriz que se estudió, lo cual fue muy acertado de acuerdo a los resultados presentados en este trabajo, para este disolvente (metanol) donde no se logró establecer diferencias significativas en la combinación tiempo x disolvente sobre el porcentaje de recuperación de HTP y CDP en un suelo Histosol. Los compuestos extraídos con metanol en el suelo Histosol, posiblemente son hidrocarburos aromáticos, de acuerdo a los resultados presentados por García-Gómez *et al.* (2004) quienes efectuaron la cuantificación en 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 mencionaron que la extracción de hidrocarburos aromáticos se favorece conforme aumenta la polaridad de un disolvente, índice que puede ser afectado cuando se emplean combinaciones de disolventes que favorecen las recuperaciones de hidrocarburos aromáticos policíclicos (Van Shooten *et al.* 1997; García-Gómez *et al.* 2004; Richardson *et al.* 2004). Sólo en la figura 1c se observa que las extracciones de HTP y CDP aumentan conforme se incrementa la polaridad del disolvente, por lo tanto este resultado muestra que la recuperación de HTP y CDP en un suelo Gleysol incrementa conforme se aumenta la polaridad de un disolvente, situación que no es observada en los suelos Histosol (Figura 1b) y Antrosol (Figura 1a), lo cual podría explicarse por la concentración y composición del crudo presente. Los resultados de solubilidad de HTP y CDP con metanol en el suelo Gleysol frente a los otros dos extractantes, sugieren una mayor existencia de compuestos medianamente polares comparada con la existencia de hidrocarburos lineales comúnmente solubles en hexano (Ortíz & García 2003; Pardo *et al.* 2004).

El comportamiento de las recuperaciones con diclorometano en el suelo Gleysol (Figura 1c), fue diferente de los reportados en los otros suelos (Figuras 1a, 1b), demostrándose que el diclorometano no es el mejor extractante de HTP y CDP en este caso, pero se requiere un tiempo de 4 h, cuando es

empleado como disolvente. 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 h. Por tanto para este suelo y este disolvente, el tiempo de extracción pudo haberse disminuido en 8 h. 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 (Tabla 6), pero se confirmó, con las figuras presentadas para los tiempos optimizados de extracciones en cada uno de los suelos. En la Figura 1c se muestra que el tiempo optimizado, en este trabajo, para la extracción de HTP y CDP en suelo Gleysol Hístico (Dístico, Húmico) (sitio 3) al utilizar diclorometano y hexano como disolvente, es de 4 h en ambos casos, y coincide con el tiempo de 4 h, propuesto en la Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SS-2003 (DOF 2005).

Como conclusión, la extracción Soxhlet es uno de los recursos más empleados en los análisis de HTP y compuestos que derivan del petróleo. Sin embargo, está condicionada la elección del disolvente, al tiempo de extracción y tipo de suelo. En la presente investigación fue optimizado el tiempo de extracción para tres tipos de suelo y tres disolventes; lo cual permitirá invertir menor tiempo en los análisis cuando se tienen que procesar grandes lotes de muestras. Con el presente trabajo se concluye que:

1. En la extracción Soxhlet con hexano como disolvente, es suficiente el empleo de 4 h para los suelos Antrosol y Gleysol, mientras que para el suelo Histosol son necesarias 8 h.
2. Si el metanol es empleado como disolvente en un sistema de extracción Soxhlet, serán suficientes 8 y 12 h para un suelo Antrosol y Gleysol, respectivamente, mientras que para el Histosol son necesarias más de 16 h si se desea lograr la máxima recuperación de compuestos derivados del petróleo.
3. La extracción Soxhlet con diclorometano como disolvente se debe realizar, durante 4 h para el suelo Antrosol y Gleysol, y durante 8 h para el suelo Histosol.

4. Los tiempos de extracción de hidrocarburos y compuestos derivados del petróleo varían de un suelo a otro dependiendo de las características físicas y químicas. Por lo cual se sugiere efectuar la extracción de hidrocarburos en suelos (cuando se emplee

un sistema de extracción Soxhlet) a tiempos diferentes de los propuestos en las normas o metodologías empleadas, para garantizar que se reportará la máxima cantidad de hidrocarburos y compuestos derivados del petróleo en el suelo que se estudie.

## LITERATURA CITADA

- Adams RH, Zavala-Cruz J, Morales-García F (2008) Hidrocarburos en suelos del trópico: Afectación a la fertilidad y su recuperación. *Interciencia* 33(7): 483-489.
- Armenta H, López L, Lo MS (2008) Caracterización espectroscópica de estructuras orgánicas extraídas de ácidos húmicos. *Venesuelos* 16: 6-13.
- Centeno G, Trejo F, Ancheyta J, Carlos A (2004) Precipitación de asfaltenos del crudo Maya en un sistema a presión. *Revista de la Sociedad Química de México* 48 (3): 179-188.
- Deuel L, Holliday GH (1997) *Soil remediation for the petroleum extraction industry*. Second edition, Penn Well Publishing Co., Tulsa Oklahoma, USA. 242 pp.
- DOF (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.
- DOF (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 pp.
- DOF (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. 27 pp.
- Donna JV, Menzie-Cura W, Weisman H, Gustafson JB (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 pp.
- Dragun J (1998) *The soil chemistry of hazardous materials*. 2nd. ed. Amherst Scientific Publishers, Amherst, Massachusetts. 861 pp.
- Dreyer A, Radke M (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(7): 423-432.
- Dupont DH, Gokel GG (2007) *Química orgánica experimental*. 1a. Edición, Reverté. España, 592 pp.
- Duran RM, Contreras CN (2006) Alternativa de tratamiento para tierras fuller contaminadas con aceite dieléctrico. *Scientia et Technica* 32(7): 419-424.
- EPA (1978) Method 418.1. Test method for evaluating total recoverable petroleum hydrocarbon (spectrophotometric, infrared). United States Government Printing Office, Washington, D. C., 9 pp.
- EPA (1986a) Method 418.1 mod. Petroleum hydrocarbon, total recoverable. Spectrophotometric infrared. United States Environmental Protection Agency. Washington, DC: Government Printing Office. 8 pp.

- EPA (1996a) Method 3540C. Soxhlet extraction. United States Environmental Protection Agency, SW-846 Manual. Washington, DC: Government Printing Office. 1-8 pp.
- EPA (1996b) Method 4030. Soil screening for petroleum hydrocarbons by Immunoassay. United States Environmental Protection Agency, SW-846 Manual. Washington, DC: Government Printing Office. 1-17 pp.
- EPA (1996c) Method 3611b. Alumina column cleanup and separation of petroleum wastes. United States Environmental Protection Agency. Washington, DC: Government Printing Office. 1-7 pp.
- EPA (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 pp.
- Fernández C, Silva M, Pereira JC, Mallia A, Llobregat MJ, Altomare V (2006) Biodegradabilidad de las fracciones de resinas y asfaltenos por pseudomonas en suelo impactado con crudo mediano. *Ingeniería UC* 13 (2):7-13.
- Fernández N, Cesar A, González M, DelValls TA (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(02B): 421-427.
- Gamboa A, Fernández R, Galarraga F, Benzo Z, Salas J (2005) Determinación de compuestos saturados en partículas sedimentadas en la ciudad de Valencia, Venezuela. *Revista de la Facultad de Ingeniería Universidad Central de Venezuela* 20(4): 99-104.
- García-Falcón MS, Perez-Lamela C, Simal-Gandara J (2004) Strategies for the extraction of free and bound polycyclic aromatic hydrocarbons in run-off waters rich in organic matter. *Analytical Chemical Acta* 508 (2): 177-183.
- García-Gómez RS, Pandiyan T, Aguilar-Iris V, Ruíz-Figueroa M, Durán-de-Bazúa C (2004) Identificación de hidrocarburos aromáticos policíclicos en suelos usando métodos espectroscópicos. *Tecnología: Ciencia Educativa (IMIQ)* 19(2): 69-82 p.
- George S (1994) Bias associated with the use of EPA Method 418.1 for the determination of total petroleum hydrocarbons in soils. In: Calabrese EJ, Kostecki PT, Bonazountas M (eds.). *Hydrocarbon contaminated soils and ground water*, Vol. 4, chapter 8. Amherst Scientific Publishers, Amherst, MA. 115-142 p.
- Gutiérrez CMC, Zavala CJ (2002) Rasgos hidromórficos de suelos tropicales contaminados con hidrocarburos. *Terra Latinoamericana* 20(2): 101-111.
- Harris BC, Bonner JS, Dimitriou-Christidis P, McDonald TJ, Sterlin MC, Fuller CB, Autenrieth RL (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 pp.
- Hernández-Valencia, I, y Mager D (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 pp.
- Kawanaka S, Leontaritis KJ, Park SJ and Mansoori GA (1989) Thermodynamic and colloidal models of asphaltene flocculation. In: *ACS symposium series Oil-field chemistry enhanced recovery and productions stimulation*. ACS, Washington DC. 450-458 pp.

- Lide RD (1999) Handbook of chemistry and physics. 80th ed. Ed. CRC Press, Boca Raton, Florida, United States of America. 2624 pp.
- Lu M, Zhang Z, Sun S, Wei X, Wang Q, Su Y (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 pp. Consulta: 17 de febrero del 2009.
- Lynn TB, Lynn AC, Balog CD (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 pp.
- Manahan SE (2007) Introducción a la química ambiental. 3a. ed. Reverté, España. 303-335 pp.
- Melo RV, Cuamatzi TO (2007) Bioquímica de los procesos metabólicos. 2a. ed. Reverté, México. 406 pp.
- Murgich J, Abanero JA, Strausz OP (1999) Molecular recognition in aggregates formed by asphaltene and resin molecules from the athabasca oil sand. *Energy & Fuel* 13(2): 278-286.
- Nadim F, Liu S, Hoag GE, Chen J, Carley RJ, Zack P (2002) A comparison of spectrophotometric and gas chromatographic measurements of heavy petroleum products in soil samples. *Water, Air, and Soil Pollution* 134(1): 97-109.
- Núñez SJ (2000). Fundamentos de edafología. 3a. ed. EUNED, Costa Rica, 168 pp.
- Ortiz JE, García MMJ (2003) Técnicas analíticas: identificación de familias de compuestos. *Industria y minería* 351: 31-40.
- Palma-López DJ, Cisneros D, Moreno CE, Rincón-Ramírez JA. (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 pp.
- Pardo CJL, Perdomo RMC, y Benavides LMJL (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(2): 40-49.
- Pawlak Z, Rauckyte T, Oloyede A (2008) Oil, grease and used petroleum oil management and environmental economic issues. *Journal of achievements in materials and manufacturing engineering* 26(1): 11-17.
- Pineda-Flores G, Boll-Argüello V, Mesta-Howard AM (2002) Biodegradación de asfaltenos por un consorcio microbiano aislado de petróleo crudo "Maya". *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 18(2): 67-73.
- Porta CJ, López-Acevedo RM, Roquero DLC (2003) Edafología para la agricultura y el medio ambiente. 3a. ed., Mundi-Prensa, España. 929 pp.
- Richardson DM, Gubbins JM, Davies MI, Moffat FC, Pollard MP (2004) Effects of feeding status on biliary PAH metabolite and biliverdin concentrations in plaice (*Pleuronectes platessa*). *Environmental Toxicology and Pharmacology* 17(2):79-85.
- Riser-Roberts E (1998) Remediation of petroleum contaminated soils. Biological, physical, and chemical processes. Lewis publishers, United States of América. 542 pp.
- Rivera-Cruz MC, Trujillo-Narcia A, Miranda CMA, Maldonado CE (2005) Evaluación toxicológica de suelos contaminados con petróleos nuevo e intemperizado mediante ensayos con leguminosas. *Interciencia* 30(6): 326-331.

- Romaniuk R, Brandt JF, Ríos PR, Giufré L (2007) Atenuación natural y remediación inducida en suelos contaminados con hidrocarburos. *Ciencia del Suelo* 25(2): 139-149.
- Sánchez GP, Volke HV, Fernández LL, Rodríguez VR, Rivera-Cruz MC, Ferrara-Cerrato R (2004) Descontaminación de suelos con petróleo crudo mediante microorganismos autóctonos y .pasto alemán [*Echinochloa Polystachya* (H. B. K.) Hitchc]. *Agrociencia* 38(1):1-12.
- Sangabriel W, Ferrara-Cerrato R, Trejo AD, Mendoza LMR, Cruz SJS, López OC, Delgadillo MJ, Alarcón A (2006) Tolerancia y capacidad de fitorremediación de combustóleo en el suelo por seis especies vegetales. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 22(2): 63-73.
- Sadler R, Connell D (2003) Analytical methods for determination of total petroleum hydrocarbons in Soil. En: 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 pp.
- SAS Institute Inc. (2002) *The SAS System for windows, ver 9.0* SAS Institute Inc. Cary, North Carolina. EUA.
- Skoog DA, Holler FJ, Crouch SR (2008) *Principios de análisis instrumental*. 6a. ed., Cengage Learning, México, D.F., 1064 pp.
- Stephens FL, Bonner JS, Autenrieth RL, Mc Donald TJ (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 pp.
- Szolar OHJ, Rost RB, Loibner AP (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.
- USEPA (1996) *Test methods for evaluating solid waste. Physical/chemical methods*. Environmental Protection Agency United States of America publication (SW-846 on-line). Third edition.
- Vallejo V, Salgado L, Roldan F (2005) Evaluación de la Bioestimulación en la biodegradación de TPHs en suelos contaminados con petróleo. *Revista Colombiana de Biotecnología* 7(2): 67-68.
- Van Schooten FJ, Moonen EJC, Van der Wal L, Levels P, Kleinjans JCS (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(3): 317-322.
- Villalobos M, Avila-Forcada AP, Gutiérrez-Ruiz E (2008) An improved gravimetric method to determine total petroleum hydrocarbons in contaminated soils. *Water Air Soil Pollution* 194(1): 151-165.
- Wade LG (1993) *Química orgánica*. 2da. ed. Prentice-Hall, México, D.F., 1312 pp.
- 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 pp.
- Zavala CJ (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 pp.
- Zavala-Cruz J, Gavi-Reyes F, Adams-Schroeder RH, Ferrara-Cerrato R, Palma-López DJ, Vaquera-Huerta H, Domínguez-Esquivel JM (2005) Derrames de petróleo en suelos y adaptación de pastos tropicales en el activo Cinco Presidentes, Tabasco, México. *Terra Latinoamerica*. 23(3): 293-302.

Zavala-Cruz J, Palma-López DJ, Morales GMA (2010) Suelos de la cuenca baja del río Tonalá, Tabasco (WRB, 2007). En: Zavala-Cruz J, García LE, Palma-López DJ, Guerrero PA (eds.). Suelos y vegetación de la cuenca baja del río Tonalá, Tabasco, México. Colegio de Postgraduados, CCYTET. En prensa.

