

# Desarrollo y validación de un método micro-SARA para la determinación de fracciones orgánicas de crudo en aguas de producción petrolera con tratamiento anaeróbico

*Vladimir Díaz, Roberto Bauza, Nuri Cepeda, Elisabeth Behling, Altamira Díaz, Nola Fernández y Nancy Rincón\**

<sup>1</sup>Laboratorio de Instrumentación Analítica, Departamento de Química, Facultad Experimental de Ciencias. Apartado 526, Maracaibo 4001-A.

<sup>2</sup>Departamento de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Escuela de ingeniería Civil, Universidad del Zulia.

Recibido: 16-01-06 Aceptado: 20-12-06

## Resumen

En esta investigación se describe la modificación, a escala micro (5–300 mg de crudo), de una extracción en fase sólida SARA para evaluar las fracciones orgánicas de crudo (saturados, aromáticos, resinas y asfaltenos) presentes en las aguas de producción petroleras (APP) antes y después de ser sometidas a tratamiento anaeróbico. Se evaluaron diferentes protocolos del método SARA propuestos en la literatura de tal forma de poder lograr obtener una fase móvil y estacionaria que permitiera alta selectividad en la separación de las fracciones SARA. La modificación involucró la reducción de las dimensiones de la columna cromatográfica para un diámetro interno de 5 mm. El reactor anaeróbico fue del tipo UASB a escala laboratorio alimentado con flujo continuo, a una temperatura controlada de 37°C, para tratar APP con carga orgánica de 1,5 KgDQO/m<sup>3</sup>.d. Se ensayaron distintos solventes en soluciones puras, binarias y sucesivas con diclorometano, éter de petróleo y tolueno para la extracción líquido-líquido (ELL) de las aguas de producción tratadas con el reactor anaeróbico, con la finalidad de aislar el crudo y preparar una dispersión en fase sólida de crudo-alúmina para la posterior separación cromatográfica. Los resultados revelaron una alta eficiencia y reproducibilidad de las medidas obtenidas además de una reducción del tiempo del análisis cromatográfico de 110h a 4 h. Al usar el método en APP con digestión anaeróbica se observó una reducción de las fracciones orgánicas de hasta 91% para las resinas y 71% para los asfaltenos y saturados.

**Palabras clave:** Aguas de producción petrolera; digestión anaeróbica; SARA; UASB.

\* Autor para la correspondencia. E-mail: nancycomotorincon@hotmail.com

# Development of micro-SARA method for organic fractions of crude oil determination on the oil extraction production waters with anaerobic treatment

## Abstract

This research present the modification, to a micro scale (5-300 mg of crude oil), from an extraction of solid phase of SARA, to determine the organic fractions of crude oil (saturateds, aromatics, resin and asphaltenes) that are found on the oil extraction production waters, (OEPW), before and after been treated by anaerobic means. Different protocols of SARA method were evaluated that are proposed on regular literature, such to obtain a mobile and stationary phase which can allow high selectivity on the SARA separation. The modification involved the reduction on the internal diameter of the chromatograph column to 5 mm. The anaerobic reactor used was UASB type at laboratory scale; it was feed by continuo flow, to a controlled temperature of 37°C and an organic load of 1.5 KgCOD/m<sup>3</sup> d. Different pure solvent solution were tested, such as; binaries and successive with dichloromethane, petroleum ether and toluene, for the liquid and liquid extraction of the treated oil production waters, treated by the anaerobic reactor. The aim of these presidiums was to isolate the crude oil and to prepare dispersion in solid phase mainly from crude oil and alumina for later chromatograph separation. The results show a high degree of efficiency and reproducibility on the data obtained. On the other hand the analysis time of execution was reducing from 11 to 4 hours. The organic fraction reduction observed was around 91% for resins and 71% for asphaltenes and saturateds.

**Key words:** Oilfields produced water; SARA; treatment anaerobic; UASB.

## Introducción

La separación de la emulsión agua-petróleo durante el proceso de extracción de petróleo genera, producto de la deshidratación del crudo, un residuo líquido denominado *aguas de producción (APP)* (1). En ellas se encuentran disueltas fracciones del crudo, tales como compuestos saturados, aromáticos, resinas y asfaltenos, donde la fracción aromática merece mayor atención por constituirse de fenoles y poliaromáticos, entre otros, con elevado carácter teratogénico (2). Una alternativa viable para el tratamiento de las APP es someterlas a digestión anaeróbica empleando reactores con lechos de lodos en flujo ascendente (UASB) (3).

La composición orgánica de las aguas tratadas por digestión anaeróbica presenta drásticas disminuciones en su fracción orgánica, siendo necesario disponer de mi-

cro-métodos de tratamientos analíticos para su determinación. La metodología SARA (separación de fracciones del crudo en saturados, aromáticos, resinas y asfaltenos) ha sido ampliamente estudiada y referenciada para el análisis de crudos (4-8). Usualmente la cromatografía SARA emplea sistemas de columnas de vidrio de dimensiones típicas con diámetros internos que van desde 1 cm hasta 3 cm. La cromatografía de adsorción SARA se atribuye a los trabajos pioneros de Jewel y col. (9) quienes caracterizaron crudos pesados con tratamientos previos de columnas cromatográficas de adsorción. Segovia y col. plantearon aumentar la especificidad en la adsorción introduciendo mezclas de tipo aceptores de electrones/donadores observándose fracciones específicas denominadas aromáticos I y aromáticos II (4). La alúmina permite a través de la polarizabilidad de sus p o electrones una superficie

fuertemente positiva. Una combinación de energía y adsorción cromatográfica fue propuesta por Carrión y col. (10) Márquez y col. (11) quienes iniciaron los estudios de fraccionamientos de asfaltenos.

En el presente trabajo se presenta un estudio sobre el desarrollo de un sistema cromatográfico SARA a escala microanalítica que permita determinar niveles de concentración de 5 hasta 300 mg de crudo obtenidos usando 4 litros de APP.

## **Materiales y Métodos**

### **Preparación de muestra**

Se empleó APP tomadas del clarificador ubicado en el patio de tanques Punta de Palmas, refinería Bajo Grande (Municipio Urdaneta – Estado Zulia). Estas muestras se sometieron a digestión anaeróbica usando un reactor de lecho de lodo con flujo ascendente (UASB) de 2,5 litros. Los parámetros operacionales del sistema de tratamiento biológico fueron: caudal de 1,736 mL/min, tiempo de retención hidráulica (TRH) de 24 h, carga orgánica de 1,5 KgDQO/m<sup>3</sup>.d, la temperatura de tratamiento fue de 35°C. La Demanda Química Oxígeno del APP (DQO) fue igual a 1500 mg/L. La DQO se midió siguiendo la metodología estándar (12). El sistema tardó aproximadamente 1 mes en conseguir condiciones de estabilidad, reflejadas con una remoción de la DQO de 75% (Etapas de Estabilización). Luego de esta condición, se tomaron las muestras a la salida del sistema de tratamiento para la aplicación de las metodologías SARA. Asimismo, se analizaron muestras APP a la entrada del tratamiento biológico. El reactor funcionó durante 3 meses consecutivos a flujo continuo. El volumen de muestra para cada ensayo fue de 4000 mL de APP y se aplicó ELL. Para la extracción orgánica se emplearon los siguientes solventes: diclorometano, éter de petróleo y tolueno, todos de marca comercial Merk y con pureza grado HPLC. Los solventes se aplicaron en forma pura, secuencial y en soluciones binarias. Los ensayos se realizaron por triplicado. Una vez obtenida

la muestra de crudo separadas de las APP aplicando ELL, se trató por dos vías a) separación de los maltenos a través de precipitación de los asfaltenos con n-hexano y b) uso del crudo completo (asfaltenos y maltenos) para analizarse con el método SARA de referencia detallado más adelante.

### **Tratamiento con separación de maltenos**

La muestra de crudo se mezcló con n-heptano en una proporción 40:1 (mL heptano: g de crudo) se agitó por 3 h, y se dejó asentar por 16 horas. El sobrenadante se filtró en vacío con membrana de 0,45 µm de diámetro de poros. El precipitado se lavó varias veces con n-heptano hasta que no se observó color en el solvente de lavado. La fracción soluble en heptano es la muestra desasfaltada empleada en el presente estudio.

### **Tratamiento sin separación de maltenos**

Para fines de estudio del método de referencia, se preparó una dispersión crudo/alúmina con pequeños volúmenes de n-heptano para lograr la homogeneización del material y se mezcló hasta lograr una consistencia sólida y seca. Esta dispersión se denominará slurry en este trabajo.

### **Metodologías SARA**

**Método SARA de referencia.** El método empleado está basado en la propuesta de Segovia y col., (5) brevemente, se prepara un slurry con rango de crudo aplicado entre 5 a 300 mg. Se empleó una columna de vidrio 60 x 1 cm d.i.. El slurry se colocó en el tope de la columna. Se colocó fibra de vidrio por encima de la muestra para actuar como amortiguador del flujo de solvente. El tope se llenó lentamente con n-heptano. Se pasaron aproximadamente 30 a 50 mL de heptano por gravedad hasta que no se observó color en el efluente de la columna y se colocó la fracción de n-heptano (denominada saturados). Luego se pasaron 30 a 50 mL de una mezcla de tolueno para coleccionar la fracción de aromáticos. Posteriormente un volumen igual de tolueno con una pequeña porción polar de metanol (0,6% v/v) para coleccionar las

Tabla 1  
Fraccionamiento de crudo obtenido en APPT con distintas fases estacionarias y columna convencional

Fase estacionaria	Columna de 60 cm x 1 cm d.i.	
	Alúmina	Sílice
Volumen de APPT (L)	4L	4L
Crudo extraído (mg)	292	235
Tiempo de análisis (h)	72	110
% saturados	3 ± 23 %	3 ± 15 %
% Aromáticos	48 ± 25 %	45 ± 19 %
% Resinas	9 ± 9 %	5 ± 24 %
% Asfaltenos	1 ± 9 %	1 ± 8 %
Consumo de solventes (mL)	30-50	40-55

resinas. Finalmente, se agregó aproximadamente 30 a 50 mL de una mezcla de acetoni-trilo, dimetilformamida y metanol (6: 6,25: 1,5 v/v) para colectar la fracción asfálténica. Todas estas fracciones se concentraron en rotavapor a sequedad.

**Micro - SARA.** La metodología empleada se basó en el método referencial. Primeramente se utilizó la misma columna pero se cambió la fase estacionaria a sílice (Tabla 1). Luego se modificaron las dimensiones de la columna de 60 cm x 1 cm d.i. (método referencial) a 26, 8 cm x 0,50 cm d.i. (Figura 1), dejando sílice en la fase estacionaria. Por último, se precipitaron los asfaltenos siguiendo el método de tratamiento con separación de maltenos. En la Figura 2 se han señalado en recuadros grises las etapas que se adaptaron y evaluaron a las exigencias microanalíticas definitivas. Para la fase móvil se mantuvo el mismo procedimiento descrito en el método referencial, sólo que los volúmenes requeridos de eluentes (n-heptano, tolueno y tolueno con una pequeña porción polar de 0,6 % de metanol), variaron dependiendo del ensayo realizado. Para la visualización o revelado de la fracción aromática se utilizó una lámpara ultravioleta aprovechando la fluorescencia emitida por estos compuestos al ser expuestos a esa longitud de onda.

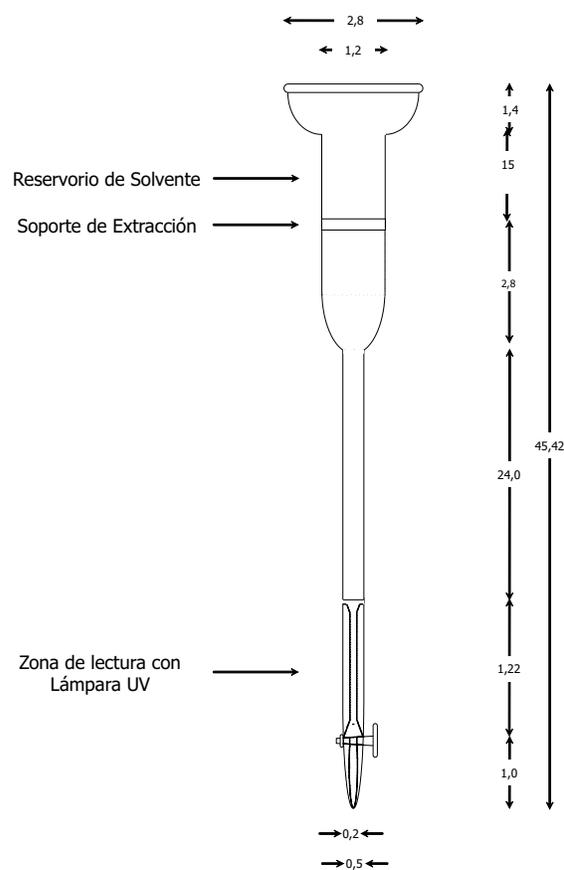


Figura 1. Columna adaptada para el micro-SARA.

### Validación del método micro-SARA

El método desarrollado se validó con una muestra modelo preparada como sigue: en un embudo de separación se agregó 25 mL de agua destilada y 50 mg de crudo liviano (BA-1531) y se agitó por un periodo de aproximadamente 30 minutos para dejar en reposo durante 2 horas. Se extrajo el crudo de esta muestra mediante ELL. Se tomaron tres réplicas de 5 mL y se evaluaron por el método oficial ASTM (13) y contrastado con el método micro-SARA con separación de asfaltenos antes del análisis cromatográfico.

### Resultados y Discusión

Previo al método desarrollado se evaluó la eficiencia y selectividad de extracción ELL con las muestras de APP antes y a la salida del tratamiento anaeróbico. Se usaron tres modos de solventes: puro, secuencial y mezcla binaria. Se evaluó la cantidad de muestra en la eficiencia de extracción con un rango de 5 a 300 mg de crudo. Se observó que la mayor eficiencia se obtuvo con la extracción secuencial de diclorometano seguido de éter de petróleo. Asimismo, se observó buena recuperación (cerca de 93%) para niveles de masa de crudo de matrices APP de 5 mg y cerca de 90 mg de crudo para matrices sin tratamiento anaeróbico. El umbral de concentración de estas matrices es mayor para las aguas sin tratamiento debido a que el crudo presente en ellas no ha sido biodegradado.

### Adaptación a microanálisis de la cromatografía SARA

En la Figura 2 se observa un cuadro comparativo de las modificaciones y adaptaciones innovadoras que se realizaron en la cromatografía SARA convencional propuesta por el método de referencia. Se incluyó una separación de asfaltenos y maltenos previo a la separación cromatográfica a pequeña escala debido a que la escala microanalítica es susceptible a mayores interferencias de fondo de matriz en especial que el soporte cromatográfico puede presentar mayores efectos residuales de memoria. Se ha

mantenido la selectividad del método de referencia al incluir los mismos solventes.

### Validación del método micro-SARA a matrices de aguas tratadas

La Tabla 1 presenta los resultados obtenidos del fraccionamiento de crudo extraído en aguas de producción tratadas (APPT) usando la columna del método de referencia y distintos materiales en la fase estacionaria. Se puede observar que la cantidad de crudo durante la extracción orgánica para 4 L de muestra fue de 292 mg y 235 mg en promedio para ambos ensayos en las fases estacionarias. Luego de la extracción cromatográfica se obtuvo porcentajes de 3% de saturados, 48% de aromáticos, 9% de resinas y 1% de asfaltenos (p/p) en las distintas fracciones con alúmina. Por otra parte, usando sílice los resultados fueron: 3% de saturados, 45% de aromáticos, 5% de resinas y 1% de asfaltenos (p/p). Los dos materiales (sílice y alúmina) no originaron resultados distantes en cuanto a la composición de las distintas fracciones, sin embargo, el tiempo de elución para el análisis bajó significativamente de 110 h a 72 h con el cambio de alúmina como fase estacionaria. El porcentaje de pérdida para la muestra con columna conteniendo alúmina fue de 39% comparado con un 46% obtenida con sílice. Estas pérdidas de crudo pueden haberse originado por un % de volatilización de las fracciones livianas, y también por una no recuperación de los compuestos que pueden quedar contenidos en la columna. Además, la sílice posee tamaños de poros entre 40 Å y 150 Å, con poca efectividad de excluir las moléculas más grandes y menor adsorbabilidad de los compuestos de la muestra. El consumo de eluyente también disminuyó hasta 30 mL en contraste de un mínimo de 40 mL cuando se usa sílice. Estas razones llevaron a probar con una nueva columna de dimensiones menores (Figura 1) y de escoger la alúmina como fase estacionaria en las nuevas pruebas. En la Tabla 2 se presentan los resultados obtenidos.

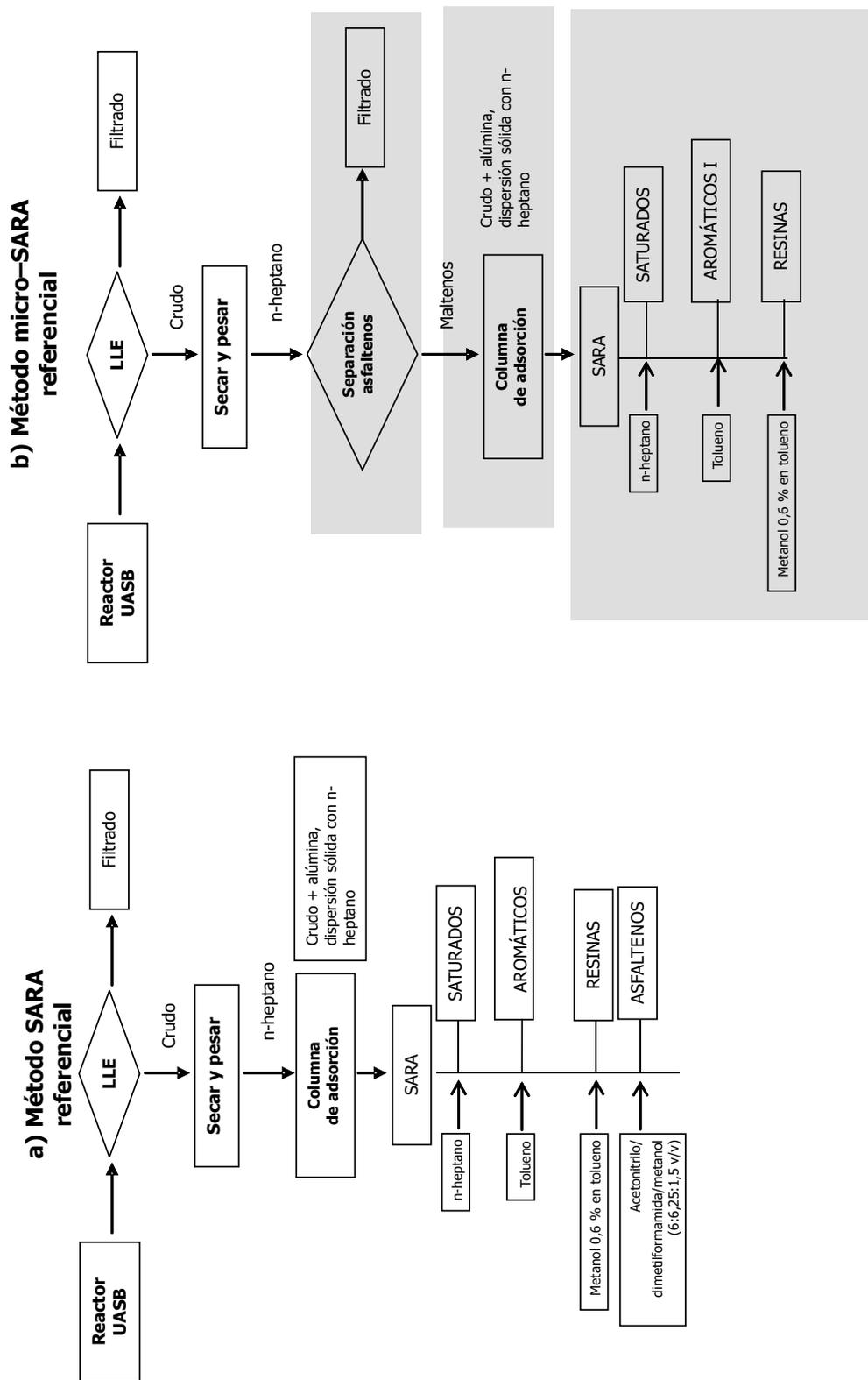


Figura 2. Metodologías SARA empleadas en este estudio. a) Metodología de referencia en la validación del método desarrollado y b) Método micro-SARA. Se resalta en recuadro gris las etapas modificadas y adaptadas del método de referencia.

Usando la columna modificada del micro SARA y la misma cantidad de crudo extraído las fracciones revelaron porcentajes de saturados 2 y 1, aromáticos 50 y 52, resinas 2 y 6 y asfaltenos 1 y 8 respectivamente para ambos ensayos. Es importante resaltar que los resultados de la segunda columna contempla la separación de los asfaltenos antes del análisis cromatográfico utilizando el tratamiento con separación de maltenos anteriormente explicado. El aumento de asfaltenos encontrado en el segundo ensayo puede indicar que esa fracción quedaría atrapada dentro de la columna en los ensayos anteriores debido a la estructura compleja de esa fracción y que el grupo de carácter polar (N,O,S) retardaría el proceso de elución del mismo quedando retenidos en la columna. Otro factor importante se presenta con la disminución significativa tanto del volumen de solvente en la fase móvil y bajando a valores de 3 mL mínimo y sobre todo el tiempo de duración del ensayo que se reduce a 4 horas, lo que origina una opción válida y un instrumento útil para la caracterización de las distintas fracciones orgánicas contenidas en aguas de producción petrolera con su respectivo ahorro que esto implicaría. Por otra parte, usando la columna de 60 cm x 1 cm de.i. (Tabla 1), las dispersiones encon-

tradas son muy elevadas, lo que indica la no reproducibilidad de los datos encontrados, al igual que usando alúmina sin precipitación de los asfaltenos (Tabla 2), este factor también fue decisivo para la escogencia del método a aplicar.

La Tabla 3 presenta los resultados de la validación del método micro-SARA en la determinación de fracciones orgánicas en una muestra modelo de agua con crudo mediano (BA-1531). Puede observarse que no existe diferencia significativa entre los valores encontrados para las resinas 30 y 29,90 y asfaltenos 15 y 13. En cuanto a los porcentajes de saturados de 35,87 y 46,80 y aromáticos 18,72 y 10, los valores son considerados cercanos en ambos casos a pesar de que no se tienen las incertidumbres de estos análisis interlaboratorios.

#### **Evaluación de la degradación biológica de las distintas fracciones usando micro-SARA**

El reactor biológico funcionó durante 3 meses, el mismo se inoculó con 170 g/L de SST de un lodo granular proveniente de un reactor UASB que degrada aguas de una cervecería. El sistema de tratamiento usando un reactor UASB permite, por su concep-

Tabla 2  
Fraccionamiento de crudo obtenido en APPT utilizando alúmina y escala micro

	Columna de 3,8 cm x 1,2 cm d.i. + 24 cm x 0,50 cm d.i.	
Fase estacionaria	Alúmina	Alúmina
Volumen de APPT (L)	4L	4L
Crudo extraído (mg)	195	195,3
Tiempo de análisis (h)	10	4
% saturados	2 ± 12 %	1 ± 3 %
% Aromáticos	51 ± 12 %	52 ± 0,5 %
% Resinas	2 ± 8,9 %	6 ± 1,6 %
% Asfaltenos	1 ± 6 %	8 ± 0,9 %*
Consumo de solventes (mL)	10 – 12	3 – 5

\* Precipitación de asfaltenos antes de la separación en columna.

Tabla 3  
Validación del método micro-SARA en la determinación de fracciones orgánicas en una muestra modelo preparada de agua con crudo mediano (BA-1531)

Método	Fracción orgánica SARA			
	Saturados	Aromáticos	Resinas	Asfaltenos
Micro-SARA propuesto	35,87 ± 0,90	18,72 ± 0,70	30,00 ± 2,80	15,00 ± 0,30
Oficial*	46,80	10,10	29,90	13,00

\* Método ASTM D2007-75. No se tienen las incertidumbres de estos análisis interlaboratorios.

ción, separar el tiempo de retención celular (TRC) del TRH.

Para comprobar la actividad anaeróbica de este lodo, durante la primera semana, el sistema de tratamiento se mantuvo a flujo continuo alimentado con un agua residual preparada con glucosa (sustrato biodegradable) como única fuente de carbono, con un TRH de 24 horas de manera que diariamente se renovaba el agua residual dentro del reactor. En estas condiciones, se evaluó la DQO en el efluente, encontrando valores inferiores a 100 mg/L, correspondiente a un 90% de remoción orgánica, indicando de esta manera que el lodo biológico estaba activado y degradaba satisfactoriamente la materia orgánica que estaba entrando al sistema. En este momento el reactor comenzó a ser alimentado con APP, permaneciendo constantes las condiciones operacionales hasta el final de la experimentación.

Al final de la tercera semana con el APP de afluente, se observaron condiciones de estabilidad en el sistema de tratamiento, reflejado por una remoción de DQO de 75% en promedio, consiguiéndose en esas condiciones valores de DQO en el efluente de 375 mg/L. Las APP están constituidas principalmente por hidrocarburos por lo que se midió la concentración de los hidrocarburos totales, encontrándose una remoción de 78% de los hidrocarburos totales contenidos en las APP, luego del tratamiento anaeróbico.

También la producción de biogás se evaluó durante el funcionamiento del sistema anaeróbico, el biogás se midió por desplazamiento de agua. El sistema produjo 600mL de biogás/grDQO removido, lo que infiere una elevada actividad microbológica, aunque no se descarta que un porcentaje de remoción de las fracciones livianas de hidrocarburos puedan haberse volatilizado y/o un porcentaje de la remoción del mismo puedan haber sido adsorbido por el lodo granular existente en el reactor, sin embargo, las máximas remociones podrían deberse a la degradación biológica por los resultados hallados en biogás y DQO. Las APP provenientes del Patio de Palmas corresponden a la APP de la extracción de petróleo liviano. Un estudio anterior realizado por Rincón y col. (3) demostró una elevada biodegradabilidad anaeróbica de APP provenientes de la extracción de petróleo liviano de muestras procedentes del Patio de Tanques ULÉ (Tía Juana-Venezuela), ambos yacimientos pertenecientes a la región occidental del país.

El método micro-SARA desarrollado fue aplicado a las APP a la entrada y salida del sistema anaeróbico con el objeto de evaluar la remoción orgánica de las distintas fracciones de crudo presente, los resultados se resumen en la Figura 3. La eliminación más alta correspondió a las resinas con una concentración en promedio de 40 mg/L en la entrada y 3,5 mg/L a la salida, que corresponde a un 91% de remoción, los asfaltenos se eliminaron en un 71%, a pesar de ser con-

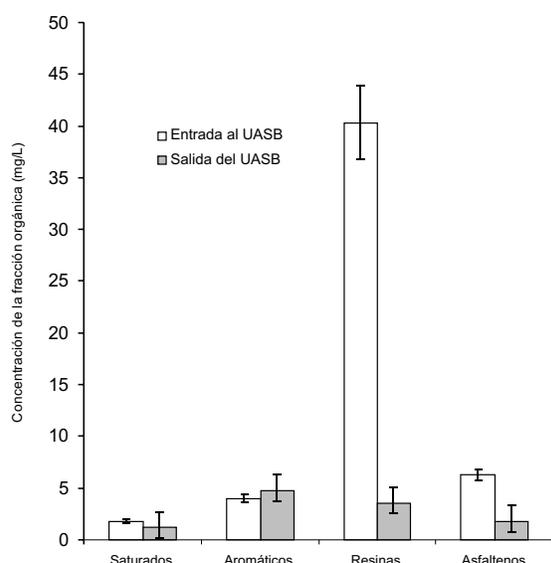


Figura 3. Validación del método desarrollado microSARA de muestras de aguas de producción petrolera con tratamiento anaeróbico.

siderados la fracción más recalcitrante del crudo para degradación biológica (14). La concentración de aromáticos a la salida del tratamiento aumentó de 4 mg/L a 6 mg/L. Con respecto a los compuestos saturados se observó una remoción del 72%. El aumento de la fracción aromática se debió posiblemente a que fracciones más pesadas como asfaltenos, generan producto de su degradación compuestos aromáticos (14). También Swanell y col., reportan un incremento de los aromáticos y saturados, al disminuir las fracciones pesadas del petróleo después de un tratamiento biológico de muestra de un derrame de petróleo (15).

Esta metodología desarrollada permite un conocimiento más preciso del comportamiento de cada fracción de crudo presente. Los resultados sugieren un cuidado especial del análisis de los compuestos aromáticos que se generan producto de la degradación orgánica, sobre todo con el cono-

cimiento de que en esa fracción se encuentran compuestos como poliaromáticos, fenoles, entre otros, que pueden ejercer un efecto negativo al ser descargados al medio ambiente, siendo catalogados por la agencia de protección del ambiente de EUA (EPA) como prioritarios por su posible efecto cancerígeno. Por lo que se recomienda el análisis de compuestos aromáticos aún presentes en APP luego de su tratamiento y la aplicación de un post-tratamiento para la eliminación de este residuo.

## Conclusiones

La ELL seguido por el método Micro-SARA demostró ser una herramienta útil y económica comparada con el método convencional a ser utilizada por la industria petrolera para la determinación de los compuestos saturados, aromáticos, resinas y asfaltenos presentes en aguas de producción petroleras de los distintos crudos, afirmación que se demuestra por la disminución de tiempo de análisis de 110 h a sólo 4 h y la disminución del volumen de la fase móvil de 55 mL a 3 mL.

Al ser aplicado el método Micro-SARA para evaluar la degradación de las distintas fracciones de crudo presentes en AP provenientes del clarificador del patio de tanques Punta de Palmas, se observó una reducción importante tanto de la fracción de los asfaltenos, saturados y resinas, sin embargo la fracción aromática sufrió un leve aumento debido posiblemente a que los mecanismos de degradación anaerobia de las resinas originan compuestos aromáticos, lo que indica que esta fracción debe ser analizada cuidadosamente antes de decidir el vertido del efluente al medio ambiente.

## Agradecimiento

Este trabajo fue realizado gracias al financiamiento del Fondo Nacional de la Ciencia y la Tecnología (FONACIT).

## Referencias Bibliográficas

1. PEÑA Y., COLINA J. Análisis de opciones para el manejo de aguas efluentes patio de tanques ULé. Gerencia Técnica Ingeniería de procesos de producción de PDVSA, Informe Anual, Patio de tanques ULE, Tía Juana, Estado Zulia (Venezuela), p. 75, 2000.
2. **US EPA.** Guidance for reporting toxic chemicals within the polycyclic aromatic compounds category. Toxics release inventory. p. 88, 1999.
3. RINCÓN N., CHACÍN E., MARÍN J., TORRIJOS M., MOLETTA R., FERNÁNDEZ N. *Environmental Technology* 24: 963-970, 2003.
4. SEGOVIA S. Optimización del método SARA para separar saturados, aromáticos, resinas y asfaltenos de crudos pesados (Tesis de grado). La Universidad del Zulia, Maracaibo (Venezuela), pp. 103, 1995.
5. VASQUEZ G., EXCOBEDO J., MANSOORI G. Characterization of crude oils from southern Mexican oil fields. *International Petroleum Technology Exhibition. Proceeding of the Exitep 98. Palacio de los Deportes*, Mexico City, Mexico D.F. 15<sup>th</sup>-18<sup>th</sup> Novembre, pp. 230-240, 1998.
6. SHOENMAKERS P. *Optimization of chromatographic selectivity*. Elsevier, Journal of chromatography library-35, chapter 4 pp.116-145. 1986.
7. SHOENMAKERS P. *Optimization of chromatographic selectivity*. Elsevier, Journal of chromatography library-35, chapter 5, pp.170-179. 1986.
8. KLAUS H., GONW T. Chromatography of heavy petroleum fractions. *Advances in Chromatography*. Edit. R.L. Grob. Chapter 3. pp. 71-165, 1980.
9. JEWHEEL D., WEBER J., BUNGER J., PLANCHERLATHAM D. *Analytical Chemical* 44: 361-366, 1972.
10. CARRION N., ESCALONA A., RAMIREZ E., MUÑIZ P., ITRIAGO A., MONTES L., BRUSSIN R., SEPÚLVEDA G. *Acta Científica Venezolana* 37: 140-146, 1986.
11. MARQUEZ N., PAREDES J., ALVARADO I., DE LA CRUZ C. *Ciencias* 6(3): 78-88, 1988.
12. **APHA, AWWA, WEF.** Standard Methods for the Examination of water and wastewater. 20<sup>th</sup> ed. Am. Public. HLTH Assoc. Washington, DC, p. 1207, 1998.
13. **ASTM D2007-02.** Standard test method for characteristic groups in rubber extender and processing oils and other petroleum derived oils by the clay-gel adsorption chromatographic. pp. 1-8, 2002.
14. PINEDA G., MESTA A. *Latinoamericana de Microbiología* 43(3): 143-150, 2001.
15. SWANELL R., LEE K., MCDONAGH M. *Microbiology* 60: 342-365, 1996.