

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO  
NARRO”

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CIENCIAS AGRONÓMICAS



**“DETECCIÓN DE H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> EN AGUA DE LLUVIA POR EL MÉTODO  
FENTON-OHBA DE ADICIONES DE ESTÁNDAR”**

POR

SARA GABRIELA MARES DE LEÓN

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN PROCESOS AMBIENTALES

TORREÓN, COAHUILA

DICIEMBRE 2013

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"  
UNIDAD LAGUNA  
DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

DETECCIÓN DE H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> EN AGUA DE LLUVIA POR EL MÉTODO FENTON-OHBA DE  
ADICIONES DE ESTÁNDAR

Por:

SARA GABRIELA MARES DE LEÓN

TESIS

Que somete a consideración del Comité Asesor, como requisito parcial para obtener el  
título de:

INGENIERO EN PROCESOS AMBIENTALES

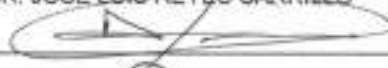
APROBADA POR:

Asesor principal:



DR. JOSÉ LUIS REYBS CARRILLO

Asesor:



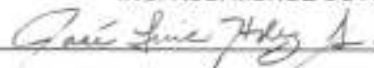
DR. ALFREDO OGAZ

Asesor:



ING. RUBI MUÑOZ SOTO

Asesor:



DR. JOSÉ LUIS HERNÁNDEZ LÓPEZ



DR. FRANCISCO JAVIER SÁNCHEZ RAMOS

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS



División de la División de  
Carreras Agronómicas

TORREÓN, COAHUILA

DICIEMBRE, 2013

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"  
UNIDAD LAGUNA  
DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

TESIS DE LA C. SARA GABRIELA MARES DE LEÓN QUE SE SOMETE A LA  
CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OBTENER EL TÍTULO DE:

**INGENIERO EN PROCESOS AMBIENTALES**

H. JURADO:

PRESIDENTE: \_\_\_\_\_

DR. JOSÉ LUIS REYES CARRILLO

VOCAL: \_\_\_\_\_

DR. ALFREDO OGAZ

VOCAL: \_\_\_\_\_

ING. RUBÉN MUÑOZ SOTO

VOCAL SUPLENTE: \_\_\_\_\_

DR. JOSÉ LUIS HERNÁNDEZ LÓPEZ

DR. FRANCISCO JAVIER SÁNCHEZ RAMOS

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS



Coordinación de la División de  
Carreras Agronómicas

TORREÓN, COAHUILA

DICIEMBRE, 2013

## DEDICATORIA

A Dios, por permitirme llegar a esta etapa de mi vida. A mi mamá, Sara María De León Sosa que a pesar de las dificultades, me hizo ver todo pasa por una razón y el amor incondicional existe. A mi padre, Fernando Mares Gallardo que ha hecho lo posible de mantener esa armonía entre la familia y ser una persona muy paciente. A ambos, quienes a pesar de todo han sido pacientes conmigo. A mi hermana Mafer Mares de León, quien me ha sacado muchas sonrisas por su manera peculiar forma de apoyarme desde lejos, te quiero hermana.

A mis abuelos Carmen de León y Dimas de León (q.e.p.d.). A mis tías favoritas Carmelita y Lalis, y al resto de la familia también.

## AGRADECIMIENTOS

El trabajo de tesis titulado “Detección de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en agua de lluvia por el método Fenton-OHBA de adiciones de estándar”, es un trabajo original y fue desarrollado en el Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica, CIDETEQ S. C., en la ciudad de Querétaro, Qro., por la C. Sara Gabriela Mares de León para obtener el título de Ingeniero en Procesos Ambientales

El proyecto de investigación cuenta con la calidad y el rigor científico requerido, realizado bajo la dirección del Dr. José Luis Hernández López, a quien expresó un profundo agradecimiento por contar con la paciencia y creer en mí para poder vivir esta inolvidable experiencia de realizar una tesis y mostrarme el mundo de la investigación, por y eso y más gracias.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro y a todos los profesores que dan lo mejor de sí día con día para formar las próximas generaciones de profesionistas y por mostrarnos lo hermoso de la carrera de Procesos Ambientales. A mi profesor, Dr. José Luis Reyes Carrillo, por su tiempo y paciencia que me ha propocionado para poder concluir esta etapa, gracias y a mis asesores Dr. Alfredo Orgaz, Ing. Rubí Muñoz. Al resto de mis profesores de la carrera: Ing. Cinthia Dinorah, Ing. Miguel Ángel Urbina, M.C. Amanda Jaramillo, Dr. Vicente de Paul, Ing. Quirino, así como a todos los administradores de la institución.

A mis amigos: Martita que me da ánimos desde lejos diariamente. A David, mi casi hermano. A mi amigo de distancia Miguelito. Carmen, mi partner de conciertos, Natalia la hija adoptiva en casa, Stefy la mamá de las pollitas, Verito, Haydee, Ucan que hicieron una agradable estancia en esta institución y fueron grandes momentos de risas, y al resto de los compañeros que pasábamos por la cafetería de don Kiko para alegrarnos las horas de tiempo

libre. Aquellos amigos que tomaron otros caminos y me brindaron alegrías en algún momento. A Armando, gracias por tu tiempo y apoyo en este proceso, sobre todo por esa sonrisa diaria al verte después de mucho tiempo, por lo feliz que me haces hoy.

A mis compañeros que ahora son grandes amigos cidetequenses: Gaby, Carmensita, Nadia, Plasmonique, Pascale, en especial a Hugo, Flavio y Chuz, quienes compartieron conmigo muchas diversiones, me enseñaron a madurar y me dieron ánimos diariamente en mis momentos de negatividad. Espero que en algún momento nos volvamos a reunir y tengan grandes éxitos en su vida ya que se lo merecen, los quiero.

## INDÍCE

<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	VI
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	VIII
<b>ABREVIATURAS</b> .....	IX
<b>RESUMEN</b> .....	XI
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1. Objetivo general.....	3
<b>2. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	4
2.1. Ciclo biogeoquímico del agua .....	4
2.2. El agua de lluvia y su importancia .....	5
2.2.1. Antecedentes de estudios sobre la composición del agua de lluvia y H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	5
2.3. ¿Qué es el H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ?.....	7
2.3.1. Aplicaciones del H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	8
2.4. Formación de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> en fase gas .....	8
2.4.1. Formación de radicales OH• .....	8
2.4.2. Formación de radicales HO <sub>2</sub> •.....	9
2.4.3. Formación de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> en fase líquida.....	9
2.4.4. Reacción del H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> en presencia de metales de transición .....	10
2.4.5. Oxidación de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> con dióxido de azufre .....	10
2.4.6. Oxidación de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> con dióxido de nitrógeno .....	12
2.5. Impactos ambientales del H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	12
2.5.1. Decaimiento de los bosques.....	12
2.5.2. Lluvia ácida.....	13
2.6. Factores meteorológicos que afectan las concentraciones de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	14
2.7. Concentraciones a nivel global de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	15
2.8. Técnicas de caracterización de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> en agua de lluvia .....	15
2.9. Principio de espectroscopia de fluorescencia.....	17
2.10. Fenton OHBA .....	21
2.11. Curva de calibración.....	23
2.12. Método de adición estándar .....	25

2.12.1. Efecto matriz.....	28
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>31</b>
3.1. Área general.....	31
3.2. Localización del sitio experimental .....	32
3.3. Materiales.....	32
3.3.1. Reactivos químicos.....	32
3.3.2. Equipo instrumental/analítico .....	33
3.4. Metodología experimental .....	34
3.4.1. Construcción de una curva de calibración $\Delta F$ [cps] vs. $C_{H_2O_2}$ [ppm].....	34
3.4.2. Campaña de muestreo .....	38
3.4.3. Determinación de $H_2O_2$ en la muestra de agua de lluvia .....	39
3.5.3. Evaluación de parámetros fisicoquímicos de las muestras de agua de lluvia. ....	39
3.5.4. Obtención de datos meteorológicos.....	40
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>41</b>
4.1. Construcción de curva una de calibrado con $Al(NO_3)_3$ y sin $Al(NO_3)_3$ ....	41
4.2. Efecto de pH.....	45
4.3. Construcción de una curva de calibrado en función logística de 4 parámetros .....	46
4.4. Análisis de muestra real .....	48
4.5. Resultados de parámetros fisicoquímicos.....	50
4.6. Resultados de parámetros meteorológicos .....	52
5. CONCLUSIONES.....	53
6. PERSPECTIVAS.....	54
7. LITERATURA CITADA .....	55
<b>ANEXOS.....</b>	<b>61</b>



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1	Ciclo biogeoquímico del agua.....	19
Figura 2.2	Estructura molecular del H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	23
Figura 2.3	Mecanismos de reacción de especies químicas en fase gas implicadas en la formación de la lluvia ácida.....	26
Figura 2.4	Promoción de un electrón desde un orbital (HOMO) hasta un orbital (LUMO) dando lugar a un estado singulete.....	32
Figura 2.5	Representación de procesos mostrando la relajación de un estado electrónico excitado a un estado electrónico fundamental.....	33
Figura 2.6	Diagramas de energía comparando fluorescencia y fosforescencia.....	34
Figura 2.7	Representación gráfica del traslape de los espectros de absorción y fluorescencia de un trieno.....	35
Figura 2.8	Ejemplo de compuestos aromáticos fluorescentes.....	36
Figura 2.9	Representación gráfica de la recta de calibrado en un método de adición estándar.....	39
Figura 2.10	Análisis aplicando el método de adiciones patrón.....	41
Figura 2.11	Tratamiento gráfico de la experiencia de adición de patrón de la Fig. 2.10.....	43
Figura 2.12	Rectas de calibrado sin efecto matriz (a), y con exaltación (b) e inhibición (c) de la sensibilidad.....	44
Figura 3.1	Ubicación del sitio de muestreo en ITC en Celaya, Guanajuato.....	46
Figura 3.2	Diagrama de dibujos sobre el procedimiento para la adición de reactivos.....	51
Figura 3.3	Receptáculo de muestreo de agua pluvial.....	53
Figura 4.1	Espectros de fluorescencia del método Fenton-OHBA para la elaboración de una curva de calibración con agua DI sin el reactivo mejorador de fluorescencia (Al(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ).....	56
Figura 4.2	Espectros de fluorescencia del método Fenton-OHBA para la elaboración de una curva de calibración con agua DI con reactivo mejorador de fluorescencia (Al(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ).....	57
Figura 4.3	Curva de calibración ΔF 408 nm [cps] vs. c H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> [ppm]. Se compara el efecto de la adición de reactivo mejorador de fluorescencia (Al(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ) en el método Fenton-OHBA. ....	58
Figura 4.4	Procesos de formaciones de especies químicas por medio del método Fenton-OHBA .....	59
Figura 4.5	Diagrama de especiación de las formaciones de complejos a diferentes pH.....	61

Figura 4.6	Curva de calibración para determinar $H_2O_2$ en el intervalo de concentración de 0.01753- 3.0609ppm obtenida por medio de la técnica de espectroscopia de fluorescencia.....	62
Figura 4.7	Curva de $\Delta F @ 408 \text{ nm}$ [cps] vs. C $H_2O_2$ [ppm] realizada por el método de adición estándar.....	64

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1	Algunas constantes de la ley de Henry a 15 °C.....	25
Tabla 2.2	Algunos ejemplos de concentraciones de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> en agua de lluvia a nivel global.....	30
Tabla 2.3	Técnicas analíticas para la detección de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> en agua de lluvia y algunos parámetros de calidad analítica.....	31
Tabla 3.1	Sustancias empleadas en la metodología experimental.....	47
Tabla 3.2	Equipo instrumental/analítico empleado en metodología experimental.....	48
Tabla 3.3	Concentraciones de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> añadidas para realizar la curva de calibración.....	50
Tabla 3.4	Recipientes apropiados y preservación de muestra por parámetro.....	54
Tabla 4.1	Resultados de parámetros físicos de la muestra real.....	65
Tabla 4.2	Resultados de parámetros químicos de la muestra real.....	66
Tabla 4.3	Resultados de la estación meteorológica Tecnológico de la ciudad de Celaya el día 24/07/13 a las 21:00 hrs.....	67

## ABREVIATURAS

<i>ca</i>	<i>circa</i> (aproximadamente)
CONAGUA	Comisión Nacional del Agua.
cps	Cuentas por segundo.
DE	Desviación estándar.
DI	Agua desionizada
DQO	Demanda Química de Oxígeno.
Ec.	Ecuación
<i>e.g.</i>	<i>Exempli gratia</i> (por ejemplo).
EPA	Agencia de Protección Ambiental (acrónimo en inglés, Environmental Protection Agency).
FIA	Análisis de Inyección a Flujo Automatizado (acrónimo en inglés, FlowInjection Analysis).
HRP	Peroxidasa de rábano silvestre (acrónimo en inglés, Horseradishperoxidase).
<i>hν</i>	Fotón de luz.
HYDRA	Base de datos de las constantes de equilibrio hidroquímico (acrónimo en inglés, Hydrochemical Equilibrium-Constant Database).
Imp	Límites máximos permisibles.
LOD	Límite de Detección (acrónimo en inglés, Limit of Detection).
LOQ	Límite de Cuantificación (acrónimo en inglés, Limit of Quantification).
mM	Milimolar
nm	Nanómetro ( $1 \times 10^{-9}$ m).
NOM	Norma Oficial Mexicana.
OD	Oxígeno disuelto.
OHBA	Ácido <i>orto</i> -hidroxibenzoico (acrónimo en inglés, <i>ortho</i> -Hydroxybenzicacid).
ppm	Partes por millón.
R	Reacción

SMN	Servicio Meteorológico Nacional.
SST	Sólidos Suspendidos Totales.
UV-Vis	Ultravioleta y visible.

## RESUMEN

Un simple y sensible método fluorescente Fenton no automatizado es propuesto para la determinación de trazas de peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ) en muestras de agua de lluvia. El método está basado en la reacción de oxidación del ácido benzoico por  $H_2O_2$  catalizada por Fe (II) para formar una mezcla de ácidos orto-, meta- y para- hidroxibenzoicos (*orto*-, *meta*- y *para*-HBA). El incremento de la intensidad fluorescente de los isómeros se debe a la adición de Al (III) para formar un complejo que incrementa esta propiedad. Bajo condiciones óptimas, la curva de calibración fue obtenida entre la intensidad fluorescente y la concentración de  $H_2O_2$  en un rango de 0.01753 ppm a 3.0609 ppm, un límite de detección de 0.0171 ppm y un límite de cuantificación de 0.0454 ppm. La propuesta del método fue aplicado a determinar  $H_2O_2$  en muestras de agua de lluvia, y resultó satisfactorio. El mecanismo involucrado en la reacción también fue estudiado.

**Palabras clave:** análisis de trazas, espectroscopia de fluorescencia, contaminación atmosférica, lluvia acida, método analítico.

## 1. INTRODUCCIÓN

El peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ) es reconocido como uno de los más importantes oxidantes en la atmósfera, y contribuye al control de la composición de la química atmosférica a niveles de trazas (Gonçalves, 2010, Padilla *et al.*, 2007, Santos *et al.*, 2007). Su formación principal se presenta en la fase gaseosa por las interacciones del radical hidropéroxilo ( $HO_2\bullet$ ) que es producido a partir de la fotólisis del ozono.

El  $H_2O_2$  en fase gases extremadamente soluble en agua. En su fase líquida, es considerado uno de los más efectivos oxidantes para la conversión del dióxido de azufre ( $SO_2$ ) a ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ). Este último compuesto es el principal constituyente en la acidificación del agua de lluvia (Weiha *et al.*, 1989). Las llamadas lluvias ácidas, son un problema actual que causa serios daños ambientales tales como: acidificación de lagos, daño a bosques, destrucción de monumentos históricos y erosión de suelos.

El papel que desempeña el  $H_2O_2$  ha sido estudiado extensivamente en la química ambiental y ciencias de la atmósfera a nivel mundial (Allen, 2012). Diversos investigadores (Mullaugh *et al.*, 2012, Gonçalves *et al.*, 2010, Watanabe *et al.*, 2009, Santos *et al.*, 2007, Kieber *et al.*, 2001, Peña *et al.*, 2001, Yuan y Shiller, 2000) han demostrado la existencia de una variación en la concentración de este compuesto que oscila desde cerca de 2.3 ppm a menos de 0.1 ppm. Otros investigadores han soportado este hecho resaltando la influencia de parámetros meteorológicos y fisicoquímicos presentes en el agua de lluvia (Lee *et al.*, 2008, Deng y Zuo, 1999). Debido a lo anterior, cobra vital importancia la determinación precisa de la concentración de  $H_2O_2$  en agua de lluvia con el fin de lograr una mejor comprensión del origen y transformación de diversos elementos en la atmósfera terrestre.

Se han reportado numerosos trabajos de investigación enfocados al desarrollo de técnicas instrumentales (e.g. fluorimetría, quimioluminiscencia, y fotometría) para la determinación sensible de este compuesto en agua de lluvia. Sin embargo, la mayoría de ellas se caracterizan por requerir infraestructura de laboratorio especializado, entrenamiento de personal capacitado, manejo de reactivos costosos, etcétera. Sin embargo, la fluorimetría es una técnica que sobresale por su gran sensibilidad, facilidad de operación y rapidez. Razones por las cuales, investigadores dedicados al estudio de ciencias de la atmósfera la han adoptado preferentemente para la realización de sus investigaciones en campo. (Mullaughet *al.*, 2011; Miller *et al.* 2008, Lee *et al.*, 2008, Kibieret *al.*, 2001). Dentro de los métodos analíticos que han sobresalido exitosamente se encuentra el método Fenton-OHBA en su versión FIA, el cual presenta la ventaja de emplear reactivos químicos de bajo costo, estables, fáciles de adquirir y que no requieren refrigeración. El método está basado en la reacción de oxidación del ácido benzoico por  $H_2O_2$  catalizada por Fe (II) para formar una mezcla de ácidos: orto-, meta- y para-hidroxibenzoicos (HBA), los cuales son analizados mediante detección fluorescente. Una versión reciente del mismo, hace uso de una sal de aluminio utilizado como un reactivo mejorador de la intensidad de la fluorescencia. Ambas versiones se caracterizan por su capacidad de minimizar interferencias debidas a metales de transición.

Debido a lo anterior, se decidió desarrollar una metodología analítica basada en el método Fenton-OHBA por medio de adición estándar, la cual considera el efecto de la matriz al cuantificar de manera práctica el  $H_2O_2$  en agua de lluvia. De esta manera, se formuló el siguiente objetivo y objetivos particulares de este trabajo de tesis:



### **1.1. Objetivo general**

Desarrollar una metodología analítica para la detección de  $H_2O_2$  en agua de lluvia, basada en el método Fenton-OHBA por adición de estándar.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Ciclo biogeoquímico del agua

Un ciclo biogeoquímico es un proceso natural que recicla elementos de diferentes formas químicas, desde el medio ambiente hacia los organismos, y después a la inversa. El ciclo del agua (**Fig. 2.1**) es uno de los tantos ciclos que existen en nuestro planeta y es imposible tener agua sin la conservación de este ciclo.



**Figura 2.1.**Ciclo biogeoquímico del agua (Centro Virtual de Información del Agua, 2012).

El ciclo del agua regula procesos biofísicos para las funciones ambientales vitales de los ecosistemas. A través de sus funciones físicas, químicas y biológicas, el agua controla procesos y patrones de los paisajes terrestres; químicamente, a través de la interacción de los sustratos y los gases encontrados en la atmósfera; físicamente, mediante los movimientos del agua en el sistema terrestre por la interacción de tres procesos básicos: la evapotranspiración, la escorrentía y la precipitación y/o agua de lluvia.

## **2.2. El agua de lluvia y su importancia**

La precipitación es el principal proceso dentro del ciclo del agua para el retorno del agua a la tierra, liberándose a través de las nubes en forma de nieve, granizo y lluvia, en donde la mayor parte de la precipitación se libera como lluvia (Centro Virtual de Información del Agua, 2012). El estudio del agua de lluvia nos provee de información relevante acerca de los recursos que contribuyen a su composición química, y de igual forma, nos ayuda a comprender la transferencia de químicos tóxicos desde la atmósfera hacia la superficie terrestre, desde un punto de vista ambiental (Krupa, 2002) y su dispersión de manera local, regional y mundial.

De acuerdo con Ibanez *et al.* (2007) el agua en la atmósfera tiene un tiempo de residencia de aproximadamente 8-9.6 días antes de precipitar como lluvia. El volumen global de precipitación que cae sobre la tierra cada año va del orden de  $5,8 \times 10^5 \text{ km}^3$ , de los cuales ca. del 21% cae sobre la tierra y 79% en el mar. El agua de lluvia es responsable del proceso de lavado y limpieza de la atmósfera por medio de la disolución de los gases y sales presentes en ella, así como del transporte de sustancias y partículas sobre la superficie de la tierra. Las partículas de minerales y sales lavadas por medio de la lluvia por lo general tienen un diámetro inferior a  $1 \mu\text{m}$ , otras partículas incluidas en el lavado son los microorganismos.

### **2.2.1. Antecedentes de estudios sobre la composición del agua de lluvia y $\text{H}_2\text{O}_2$**

El interés del ser humano por el estudio de la composición del agua de lluvia data desde principios de los 50's, cuando el investigador Eriksson realizó una investigación con el fin de obtener información acerca del impacto de los componentes de la lluvia con el suelo (Eriksson, 1952). Desde entonces, debido a las alteraciones que sufre el medio atmosférico, diversas investigaciones a lo largo de los años, a nivel mundial, buscan la forma de obtener y comprender la

composición atmosférica a través de la lluvia, por ser un elemento de gran disponibilidad y fácil recolección.

El estudio de la composición química ha recibido una atención especial alrededor del mundo durante la última década (Santos *et al.*, 2011). Diversas investigaciones llevadas a cabo, como la de Zhang *et al.* (2012), mencionan que la concentración iónica en la precipitación depende de la intensidad de emisión de las fuentes contaminantes y su incorporación en el sistema de transformación. El agua de lluvia es también una vía de información acerca de la lluvia ácida, o en un sentido más amplio, la deposición ácida que incluye nieve, granizo y lluvia. Contaminantes como dióxido de azufre ( $\text{SO}_2$ ) y dióxido de nitrógeno ( $\text{NO}_2$ ) presentes en la atmósfera terrestre modifican el pH de la lluvia al ocurrir su disolución y reacción a través de procesos de oxidación para dar paso a otros compuestos y acidificando el medio. Uno de los principales compuestos oxidantes involucrados en la acidificación de lluvia es el  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Kieber *et al.*, 2010). La lluvia ácida lidera uno de los mayores problemas ambientales debido al impacto en la flora, suelo y ambientes acuáticos. Al conocer su composición, se pueden tomar medidas necesarias con el fin de prevenir daños a los ecosistemas ambientales (Honorio *et al.*, 2010).

La primera evidencia de  $\text{H}_2\text{O}_2$  en lluvia durante una tormenta fue proveída por Georg Meissner (1829-1905) en 1862. Schönbein (1869-) confirmó esta observación y Heinrich Struve (1822- 1908) lo detectó en la nieve. Sin embargo, el químico alemán Schöne fue el primer científico en estudiar a detalle el  $\text{H}_2\text{O}_2$  atmosférico en lluvia, nieve y aire cerca de Moscú en los 1870's (Möller, 2009).

A partir de entonces, se han llevado a cabo determinaciones acerca de este compuesto a nivel mundial ;tanto en pequeñas regiones del planeta como a escala global (Allen *et al.*, 2012) e incluso a nivel espacial (Encrenaz *et al.*, 2011). En México, existen muy pocos estudios respecto a la determinación del  $\text{H}_2\text{O}_2$  en agua de lluvia, por lo tanto, el conocimiento de la concentración de

este compuesto en la atmósfera mexicana es casi nulo, algunos estudios relevantes han sido llevados a cabo por Padilla *et al.* (Padilla *et al.*, 2007; Padilla *et al.*, 2007).

### 2.3. ¿Qué es el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>?

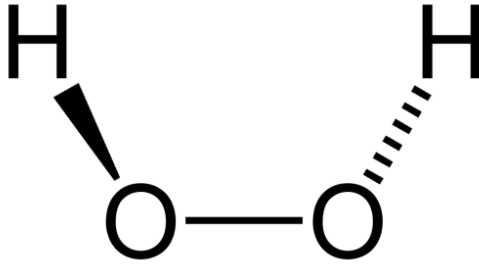
Para comprender el objeto de este estudio, es necesario abarcar con detalle la estructura química, formación y aplicaciones del compuesto llamado: peróxido de hidrogeno, o como comercialmente se le conoce, “agua oxigenada”.

Su manufactura industrial inició por el descubrimiento de un químico francés llamado Louis- Jacques Thenard en el año de 1818. Thenard hizo reaccionar el peróxido de bario con ácido clorhídrico para producir una baja concentración de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> acuoso (R1). El proceso, sin embargo, fue mejorado significativamente mediante el uso de ácido sulfúrico (R2). El H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se formó junto con sulfato de bario, que es insoluble en agua. El peróxido de bario se eliminó posteriormente por precipitación con ácido sulfúrico, para mejorar la producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (R3) (Möller, 2009).



El H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> es considerado un fuerte oxidante y está comercialmente disponible en solución acuosa en diversas concentraciones. Con un peso de 34.016 g/mol, es un ácido débil, líquido, blanco, casi sin color que es miscible con el agua en todas las proporciones (Craig, 1999).

En cuanto a su composición molecular, los átomos del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se encuentran unidos covalentemente en una estructura no polar (**Fig. 2.2**) teniendo una asociación (puente de hidrógeno) un tanto menor como la que se encuentra en el agua (Leng y Cheng, 2008).



**Figura 2.1.**Estructura molecular del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

### 2.3.1. Aplicaciones del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Hoy en día, la demanda comercial del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se ha mantenido, empleándose en un sin fin de aplicaciones como oxidante en el ramo industrial, blanqueador en la industria textil y del papel, en el ámbito farmacéutico, en el control de procesos enzimáticos; ozonización de agua potable y en estudios clínicos (Leng y Cheng, 2008).

### 2.4. Formación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en fase gas

De acuerdo con Peña *et al.* (2001) no existen emisiones directas de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hacia la atmósfera sino que todo el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> encontrado en ella, debió de haber sido formado por reacciones químicas.

#### 2.4.1. Formación de radicales OH•

La mayor fuente de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se debe a la entidad reactiva más importante que es un fragmento de la molécula de agua: el radical hidroxilo (OH•). Este radical (un fragmento reactivo molecular) es formado por la secuencia de reacción iniciada fotoquímicamente por interacción de un fotón de luz  $h\nu$  (Andrewset *al.*, 2004):



De acuerdo con Chenet *et al.* (2008) el ozono es un componente clave para la producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, porque la fotólisis del O<sub>3</sub> puede producir radicales OH• y HO<sub>2</sub>•.

#### 2.4.2. Formación de radicales HO<sub>2</sub>•

Para la formación del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> atmosférico es necesaria la existencia de los radicales hidropéroxilo HO<sub>2</sub>• (R7), formados principalmente por la combinación de dos radicales OH• (R6).



Otra vía de producción de los radicales HO<sub>2</sub>• es mediante la producción fotoquímica de reacciones con trazas de gases atmosféricos como el O<sub>3</sub>(R8)(Marinoni *et al.*, 2011).



#### 2.4.3. Formación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en fase líquida

Aquellos gases presentes en la atmósfera con tiempos de residencia cortos son los que se pueden remover fácilmente de ésta. Algunos de estos gases se pueden absorber en plantas y otros sólidos; o bien, ser disueltos en agua. Si tomamos la atmósfera como la unidad de presión y un mol L<sup>-1</sup> como unidad de concentración, la constante de la ley de Henry (K<sub>H</sub>) tendrá las unidades mol L<sup>-1</sup> atm<sup>-1</sup>. Entre más grandes sean los valores de esta constante, más soluble es el gas en el líquido. La **Tabla 2.1** muestra que el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> es un gas muy soluble en agua, en comparación con el oxígeno y otros compuestos presentes en la atmósfera terrestre (Andrews *et al.*, 2004).

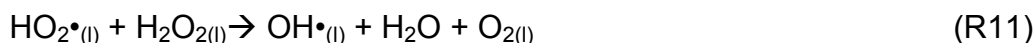
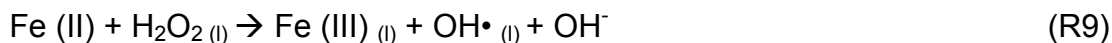
**Tabla 2.1.** Algunas constantes de la ley de Henry a 15 °C.

Gas	$K_H$ (mol L <sup>-1</sup> atm <sup>-1</sup> )
Peróxido de hidrogeno	$2 \times 10^5$
Amoniaco	90
Formaldehído	1.7
Sulfuro de dimetilo	0.14
Ozono	0.02
Oxígeno	0.0015
Monóxido de carbono	0.001

Debido a su solubilidad en agua, la incorporación del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en una gota de agua de lluvia ocurre mucho más rápido que su formación en fase gas. La estimación de la tasa de la deposición acuosa del peróxido muestra que cerca del 7% del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> es removido anualmente de la atmósfera por la lluvia que se da en las estaciones de primavera y verano (Gonçalves *et al.*, 2010).

#### 2.4.4. Reacción del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en presencia de metales de transición

Jackson y Hewitt (2007), reportaron que el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sufre descomposición a través de una cadena de reacciones tipo Fenton, mediante las formas reducidas de metales de transición, como por ejemplo el Fe (II):



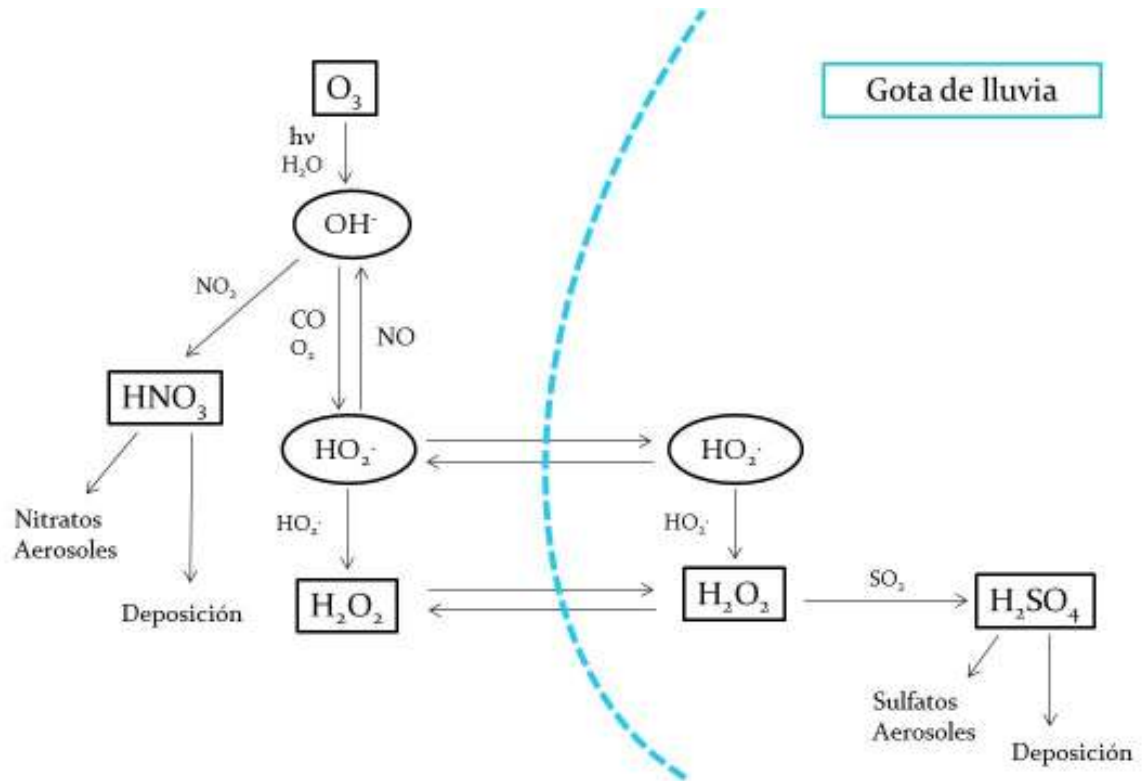
Cualquier exceso de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> producido fotoquímicamente podría ser consumido a través de la oxidación de Fe (II), el cual es reformado rápidamente a partir de la reducción fotoquímica de Fe(III) por los altos niveles de iluminación UV (Kieber *et al.*, 2001).

#### 2.4.5. Oxidación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> con dióxido de azufre

El mecanismo de pérdida más importante del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en fase acuosa (Weihsan *et al.*, 1989) es a través de la oxidación del SO<sub>2</sub> en la gota de agua de lluvia. El H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se disuelve en la gota de lluvia y actúa como oxidante del SO<sub>2</sub> resultando



así ácido sulfúrico( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), en un  $\text{pH} < 6$  (Ji *et al.*, 1991)(**Fig. 2.3**). Este proceso se lleva a cabo según la siguiente reacción:



**Figura 2.3.** Mecanismos de reacción de especies químicas en fase gas implicadas en la formación de la lluvia ácida (Weinstein-Lloyd y Lee, 1995).

Si existe una concentración alta de  $\text{SO}_2$  en la gota de lluvia como para oxidar el  $\text{H}_2\text{O}_2$  formado y la reacción es lo suficientemente rápida, entonces es posible que la concentración de  $\text{H}_2\text{O}_2$  pueda ser más baja que la esperada de acuerdo a la Ley de Henry (Noone *et al.*, 1990).

#### 2.4.6. Oxidación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> con dióxido de nitrógeno

Se ha observado que la tasa de formación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> depende de la concentración de dióxido de nitrógeno gaseoso (NO<sub>2</sub>) (Fig. 2.3). En un aire contaminado, donde el nivel de NO<sub>2</sub> es más grande que el de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, se disminuye el proceso de formación de los radicales HO<sub>2</sub>• y con ello se reduce la formación posterior de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. El producto negativo de esta reacción es el ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) (R13) (Allen, 2013).



Debido a lo anterior, se ha reportado que cuando hay niveles mayores de NO<sub>2</sub> en la atmósfera, se desarrolla una reacción de competencia para la formación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Se ha relacionado concentraciones menores a 30 μM de NO<sub>2</sub> a concentraciones altas de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Mullaugh *et al.*, 2011; Peña *et al.*, 2001).

#### 2.5. Impactos ambientales del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Recientemente, el poder oxidativo de la atmósfera ha llamado la atención por su papel en la remoción de contaminantes presentes en el aire, generando impactos negativos en el ambiente, tales como: el decaimiento de los bosques y el fenómeno de lluvia ácida (Kurihara *et al.*, 2012).

##### 2.5.1. Decaimiento de los bosques

Polle y Junkermann (1994) realizaron mediciones de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en su fase gas, calculando su influencia en los árboles de abeto, determinando que en presencia de la combinación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y de otros contaminantes en el aire, se contribuye al daño de esta especie. De acuerdo con Allen *et al.* (2012) el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> actúa de dos maneras en los árboles: Es una importante molécula que pertenece a sus ciclos vitales pero, cuando se expone a mayor concentración exterior de lo que las plantas pueden producir, es tóxico para ellas y sufren de

estrés oxidativo debido a su incapacidad de deshacerse de los radicales  $\text{HO}_2\bullet$  y del  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

### **2.5.2. Lluvia ácida**

Debido al crecimiento de la población y de la industria, en las últimas décadas se ha generado un aumento considerable de la emisión de gases contaminantes hacia la atmósfera como son los compuestos de óxidos de nitrógeno y de azufre. Uno de los efectos negativos al contaminarse el aire a través de esta clase de compuestos es la formación de la lluvia ácida, reconocida como un problema ambiental global (González y Aristizábal, 2012).

La lluvia ácida se refiere a la deposición húmeda o seca de la atmósfera que contiene grandes cantidades de  $\text{HNO}_3$  y  $\text{HSO}_4$ . Estos ácidos resultan de la interacción de sustancias químicas emitidas principalmente por la combustión de combustibles fósiles como:  $\text{NO}_2$ ,  $\text{SO}_2$ ; para después reaccionar con compuestos presentes en la atmósfera, principalmente el  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Esta clase de lluvia provoca la acidificación de lagos y arroyos, como ejemplo, recientemente en Marzo del 2013, de acuerdo con la revista National Geographic, funcionarios de pesca de la región Occidental del estado de Virginia, EUA, emprendieron acciones contra los efectos de la lluvia ácida en un lago llamado Laurel Creek, cerca de Fenwick en Nicholas County debido al impacto acuático en este ecosistema.

Además de este problema, la lluvia ácida contribuye al daño de árboles y a la erosión de suelos. Acelera la descomposición de los materiales de construcción y pinturas, como de edificios irremplazables y esculturas que forman parte del patrimonio de los países.

Antes de caer a la tierra, los gases que forman parte de esta precipitación contribuyen a la degradación del entorno e incrementan el riesgo a la salud humana (EPA, 2012). Como se describió anteriormente, hay una fuerte

correlación del  $\text{H}_2\text{O}_2$  con esta problemática ambiental debido al poder oxidativo que ejerce sobre el principal detonante de la lluvia ácida que es el  $\text{SO}_2$ ; así pudiera describirse que el  $\text{H}_2\text{O}_2$  actúa como precursor de la lluvia ácida.

## **2.6. Factores meteorológicos que afectan las concentraciones de $\text{H}_2\text{O}_2$**

Gran parte de las campañas globales dedicadas a la determinación de las trazas de  $\text{H}_2\text{O}_2$  existentes en agua de lluvia, consideran la influencia que ejercen los parámetros meteorológicos en la formación y pérdida del compuesto de estudio.

Se ha demostrado que durante el día, las concentraciones de  $\text{H}_2\text{O}_2$  son mayores, esto debido a la influencia que ejerce la radiación solar ( $h\nu$ ) sobre el compuesto, favoreciendo así, las reacciones fotoquímicas para la formación del radicales  $\text{HO}_2\cdot$  y en consecuencia la producción de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Marinonet *al.*, 2011, Gonçalves *et al.*, 2010, Watanabe *et al.* 2009, Padilla *et al.*, 2007). De esta forma, a mayor densidad de radiación hay un incremento en la temperatura.

De acuerdo con Gonçalves *et al.* (2010) en la ciudad de São Paulo, las concentraciones más altas de  $\text{H}_2\text{O}_2$  resultaron dentro de un rango de temperatura entre  $18^\circ\text{C}$  y  $26^\circ\text{C}$ . Esto sugiere que las reacciones de formación de  $\text{H}_2\text{O}_2$  son predominantes a altas temperaturas. Con bajas temperaturas, no se proveen las condiciones favorables para las reacciones fotoquímicas para su posterior producción. Al contar con una radiación alta y temperaturas altas, se sobre entiende que la estación del año influye ampliamente. Presentándose concentraciones altas de  $\text{H}_2\text{O}_2$  en verano y primavera por la acción fotoquímica que ejerce el sol (Allen, 2013).

## 2.7. Concentraciones a nivel global de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Las concentraciones a nivel global se han definido en menos de 2.7ppm (Mullaugh *et al.*, 2012; Gonçalves *et al.*; 2010; Santos *et al.*, 2007; Kieber *et al.*, 2001; Peña *et al.*, 2001; Yuan y Shiller, 2000; Deng y Zuo, 1999); sin embargo, se han reportado variaciones de concentraciones como es el caso de Toyama, Japón, en donde las concentraciones varían de <0.003401- 6.46 ppm (Watanabe *et al.*, 2009). En México el autor Padilla *et al.* (2007) ha detectado cantidades similares a las reportadas a nivel global, lo cual se puede observar en la siguiente tabla (**Tabla 2.2.**):

**Tabla 2.2.** Algunos ejemplos de concentraciones de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en agua de lluvia a nivel global.

Ciudad	Concentración (ppm)	Referencia
Sao Paulo, Brasil	0.017-2.65	Gonçalves <i>et al.</i> ; 2010
Sao Paulo, Brasil	0.077-1.65	Santos <i>et al.</i> , 2007
Océano Atlántico Central	0.11–2.42	Yuan y Shiller, 2000
Wilmington, CA, EUA	0.033–0.11	Mullaugh <i>et al.</i> , 2012
Miami Florida, EUA	0.011-1.29	Deng y Zuo, 1999
Islas menores, Nueva Zelanda	0.207	Kieber <i>et al.</i> , 2001
Región Noroeste de España	0.091	Peña <i>et al.</i> , 2001
Toyama, Japón	0.003-6.46	Watanabe <i>et al.</i> , 2009
Ciudad de México, Orizaba	0.33-0.493	Padilla <i>et al.</i> 2007

## 2.8. Técnicas de caracterización de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en agua de lluvia

La necesidad por determinar de manera exacta el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en agua de lluvia ha brindado un papel fundamental e importante a la química analítica dentro de la ciencia ambiental y atmosférica, ya que esta se encarga de determinar concentraciones de especies contaminantes nocivas (Taniai *et al.*, 2000). Para lograr esta clase de determinaciones, existen los métodos instrumentales.

Empleados a principios del siglo XX, para el análisis cuantitativo de una gran variedad de analitos inorgánicos, orgánicos y bioquímicos mediante las mediciones de sus propiedades físicas tales como: la conductividad, el potencial de electrodo, la absorción o emisión de luz, la relación masa/carga y la fluorescencia (Skoog, 1992). Una gran variedad de métodos instrumentales se han reportado para la cuantificación de bajas concentraciones de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en agua de lluvia. En la **Tabla 2.3** se enlistan algunos ejemplos de fluorimetría, quimioluminiscencia, y fotométricas:

**Tabla 2.3.** Técnicas analíticas para la detección de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en agua de lluvia y algunos parámetros de calidad analítica.

Catalizador	Método	LOD(ppm)/ Rango lineal(ppm)		Referencia
Ácido <i>p</i> -hidroxifenilacético	Fluorométrico enzimático	7.3 x 10 <sup>2</sup>	NA	Lazrus <i>et al.</i> , 1985
Catalasa	Fluorométrico enzimático	6.8 x 10 <sup>-5</sup>	NA	Heikes <i>et al.</i> , 1986
Hemoglobina	Fluorométrico enzimático	8.9 x 10 <sup>-3</sup>	0.0034 - 27	Xu y Chang, 2001
Fenton	Fluorométrico no enzimático FIA	6.8 x 10 <sup>-4</sup>	0.0034 - 0.3401	Lee <i>et al.</i> , 1990
Cloruro de cobalto/Sodio lauril sulfato	Sensor Quimioluminiscente	0.31	0.68 - 54.42	Tahirovic <i>et al.</i> , 2009
Luminol/Nitrato de cobalto 6-H <sub>2</sub> O	Dispositivo Microfluídico	1.6 x 10 <sup>-4</sup>	NA	Marle and Greenway, 2005
3,3-yoduro de dietiloxadicarbonaciana	“Quenching” de fluorescencia	2.7 x 10 <sup>-2</sup>	0.017005 - 0.3401	Chenet <i>et al.</i> , 2007
Cobalto (II),(Cloruro de cobalto 6-H <sub>2</sub> O	Fotométrico FIA	2 x 10 <sup>-5</sup>	NA	Kurihara <i>et al.</i> , 2012

Las técnicas quimioluminiscentes a pesar de contar con un rango lineal de trabajo ideal, ocupan de procesos muy complejos y largos, como la purificación del luminol para diseñar los dispositivos de lectura (Marle and Greenway,

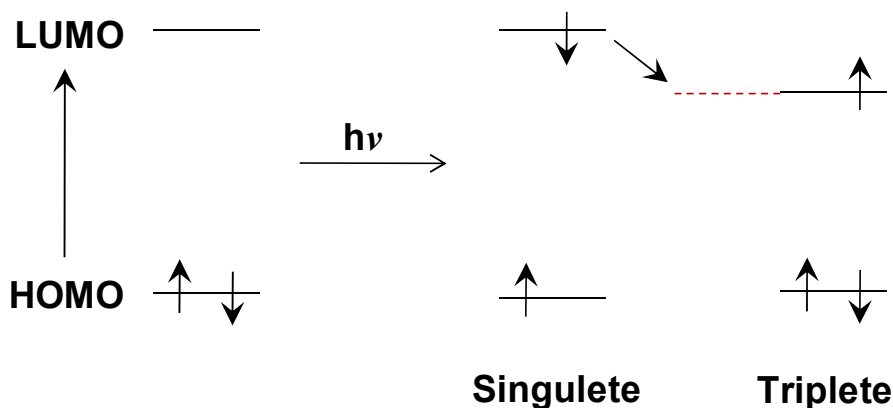
2005).Tahirovic (2009) presentó interferencias en el análisis del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en su sensor. El método fotométrico desarrollado por Kurihara (2012) presenta un complejo montaje del dispositivo para la inyección a flujo, además del control de dos temperaturas en canales distintos.

El autor Lazrus, al ser uno de los primeros investigadores que desarrollaba una metodología para la cuantificación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> logró obtener el método, a pesar de la poca información que existía respecto al tema. Después el método fue mejorado para abarcar un mejor rango lineal en las muestras. Además de presentar la ventaja del empleo de reactivos de bajo costo, es una de las técnicas analíticas que destaca por la preferencia de los investigadores por el uso de la flourometría y/ó fluorescencia (**Tabla 2.3**).

En comparación con otras técnicas, la espectroscopia de fluorescencia es una técnica que sobresale por su gran sensibilidad, facilidad de operación, no destructiva, rápida, analítica, que no requiere la separación de la muestra, y solo necesita una pequeña cantidad de muestra acuosa (Santos *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2007).

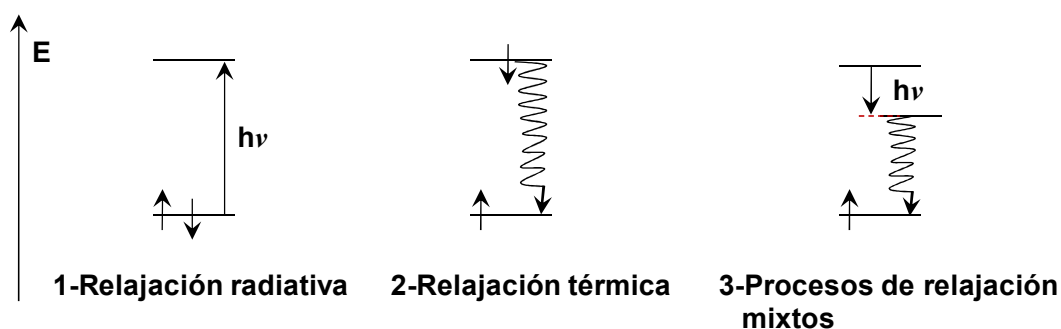
### 2.9. Principio de espectroscopia de fluorescencia

La fluorescencia a partir de compuestos moleculares puede entenderse en una forma similar a la absorción UV-Visible al considerar intercambios de energía entre orbitales frontera designados por el HOMO y el LUMO (**Fig. 2.4**).



**Figura 2.4.** En esta figura se representa la promoción de un electrón desde un orbital (HOMO) hasta un orbital (LUMO) dando lugar a un estado singlete, el cual evoluciona hacia un estado triplete más estable.

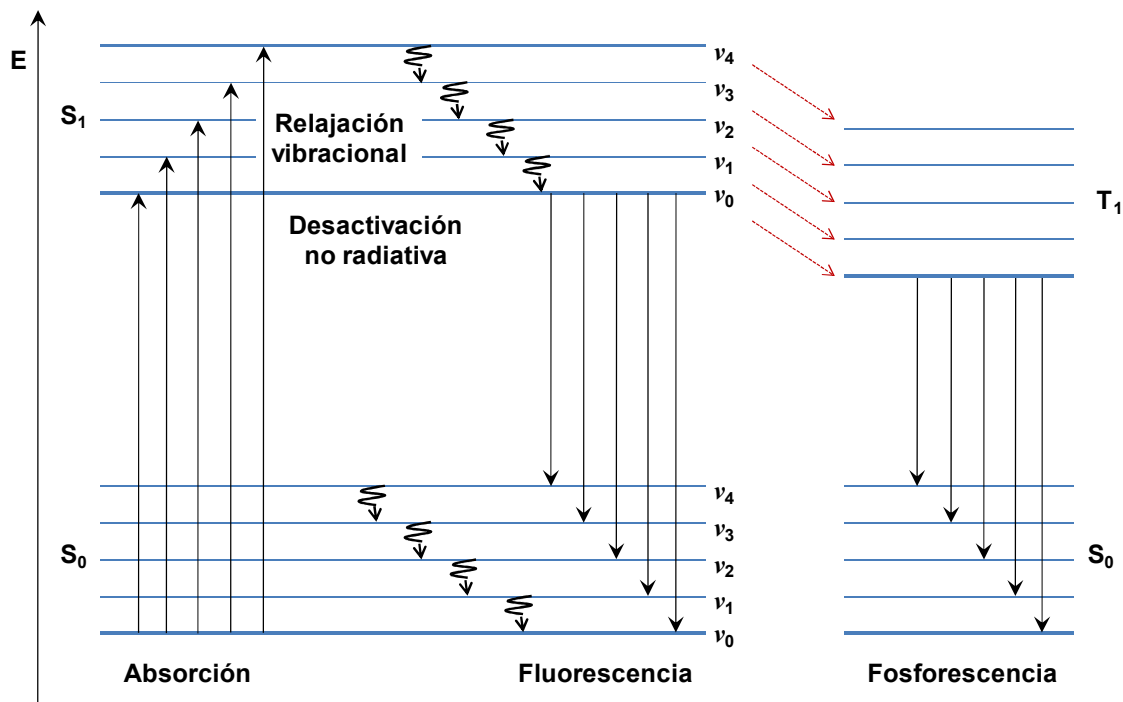
Las moléculas presentes inicialmente en el estado electrónico fundamental  $S_0$  son excitadas instantáneamente por absorción a un nivel vibracional  $V_i$  del estado electrónico excitado  $S_1$  (**Fig. 2.6**). Las moléculas se relajan muy rápidamente bajando al nivel vibracional  $v_0$  de este estado electrónico  $S_0$  (en  $10^{-12}$  s) por medio de la *conversión interna* la cual se caracteriza por ser un proceso en donde no se emiten fotones (**Fig. 2.5**).



**Figura 2.5.** Representación de procesos mostrando la relajación de un estado electrónico excitado a un estado electrónico fundamental. Debido a que las transiciones son casi instantáneas, la distancia interatómica no cambia (este es el principio de Franck-Condon).

Es en este nivel energético donde se presenta la fluorescencia (entre  $10^{-9}$  s y  $10^{-7}$  s) causando que las moléculas regresen al nivel vibracional del estado electrónico fundamental  $S_0$ .

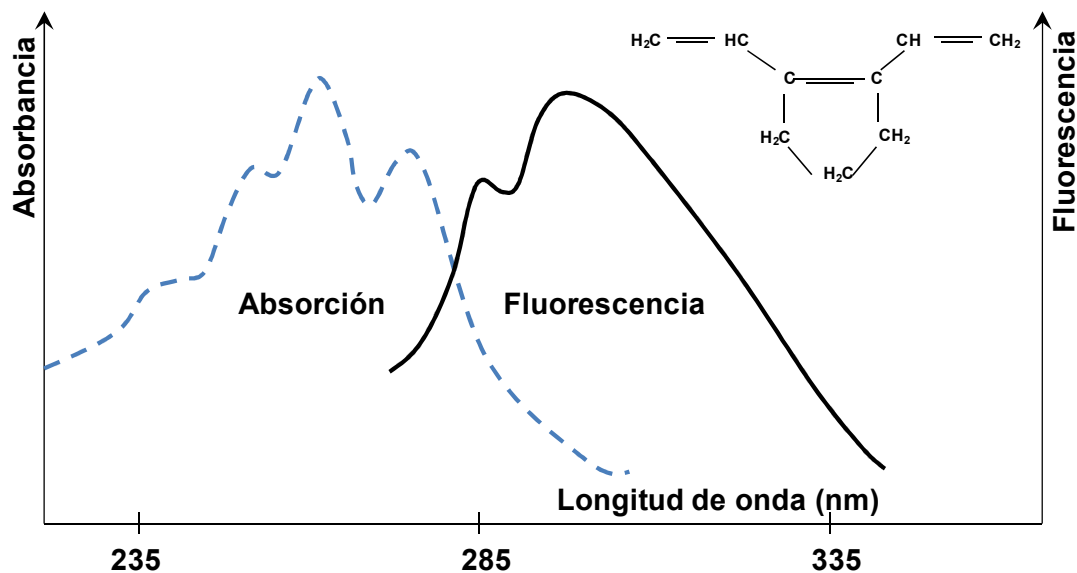




**Figura 2.6.** Diagramas de energía comparando fluorescencia y fosforescencia. Las flechas cortas corresponden a la conversión interna sin emisión de fotones. La fluorescencia es una transferencia de energía entre estados de la misma multiplicidad (dirección del espín:  $\uparrow\downarrow$ ) mientras que en la fosforescencia es entre estados de multiplicidad distinta (dirección del espín:  $\uparrow\uparrow$ ). Esta situación es más compleja que aquella mostrada en este diagrama de Jablonski.

Sobre el curso que toma la fluorescencia, la cual se acompaña de relajación de energía, la molécula puede conservar parte de la energía recibida en la forma de energía vibracional del estado electrónico fundamental. Este exceso de energía vibracional es disipado por medio de colisiones u otros procesos no-radiactivos llamados *relajación vibracional*. La emisión de fotones de baja energía también es posible y da lugar a fluorescencia en el infrarrojo medio.

En el diagrama de la **Fig. 2.7** se muestra una simetría aparente que existe entre la absorbancia y la fluorescencia de muchos compuestos orgánicos. Esta simetría es observada regularmente cuando los espectros absorbancia y fluorescencia se traslapan.

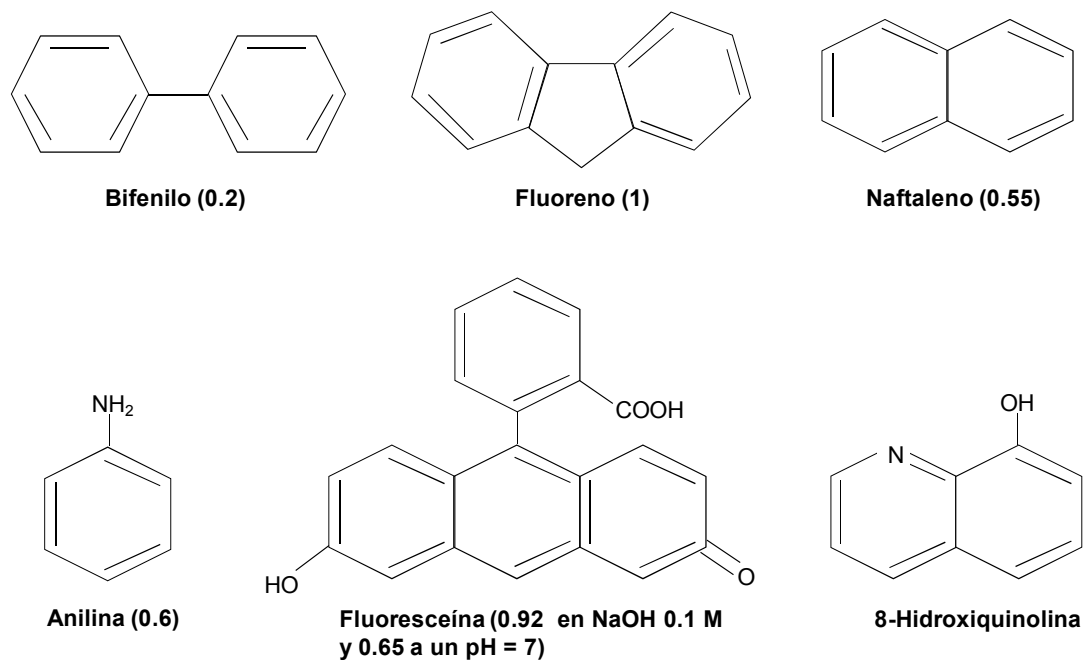


**Figura 2.7.** Representación gráfica del traslape de los espectros de absorción y fluorescencia de un trieno.

La fosforescencia corresponde a un proceso de relajación diferente. Después de la etapa de absorción, correspondiente a la transferencia de un electrón al interior del nivel  $S_1$  (estado singlete), una inversión de espín puede ocurrir si la relajación vibracional es lenta, llevando al electrón a un estado  $T_1$  (estado triplete) que es ligeramente más estable. En consecuencia, el regresar al estado electrónico fundamental será más lento porque durante este proceso se involucra otra inversión de espín para este electrón. Por esta razón, los tiempos de vida media radiactivos para fosforescencia pueden ser hasta  $10^8$  veces más grandes que para fluorescencia.

La fluorescencia ocurre regularmente en moléculas rígidas y cíclicas que contienen electrones  $\pi$ . Su intensidad puede incrementarse por la presencia de grupos donadores de electrones y tener un decremento por grupos atrectores de electrones (**Fig. 2.8**). También depende del pH y solvente. Las moléculas no-rígidas, por otro lado, pierden fácilmente toda su energía absorbida, esto por causa de la degradación y la relajación vibracional.

Análogamente, este fenómeno puede compararse con el encontrado cuando un martillo golpea un bloque de hule contra un yunque. En el bloque de hule, se observara que la energía será disipada en su masa (relajación) y no se emitirá sonido. Por otro lado, sobre el yunque, parte de la energía mecánica del martillo será retransmitida hacia fuera (como un ruido fuerte) y esto puede ser comparado con el fenómeno de fluorescencia de moléculas no-rígidas contra moléculas rígidas.



**Figura 2.8.** Ejemplo de compuestos aromáticos fluorescentes. Los nombres de los compuestos son seguidos por sus rendimientos cuánticos, cuyos valores son obtenidos por comparación con compuestos de fluorescencias conocidas (Rouessac, 1998).

## 2.10. Fenton OHBA

La mayoría de los métodos fluorescentes hacen uso de métodos enzimáticos. Uno de los más empleados fue desarrollado por Lazrusset *al.* (1985). Este método automatizado se basa en la reacción entre el peróxido y ácido *p*-hidroxifenilacético, catalizado por peroxidasa de rábano silvestre (HRP), para

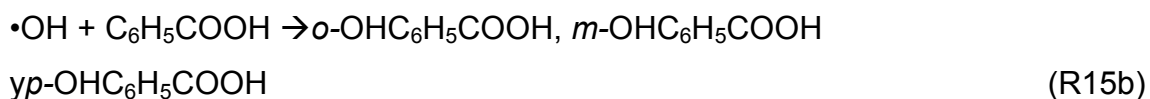
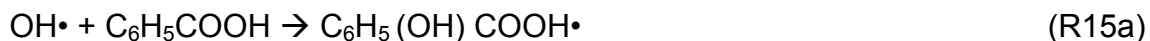
generar un dímero fluorescente. Aunque la técnica es muy sensible y relativamente libre de interferencias, sufre desventajas comunes como los ensayos de enzimas, y el uso de reactivos inestables y el empleo de un sistema FIA (Lee *et al.*, 1990).

Para el trabajo de campo, métodos no enzimáticos y de bajo costo son necesarios, optando por instrumentación accesible, fácil manejo, adecuada sensibilidad y un límite de detección bajo en relación con la concentración de  $H_2O_2$  disponible en la atmósfera. Uno de los métodos que nos ofrece esta clase de ventajas es el método Fenton-OHBA que ha demostrado ser lo suficientemente sensible y lineal y por otro lado, brindar resultados consistentes en la determinación del  $H_2O_2$  en muestras de precipitación pluvial (Lee *et al.*, 1990). En contraste con el método enzimático HRP, los reactivos son de bajo costo y disponibles en el mercado, y las soluciones reactivas utilizadas son estables, haciendo de este método uno muy sencillo de llevar a cabo (Lazrus *et al.*, 1985).

El fundamento del método Fenton- OHBA es el siguiente:

- a) Producción del radical  $OH\cdot$  por la reacción entre el  $H_2O_2$  y el ion  $Fe(II)$  (reacción Fenton) (R14).
- b) Formación de un radical ciclohexadienilo por atrapamiento del radical  $OH\cdot$  con ácido benzoico (BA) (R15a).
- c) Producción de isómeros del ácido hidroxibenzoico: *orto*-, *meta*- y *para*-HBA (R15b).
- d) Transformación catalítica de un radical  $OH\cdot$  a un ion  $OH^-$  (reacción indeseable) (R16).

Un resumen de las reacciones químicas llevadas a cabo se presentan a continuación:



En presencia de O<sub>2</sub> y Fe (II) disuelto, el radical ciclohexadienilo formado en la reacción R16a produce isómeros de ácido hidroxibenzoico fluorescentes (Dorfman *et al.*, 1952). Para minimizar el atrapamiento de radicales OH• por medio de la reacción R16, se ajusta la relación de concentraciones molares [BA] / [Fe (II)] en proporción 2:1 (Lee *et al.*, 1990). El método anterior puede modificarse adicionando una sal de Al (III), lo cual incrementa substancialmente la intensidad de fluorescencia del reactivo OHBA debido a la formación de un complejo Al (III) –OHBA, el cual es explotado para aumentar la sensibilidad del método (Lee *et al.*, 1990).

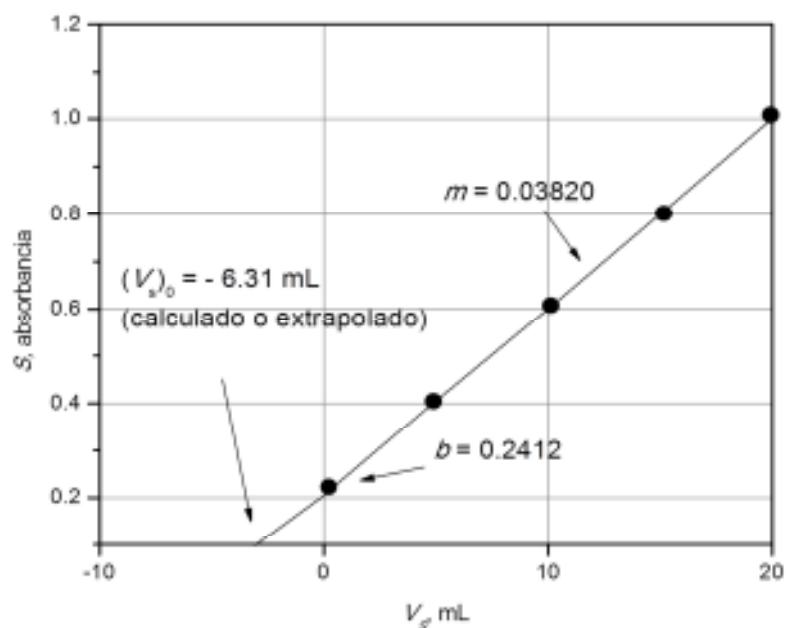
Otro punto favorable al método Fenton–OHBA es que los metales de transición no interfieren en el análisis. Por otro lado, el análisis químico de muestras de precipitación pluvial del noreste de Estados Unidos demostró la presencia de las siguientes especies (c<1mM): H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, HCHO, H<sup>+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, sin afectar la concentración de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> medida por este método (Weinstein-Lloyd y Lee, 1990).

### 2.11. Curva de calibración

Una curva de calibración es un proceso el cual se relaciona la señal analítica medida con la concentración del analito. Para realizar el método de la curva de calibración se introducen en el instrumento varios patrones que contienen concentraciones exactamente conocidas de analito y se registra la señal instrumental. Normalmente esta señal se corrige con la correspondiente señal obtenida con el blanco. En condiciones ideales el blanco contiene todos los

componentes de la muestra original excepto el analito. Los datos obtenidos se representan para obtener una gráfica de la señal corregida del instrumento frente a la concentración de analito.

En la **Fig. 2.9** se muestra una curva de calibración característica. A menudo se obtienen representaciones graficas como esta que son lineales en un amplio intervalo de concentración (intervalo útil) lo cual es deseable, ya que están menos sujetas a error que las curvas no lineales. Sin embargo, no es raro encontrar representaciones graficas no lineales, las cuales requieren un elevado número de datos de calibrado para establecer con precisión la relación entre la respuesta del instrumento y concentración. Se obtiene la ecuación de la curva de calibrado por el método de mínimos al cuadrado que permite calcular directamente la concentración de las muestras.



**Figura 2.9.** Representación gráfica de la recta de calibrado en un método de adición estándar. La concentración de la disolución problema se puede calcular a partir de la pendiente  $m$  y de la intersección  $b$ , también se puede determinar por extrapolación como se indica en el texto (Skoog, 1992).

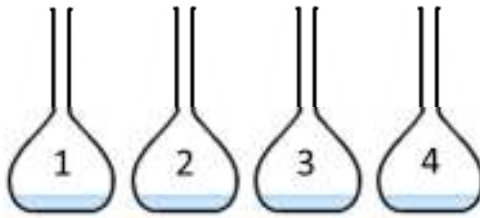
El éxito del método de la curva de calibración depende, en gran medida, de la exactitud que tenga la concentración de los patrones y de lo que se parezca a la matriz de los patrones de las muestras que se analizan. Lamentablemente reproducir la matriz de las muestras complejas suele ser difícil o imposible y sus efectos dan lugar a errores por interferencias. Para minimizarlas, a menudo, es necesario separar el analito de interferente antes de medir la señal del instrumento (Skoog, 1992).

### **2.12. Método de adición estándar**

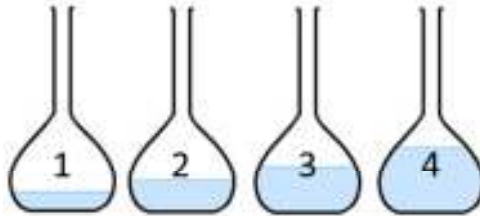
Este método es particularmente útil para analizar muestras complejas en las cuales la posibilidad de que se presenten efectos de matriz es importante. Un método de adición estándar puede adoptar varias formas. En una de las más comunes es añadir uno o más incrementos de la solución patrón a alícuotas de la muestra con volúmenes idénticos. A este proceso se le llama adición de muestras (spiking). Luego de cada disolución se diluye a un volumen fijo antes de tomar la medida. Las medidas se toman en la muestra original y en la muestra a la que se le añadió el patrón después de cada adición. En la mayor parte de las versiones de este método, la matriz de la muestra es casi idéntica después de cada adición, y la única diferencia es la concentración del analito, o bien la concentración de dicho reactivo en los casos en que se añade un exceso de un reactivo analítico. Todos los otros constituyentes de la mezcla de reacción deben ser idénticos porque los patrones están preparados en alícuotas de la muestra.

Suponga que varias alícuotas  $V_x$  de la solución desconocida cuya concentración es  $c_x$  se vierten en matraces de volumen  $V_t$ . A cada uno de ellos se le añade un volumen variable  $V_s$  de una solución patrón o estándar del analito que tiene una concentración conocida  $c_s$ . Luego se añaden reactivos adecuados y cada solución se diluye a cierto volumen (**Fig.2.11**)

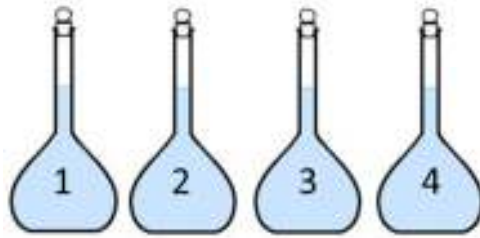
Poner 5 mL de muestra en cada matraz



Añadir 0, 5, 10, 15 ó 20 mL de patrón



Enrasar a 50 mL y mezclar



**Figura 2.10.** Análisis aplicando el método de adiciones patrón. Suponga que la disolución que se añade a cada frasco contiene patrón 0.200 M. Al final del procedimiento, al frasco 1 no se añadió patrón. El frasco 2 contiene patrón 0.0200 M (es decir, 5.00 mL diluidos a 50.0 mL). Los matraces 3,4 y 5 contienen 0.040, 0.060 y 0.08 M de patrón respectivamente (Harris, 2007).

Se efectúan entonces las mediciones instrumentales en cada una de las disoluciones y se corrigen por alguna respuesta del blanco para tener una respuesta neta  $S$  del instrumento. Si la respuesta del instrumento corregida por el blanco es proporcional a la concentración, como se supone que debe ser en el método de la adición estándar, se puede escribir de acuerdo a la siguiente formula:

$$S = \frac{kV_S C_S}{V_t} + \frac{kV_X C_X}{V_t} \quad (\text{Ec. 1})$$



Donde  $k$  es una constante de proporcionalidad. Una gráfica de  $S$  en función de  $V_s$  es una recta de la forma:

$$S = mV_s + b \quad (\text{Ec.2})$$

Donde la pendiente  $m$  y la ordenada al origen  $b$  se obtienen a partir de:

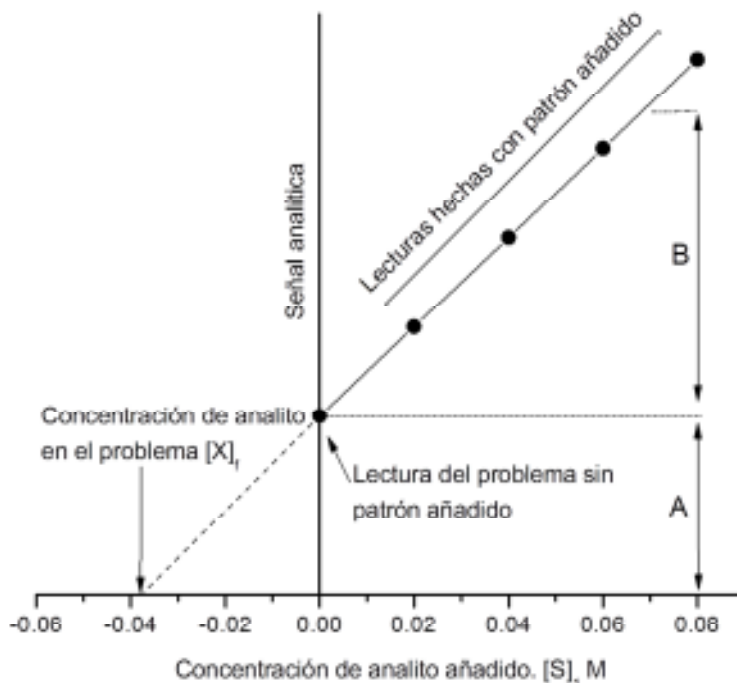
$$m = \frac{kC_s}{V_t} \quad (\text{Ec.3})$$

$$b = \frac{k V_x C_x}{V_t} \quad (\text{Ec.4})$$

Se puede ejecutar un análisis de mínimos cuadrados para determinar  $m$  ;  $C_x$  se obtiene de la relación de estas dos cantidades y los valores conocidos de  $C_s$ ,  $V_x$  y  $V_s$ . Por tanto:

$$C_x = \frac{b C_s}{m V_x} \quad (\text{Ec.5})$$

El siguiente paso es construir la gráfica de la **Fig. 2.11**. El eje  $x$  representa la concentración del patrón añadido después de haber sido mezclado con la muestra. La abscisa en el origen de la recta extrapolada con signo cambiado es la concentración desconocida después de diluir la muestra a volumen final. Como se puede ver en la **Fig. 2.12** esta concentración es 0.042 M. Si la muestra original tenía una concentración de analito 0.42 M el intervalo más útil de adiciones de patrón debe de aumentar la señal analítica entre 1.5 y 3 veces el valor original.



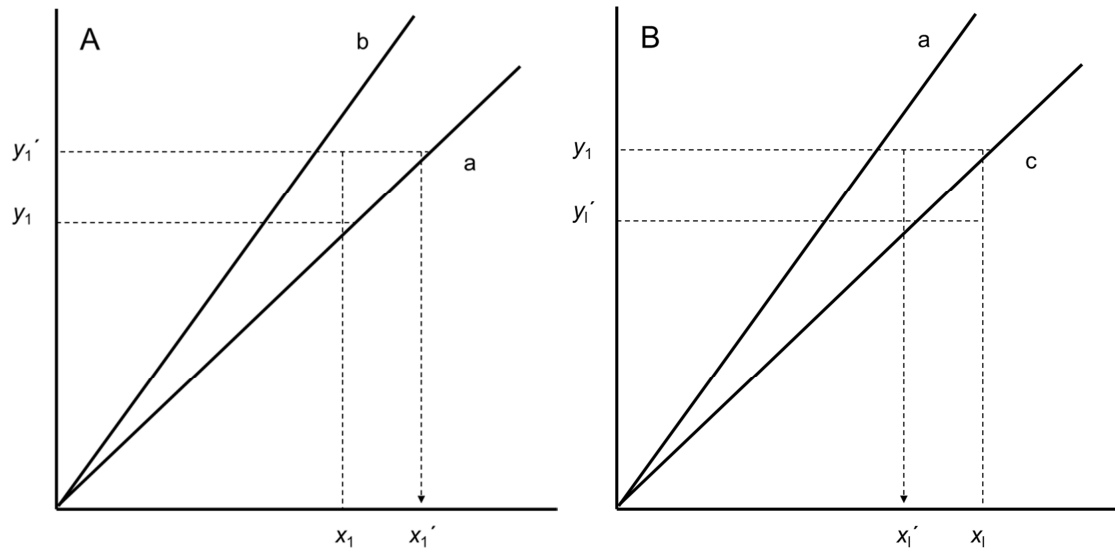
**Figura 2.11.** Tratamiento gráfico de la experiencia de adición de patrón de la Fig. 2.10. Las adiciones de patrón deben aumentar la señal analítica entre 1.5 y 3 veces el valor original.

### 2.12.1. Efecto matriz

En numerosas ocasiones, la interacción del analito con el particular entorno físico-químico en el que se encuentra produce una exaltación o una inhibición de la sensibilidad, lo que se conoce como efecto matriz. Este efecto se ilustra en la Fig. 2.12 en la que se compran rectas de calibrado realizadas en ausencia y presencia de efecto matriz.

Si el efecto matriz se manifiesta como una exaltación de la sensibilidad (parte A de la figura), la concentración de la muestra,  $x_i$ , da lugar a una señal más alta que la esperada:  $y'_i$  en lugar de  $y_i$ . Cuando se utiliza esta lectura,  $y'_i$ , para predecir la concentración utilizando la curva de calibrado de que se dispone (no corregida), se obtiene un valor más alto,  $x'_i$ , por tanto se produce un error sistemático por exceso. En cambio, si la sensibilidad está inhibida (parte B de la

figura), la concentración de la muestra,  $x_1$ , da lugar a una señal más baja que la esperada,  $y'_1$ . Cuando se utiliza  $y'_1$  para predecir la concentración, se obtiene un valor de  $x'_1$  más bajo, esto es, se produce un error sistemático por defecto.



**Figura 2.12.** Rectas de calibrado sin efecto matriz (a), y con exaltación (b) e inhibición (c) de la sensibilidad. Error sistemático de cada caso: (A) por exceso, y (B) por defecto.

Las dos posibles soluciones posibles para reducir el efecto matriz son:

- a) Preparar la serie de estándares imitando la composición de la muestra, lo que se conoce como calibración externa.
- b) Preparar la recta de calibrado de forma que todos los estándares contengan muestra, y la contengan en la misma cantidad. Este procedimiento se denomina método de adiciones de patrón o estándar, o calibración interna. Se aplica cuando la matriz es compleja y no puede ser imitada artificialmente.

Ninguna de ambas soluciones ofrece garantías suficientes de que el error sistemático por efecto matriz se haya eliminado por completo. Entre otras ventajas la calibración externa es más precisa que la calibración interna. Es así porque en la calibración externa las predicciones se realizan por interpolación, mientras que la recta de regresión de calibración interna obliga a realizar predicciones por extrapolación, lo que conlleva un mayor error aleatorio. Por esta razón, se suele recurrir a la calibración interna tan solo cuando no se consigue desarrollar y validar un método de calibración externa (Ramis y García, 2001).

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Área general

El sitio de muestreo de agua pluvial se llevó a cabo en la zona metropolitana del municipio de Celaya, Guanajuato dentro del Instituto Tecnológico de Celaya (ITC) en el techo del edificio del departamento de Ingeniería Ambiental, en el mes de Julio del 2013. Este municipio cuenta con una superficie de 553 km<sup>2</sup> y está situado en la extensa planicie del Bajío. Se localiza entre las coordenadas geográficas 20° 31' 24" latitud norte y entre 100° 48' 55" longitud oeste. El clima del municipio es templado, semiseco; y cuenta con una precipitación anual de 607.3 mm. Presenta vientos predominantes del noreste principalmente con una mayor frecuencia de vientos de 2 a 4 m/s, seguido de vientos de 4 a 7 m/s. Por su carácter metropolitano, presenta una actividad económica dominante de industria manufacturera, comercio, los servicios de apoyo a negocio y el manejo de desechos, favoreciendo así paralelamente el desarrollo del sector terciario (Instituto de Ecología del Estado, 2012). La distribución geográfica del muestreo realizado se presenta en la **Fig. 3.1**:



**Figura 3.1.** Ubicación del sitio de muestreo en ITC en Celaya, Guanajuato.

### 3.2. Localización del sitio experimental

La parte experimental de esta investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Bioelectroquímica del Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica (CIDETEQ) S.C., situado en el municipio de Pedro Escobedo en el estado de Querétaro de Arteaga.

### 3.3. Materiales

En este apartado se enlistan los reactivos y los equipos instrumentales/analíticos empleados para el desarrollo de la metodología del proyecto, en la siguiente secuencia:

#### 3.3.1. Reactivos químicos

**Tabla 3.1.** Sustancias empleadas en la metodología experimental.

Sustancia	Grado	Fabricante
Ácido Acético $C_2H_4O_2$	Analítico	Sigma-Aldrich
Acido Benzoico $C_6H_5COOH \cdot 7H_2O$	Analítico	J.T. Baker
Ácido Nítrico $HNO_3$	Reactivo	Sigma-Aldrich
Acetato de Sodio $C_2H_3NaO_2$	Analítico	J.T. Baker
Ácido Sulfúrico $H_2SO_4$	Analítico	Sigma-Aldrich
Hidróxido de Sodio $NaOH$	Analítico	Sigma-Aldrich
Nitrato de Aluminio $Al(NO_3)_3$	Analítico	J.T. Baker
Oxalato de sodio $Na_2C_2O_4$	Analítico	J.T. Baker
Permanganato de Potasio $KMnO_4$	Analítico	J.T. Baker
Peróxido de Hidrogeno $H_2O_2$	Reactivo	J.T. Baker
Solución de limpieza	NA	Hellmanex
Sulfato Ferroso $FeSO_4$	Analítico	J.T. Baker

### 3.3.2. Equipo instrumental/analítico

**Tabla 3.2.** Equipo instrumental/analítico empleado en metodología experimental.

<b>Equipo</b>	<b>Marca</b>	<b>Modelo</b>	<b>Función</b>
Balanza analítica	OHAUS	DV215CD	Pesar reactivos y sustancias
Baño ultrasonido	BRANSON	200, 50-60Hz	Disolver reactivos preparación de soluciones
Espectrofluorímetro	HORIBAJOBIN YVON	Fluorolog®-3	Análisis de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Micropipetas de 0.5-10, 0-100 y 100-1000 µL	Eppendorf	Research	Dispensar volúmenes micrométricos
Parrilla de calentamiento y agitación	ICA	C-MAG HS 4	Calentamiento de soluciones
Potenciómetro portátil	Cole-Parmer	EW-35425-10	Medir temperatura, pH, conductividad eléctrica
Purificador de agua	MILLIPORE	Simplicity	Proveer agua desionizada
Vórtex	SEMADÍ	D.L.	Disolver, agitar y homogenizar soluciones
Espectrofotómetro	HACH	2010	Diversos análisis de agua
Multiparámetro	Testr	35	Parámetros fisicoquímicos
Electrodo de OD	Hannah	HI 9146	Medidor de OD

### 3.4. Metodología experimental

En esta sección se describen aspectos relacionados con el procedimiento relativo a:

- a) Preparación de una curva de calibración  $\Delta F$  [cps] vs.  $C_{H_2O_2}$  [ppm] ajustando los datos experimentales a una función logística de 4 parámetros.
- b) Realización de una campaña de muestreo para la recolección de una muestra de agua de lluvia en el ITC de Celaya, Guanajuato.
- c) Determinación de  $H_2O_2$  en la muestra de agua de lluvia por medio de la curva de calibración de 4 parámetros y el método de adición de estándar.
- d) Evaluación de parámetros fisicoquímicos de las muestras de agua de lluvia.
- e) Obtención de datos meteorológicos desde la estación meteorológica cercana al punto de muestreo.

#### 3.4.1. Construcción de una curva de calibración $\Delta F$ [cps] vs. $C_{H_2O_2}$ [ppm]

Para la construcción de la curva de calibración, se prepararon los reactivos al siguiente orden (Véanse procedimientos en el anexo):

- a) Valoración de permanganato de potasio ( $KMnO_4$ ) 0.02 M de acuerdo al método de McBride (Day y Underwood, 1989).
- b) Valoración del  $H_2O_2$  comercial con el  $KMnO_4$  valorado.
- c) Preparación de una solución patrón de  $H_2O_2$  (15.3045 ppm) en 50 mL de agua DI.
- d) Preparación de sulfato ferroso ( $FeSO_4$ ) 1.5 mM aforando con  $HSO_4$  pH 1.9. Solución A.
- e) Preparación de ácido benzoico ( $C_6H_5COOH$ ) 3.0 mM aforando con  $HSO_4$  pH 1.9. Solución B.

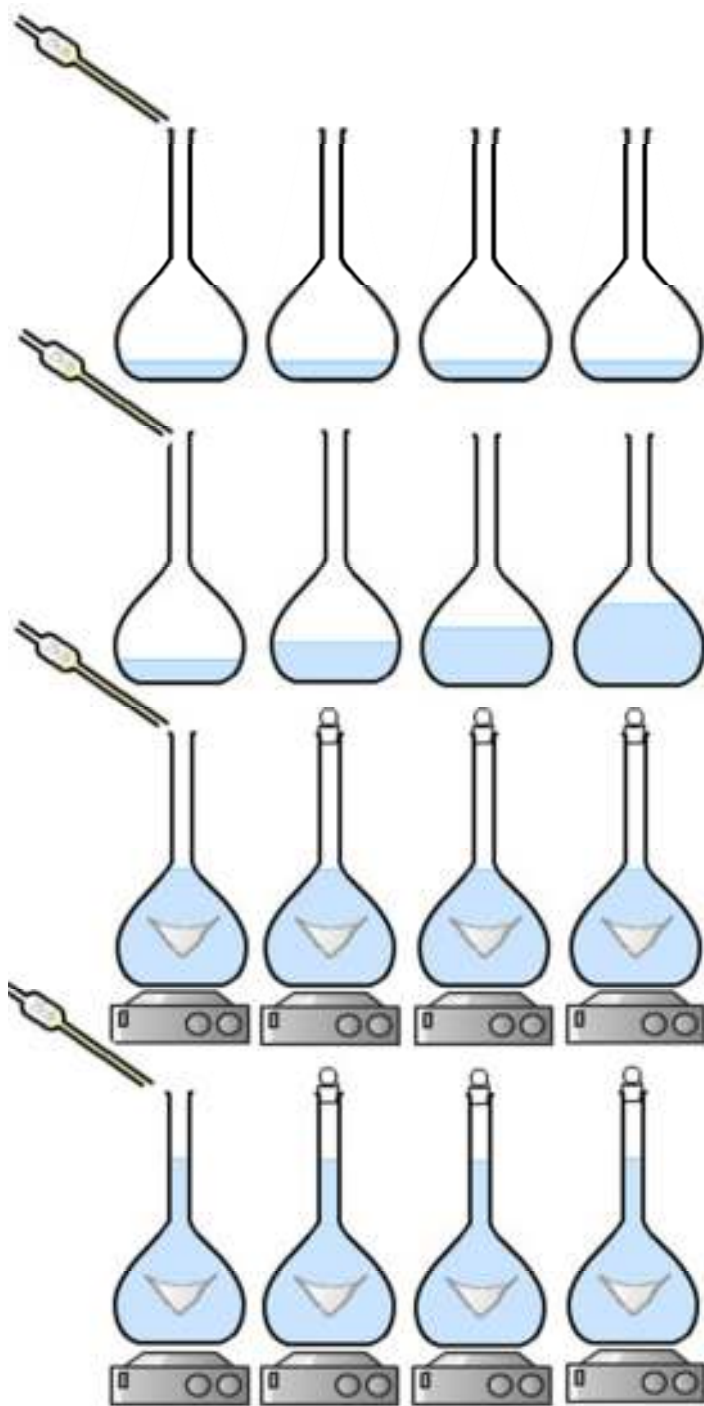


- f) Preparación del reactivo mejorador de fluorescencia: Nitrato de aluminio ( $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ ) 10.0 mM aforado con solución buffer de acetatos. 0.2 M pH 3.8. Solución C.

Para preparar la curva, se pipetearon a matraces volumétricos de 10 mL de capacidad, 1 mL de la muestra problema. A continuación, se añadieron volúmenes crecientes de la solución patrón de  $\text{H}_2\text{O}_2$  de acuerdo a la **Tabla 3.3**.y se adicionaron 1 mL de la solución A + 1 mL de B, dejándolos reaccionar en la muestra por tres minutos bajo agitación constante, con la ayuda de un equipo Vórtex. Finalmente se añadió 1 mL de solución C aforando la solución con agua DI, y se dejó reaccionar por un tiempo de 15 minutos bajo agitación constante.

**Tabla 3.3.**Concentraciones de  $\text{H}_2\text{O}_2$ añadidas para realizar la curva de calibración.

Muestra problema-mL	$\text{H}_2\text{O}_2$ [ $4.5 \times 10^{-5}$ M] mL	A: $\text{FeSO}_4$ [1.5 mM] mL	B: $\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}$ 7 $\text{H}_2\text{O}$ [3 mM] mL	C: $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ [10 mM] mL
1	0	1	1	1
1	0.22	1	1	1
1	0.44	1	1	1
1	0.67	1	1	1
1	0.89	1	1	1
1	1.11	1	1	1
1	1.33	1	1	1
1	1.56	1	1	1
1	1.78	1	1	1
1	2	1	1	1



1. Se añadió 1mL de la muestra problema.

2. Se añadieron volúmenes crecientes de la solución patrón  $H_2O_2$ .

3. Se añadió 1 mL de A más 1 mL de B. Permaneció en agitación por 3 min.

4. Se añadió 1 mL de C y se afora. Permaneció en agitación por 15 min.

**Figura 3.2.**Diagrama de dibujos sobre el procedimiento para la adición de reactivos.

Al concluir el tiempo de reacción, se procedió a hacer el análisis mediante espectroscopia de fluorescencia, utilizando los siguientes parámetros:

Longitud de onda de excitación: 305 nm con un slit width de 2nm; registrándose la emisión en un rango de longitud de onda entre 300 a 600 nm con un slit width de 4nm (Weinstein-Lloyd y Lee, 1995). Todas las mediciones se realizaron a temperatura ambiente (25 °C) y de cada muestra se realizaron 4 réplicas. Al obtener el espectro de cada una de las muestras se suavizaron por medio de la opción Smooth: Savitsky- Golay del programa Fluorescence para desechar el ruido interferido en la lectura de la muestra. Lo siguiente, fue obtener la diferencia de altura ( $\Delta F$ ) del espectro mediante la siguiente ecuación:

$$\Delta F [\text{Cps}] = F_2 - F_1 \quad \text{Ec.6}$$

Al obtener  $\Delta F$  se normalizaron los datos respecto al blanco. Para ajustar el conjunto de datos experimentales de la curva de calibración  $\Delta F$  [cps] vs.  $C_{\text{H}_2\text{O}_2}$  (ppm) a un modelo matemático se utilizó la función logística de cuatro parámetros ( $A_1$ ,  $A_2$ ,  $x_0$  y  $p$ ) de acuerdo a la siguiente ecuación:

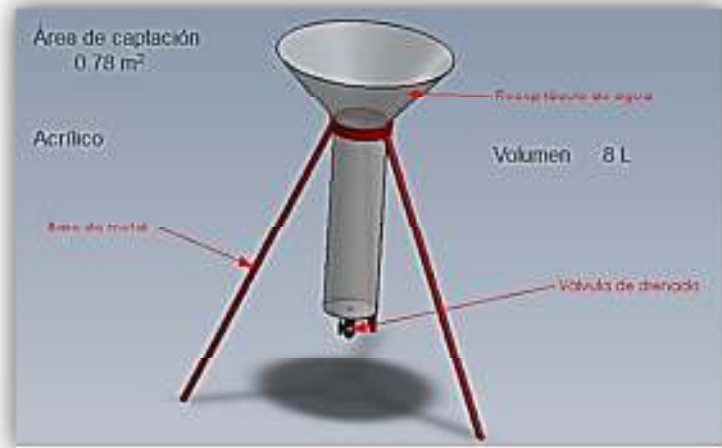
$$y = \frac{A_1 - A_2}{1 + (X/X_0)^p} \quad \text{Ec.7}$$

Donde  $A_1$  es la asíntota inferior y  $A_2$  es la asíntota superior, respectivamente. El rango entre  $A_1$  y  $A_2$  es definido como el rango de señal dinámico. El punto de inflexión está dado por  $x_0$  y representa la concentración del analito que corresponde al decremento del 50% del rango de la señal dinámico. La pendiente de la tangente en este punto está dada por el parámetro  $p$ . El rango de trabajo para este tipo de curvas de calibración está dado por el bloque comprendido entre el 10 y 90 % del rango de señal dinámico (Little, 2004).

### 3.4.2. Campaña de muestreo

#### 3.4.2.1. Descripción del equipo de muestreo

El muestrador tiene una altura específica para evitar contacto con el suelo, lo cual nos indica que los únicos contaminantes presentes en la muestra serán los de contacto directo con el aire, en la **Fig. 3.3** se muestra el diseño del equipo:



**Figura 3.3.** Receptor de muestra de agua pluvial.

#### 3.4.2.2. Procedimiento para el muestreo de agua

Una vez captada el agua pluvial, inmediatamente se transfirió el líquido a frascos de vidrio color ámbar con una capacidad de un litro. En la **Tabla 3.4** se especifican los volúmenes requeridos y la forma de preservación para las muestras. Es de suma importancia etiquetar los frascos con la fecha y hora del muestreo, volumen de muestra y el análisis correspondiente de cada una. Todo el material empleado para la toma de muestras fue previamente lavado de manera exhaustiva de acuerdo al procedimiento establecido en el laboratorio de Bioelectroquímica para evitar contaminantes ajenos a las muestras.

**Tabla 3.4.** Recipientes apropiados y preservación de muestra por parámetro.

Material	Cantidad	Preservación	Parámetros
Frasco de vidrio de color ámbar	200 ml	Refrigeración inmediata 4°C	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Frasco de vidrio de color ámbar	1 L	Refrigeración inmediata 4°C	Físicos y químicos

### 3.4.3. Determinación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en la muestra de agua de lluvia

Al finalizar la campaña de muestreo, de manera inmediata se procedió a realizar el análisis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por medio de la curva de calibración  $\Delta F$  vs. C<sub>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></sub> (ppm). Se tomó un mL de agua de lluvia recolectada y se colocó en un matraz de 10 mL, seguido a esto se procedió a añadir los reactivos de acuerdo a la **Fig. 3.2**. Finalizado el tratamiento de la muestra, se analizó en el espectrofluorímetro para obtener el espectro y  $\Delta F$ . Para determinar la concentración de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se despeja  $x$  de la ecuación logística de 4 parámetros para determinar la concentración de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Después, se prosiguió a realizar el método de adición estándar para 5 puntos, utilizando el agua de lluvia como muestra problema empleando la metodología de la **Fig. 3.2**. A partir de los datos proporcionados de la ecuación de la recta se obtuvo la concentración de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en la muestra utilizando la ecuación 5:

$$C_x = \frac{b C_s}{m V_x} \quad \text{Ec.5}$$

### 3.5.3. Evaluación de parámetros fisicoquímicos de las muestras de agua de lluvia.

Los parámetros fisicoquímicos evaluados para determinar la calidad del agua de lluvia de acuerdo a los límites permisibles de la NOM -127-SSA1-1994 fueron los siguientes: OD, DQO, sulfatos, nitratos, pH, turbidez, color, temperatura. La descripción de la NOM y los procedimientos de los parámetros fisicoquímicos se detallan en el anexo.

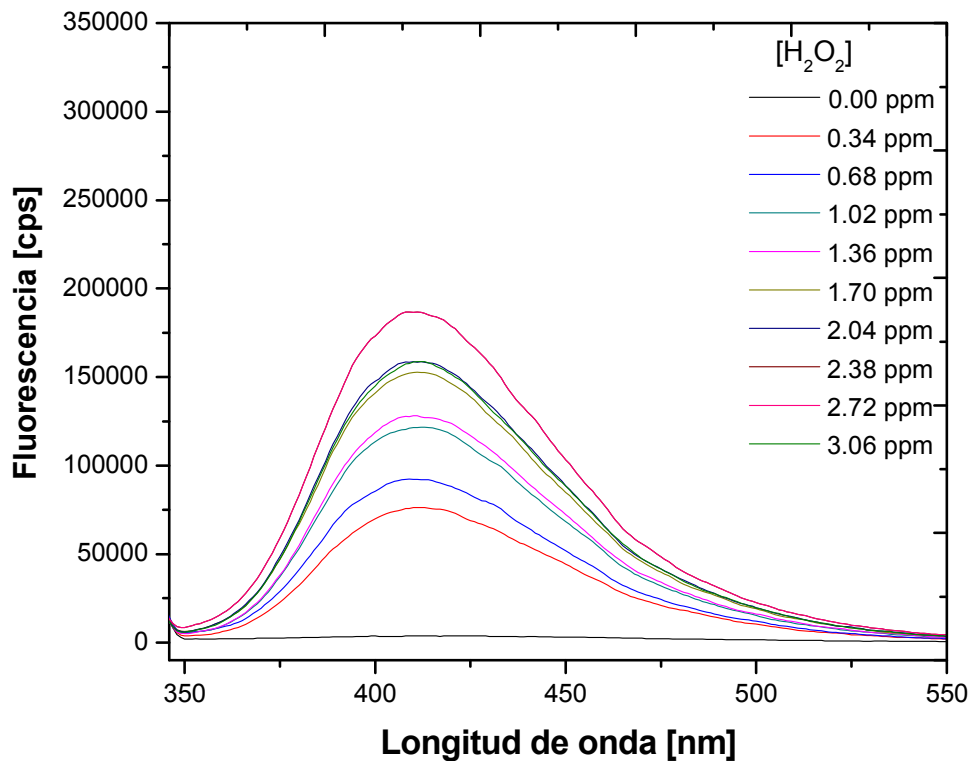
#### **3.5.4. Obtención de datos meteorológicos**

Por la ubicación de la zona de muestreo, nos basamos en tomar los datos de la estación Tecnológico ubicada en una latitud de  $20^{\circ}32'43.89$  y una longitud de  $100^{\circ}48'25.79''$ . Los datos extraídos de la estación meteorológica fueron: hora, temperatura,  $O_3$  y  $PM_{10}$ .

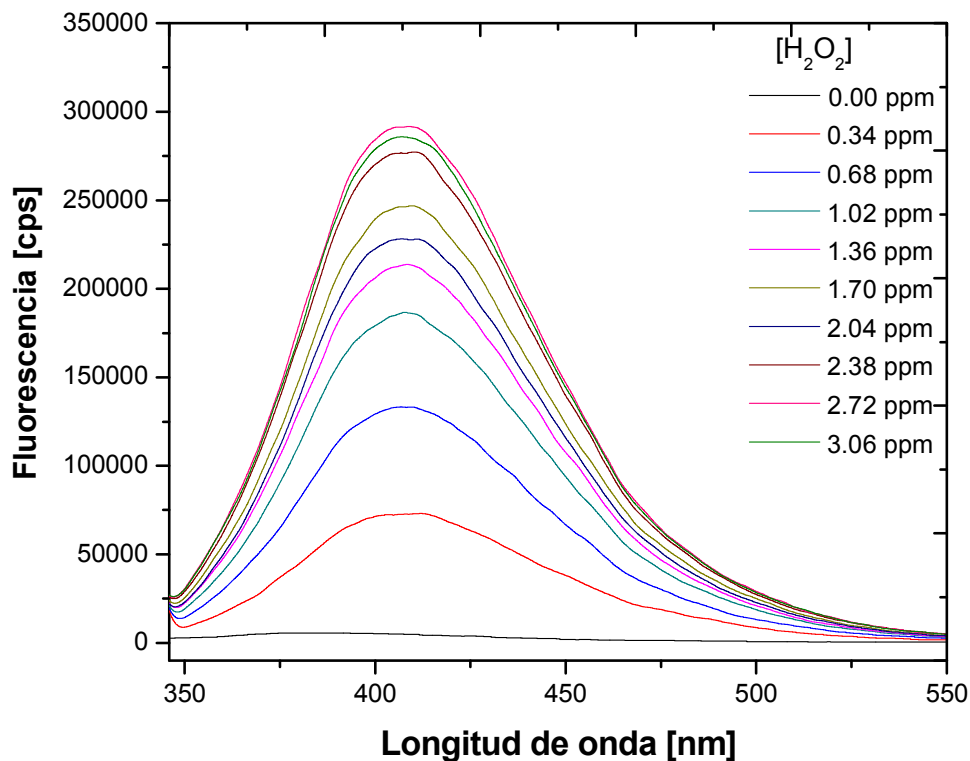
## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Construcción de curva una de calibrado con $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ y sin $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$

Se efectuó la construcción de una curva de calibración  $\Delta F$  [cps] vs.  $C_{\text{H}_2\text{O}_2}$  [ppm] Fenton OHBA con agua DI para comprobar la eficacia de la adición del reactivo mejorador de fluorescencia ( $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ ) empleado al método Fenton – OHBA (Lee *et al.*, 1990), se realizó la construcción de la curva de calibración sin y con la adición de este reactivo. De acuerdo con las condiciones experimentales definidas en la metodología experimental, el resultado de los espectros de fluorescencia [cps] contra longitud de onda [nm] se reportan en las siguientes figuras (Fig. 4.1; Fig. 4.2.):



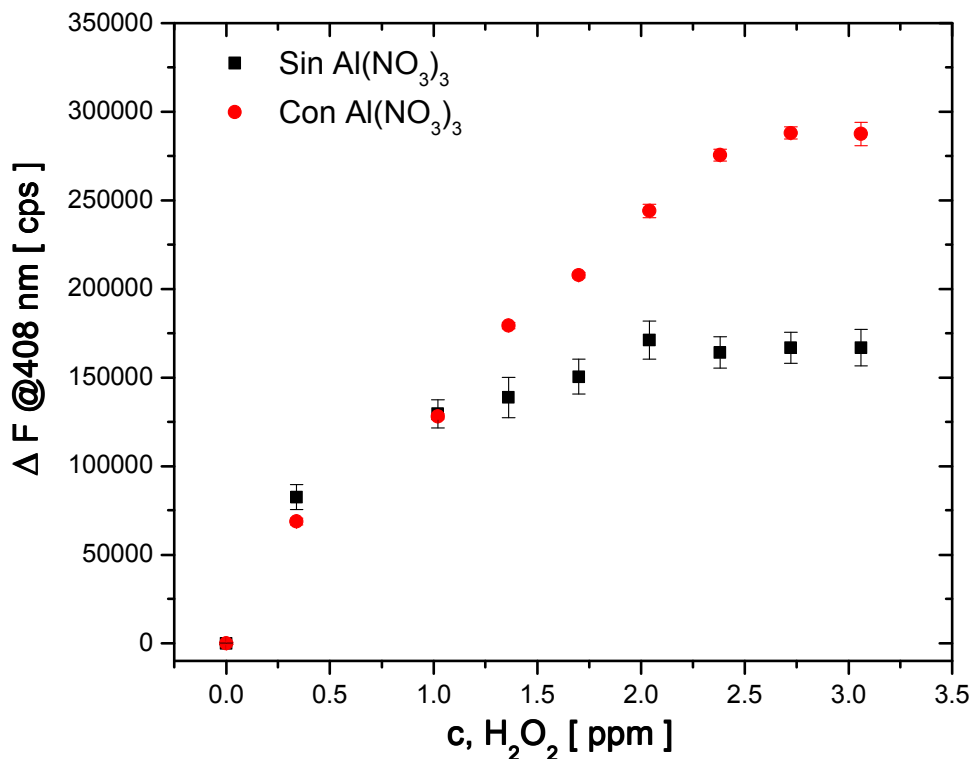
**Figura 4.1.** Espectros de fluorescencia del método Fenton-OHBA para la elaboración de la curva de calibración con agua DI sin el reactivo mejorador de fluorescencia ( $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ ).



**Figura 4.2.** Espectros de fluorescencia del método Fenton-OHBA para la elaboración de una curva de calibración con agua DI con reactivo mejorador de fluorescencia ( $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ ).

Al comparar los gráficos anteriores, se observa claramente una intensidad de fluorescencia del complejo de aluminio ácido hidroxibenzoico a una longitud de onda de 408 nm. De igual forma, hay una mejora de los espectros de fluorescencia con la adición de  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  al método Fenton-OHBA (Lee *et al.*, 1999). La comparación de las curvas de calibración sin el reactivo mejorador y con el reactivo mejorador se presenta en el siguiente gráfico:



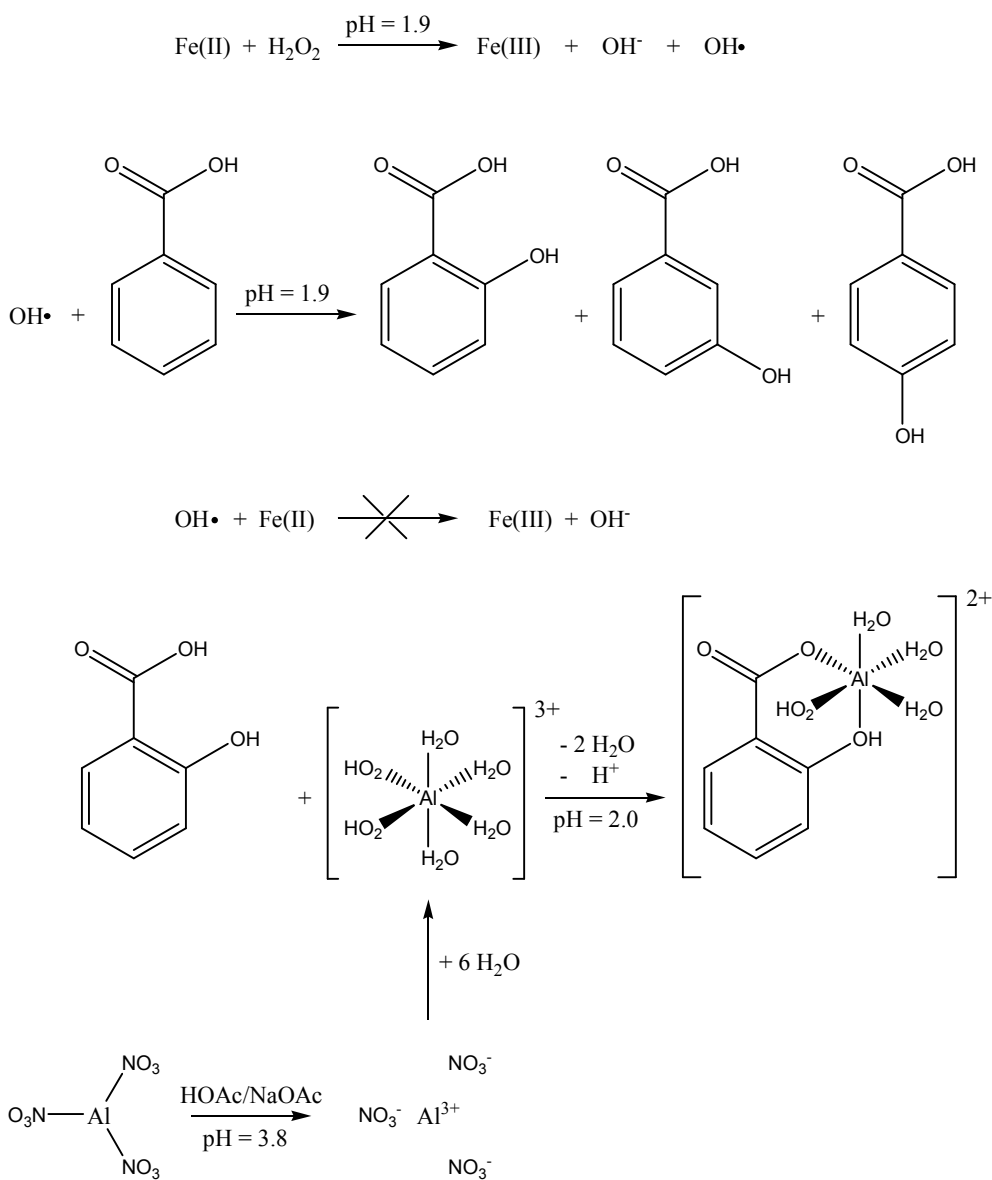


**Figura 4.3.** Curva de calibración  $\Delta F @ 408 \text{ nm [cps]}$  vs.  $c \text{ H}_2\text{O}_2 \text{ [ppm]}$ . Se compara el efecto de la adición de reactivo mejorador de fluorescencia ( $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ ) en el método Fenton-OHBA.

En la curva de calibración mostrada en la **Fig. 4.3** se compara el ajuste lineal de las dos curvas, la curva sin la adición de  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  arrojó un valor de coeficiente de correlación lineal igual a  $r^2 = 0.91432$ . El valor de la intercepción fue de: 152.28912 cps y el valor de la pendiente fue de: 108585.44 cps. En la curva con la adición de  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  se observa un valor de  $r^2 = 0.92664$  incrementando de forma favorable, considerando al añadir el reactivo mejorador. La DE de cada punto de  $c, \text{H}_2\text{O}_2 \text{ [ppm]}$  disminuye notablemente respecto al comparar las dos líneas. De igual forma, se puede observar que la pendiente de la línea mejora al agregar el  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ .

Entonces, el aumento considerable de la fluorescencia, se puede traducir debido a la formación de un complejo que mejora las propiedades de fluorescencia, esta conclusión se define en la siguiente figura (**Fig. 4.4**):

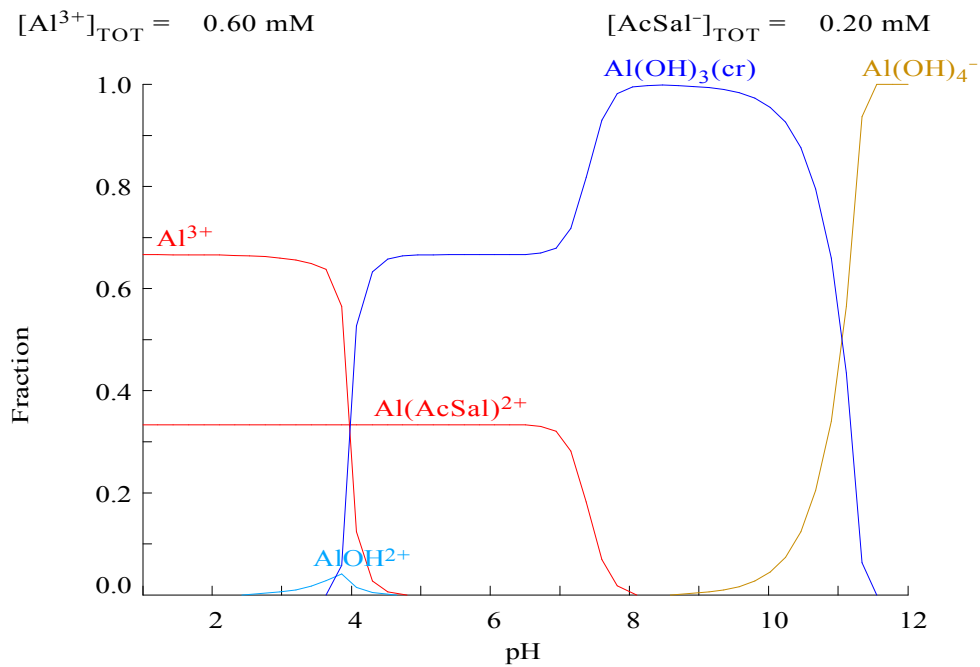
**Figura 4.4.** Procesos de formaciones de especies químicas por medio del método Fenton-OHBA.



En la **Fig. 4.4.**, se observa el proceso de formación de estructuras químicas del método Fenton-OHBA con la adición de una sal de aluminio. Primeramente se observa la producción del radical  $\text{OH}\cdot$  por la reacción entre  $\text{H}_2\text{O}_2$  y el ion  $\text{Fe(II)}$ , posteriormente las formaciones químicas de anillos benzoicos *orto*, *meta*, *para* en donde los OH se insertan formando ácidos salicílicos. Al añadir el  $\text{Al(NO}_3)_3$  con el buffer de acetatos el aluminio se encuentra con una estructura electrónica de :  $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^1$ . Al formarse el ion  $\text{Al}^{+3}$  pierde 3 niveles de electrones para dejar:  $1s^2 2s^2 2p^6$ . Esto significa que los 3 niveles de orbitales están vacíos. El aluminio usa 6 niveles de orbitales para aceptar pares iones de 6 moléculas de agua. Se reorganizan (hibridizan) el 3s, los tres 3p, y dos de los orbitales 3d para producir 6 orbitales de la misma energía (utiliza seis, ya que seis es el máximo número de las moléculas de agua que son posibles de encajar alrededor del ion aluminio). Al hacer el número máximo de enlaces, liberara más energía al anclarse en un *orto* anillo benzoico.

## 4.2. Efecto de pH

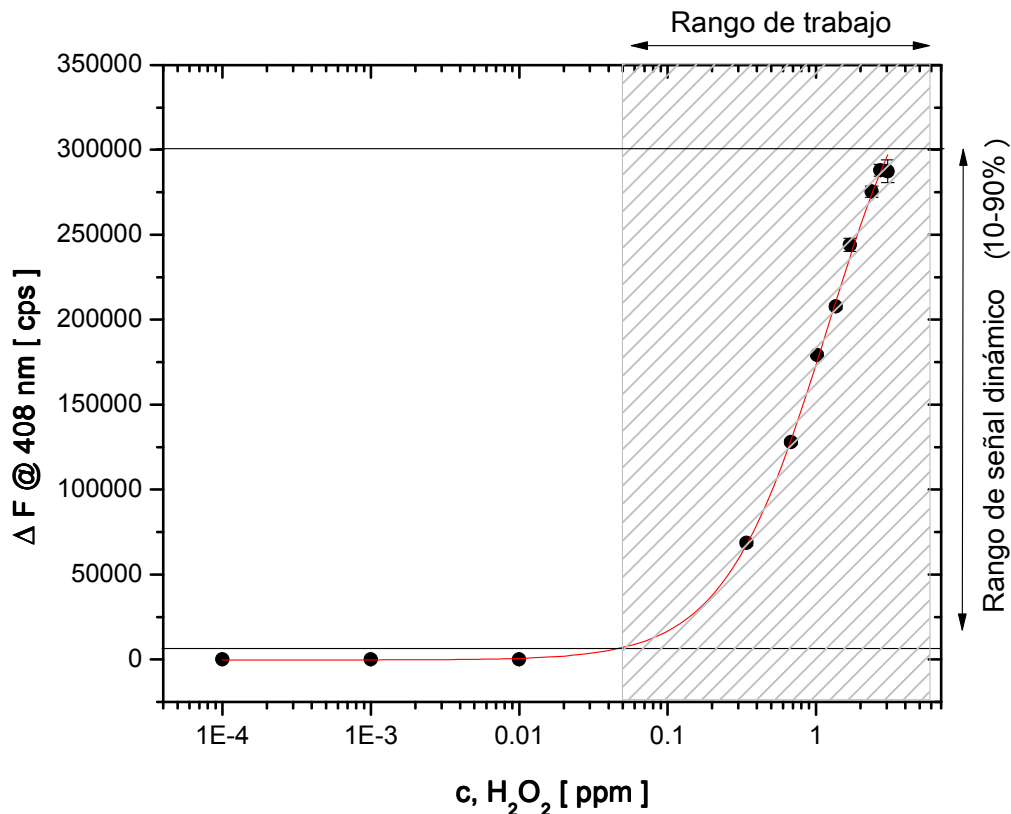
El día 29 de abril del 2013 se determinó el pH final de la soluciones de un matraz volumétrico de 10 mL que contenía la muestra problema ( $\text{FeSO}_4 + \text{BA} + \text{Al(NO}_3)_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ ) en donde el resultado final de pH fue de: 2.1. Para comprender la influencia que ejerce el pH sobre la formación de los complejos, se utilizó el programa HYDRA v.130109. Introduciendo los valores de concentración de los reactivos empleados en el método, en la figura del diagrama de especiación química (**Fig. 4.5**) se observa la formación de complejos a distintos pH. Claramente se observa que la formación de iones de  $\text{Al}^{3+}$  (importantes para la formación de los complejos de fluorescencia) son obtenidos en un intervalo de pH de 0 a 2.5. Si existe un pH mayor, habrá formaciones de otro tipo de sales de aluminio que podrían afectar las reacciones de la formación de complejos. Estos resultados nos confirman, que es de suma importancia verificar y si es necesario ajustar el pH al preparar las soluciones empleadas en el proyecto.



**Figura 4.5.** Diagrama de especiación química de las formaciones de complejos a diferentes pH.

### 4.3. Construcción de una curva de calibrado en función logística de 4 parámetros

Para ajustar el conjunto de datos experimentales de la curva de calibración  $\Delta F$  [cps] vs.  $C_{\text{H}_2\text{O}_2}$  [ppm] con la adición del reactivo mejorador a un modelo matemático se utilizó la función logística de cuatro parámetros ( $A_1$ ,  $A_2$ ,  $x_0$  y  $p$ ) (Little, 2004). El gráfico obtenido se presenta a continuación:



**Figura 4.6.** Curva de calibración para determinar  $H_2O_2$  en el intervalo de concentración de 0.01753- 3.0609ppm obtenida por medio de la técnica de espectroscopia de fluorescencia. El rango de trabajo se muestra en el rectángulo sombreado. Las barras de error representan la variabilidad de las mediciones.

De acuerdo con la gráfica anterior se puede observar que los datos experimentales se ajustaron excelentemente al modelo propuesto. Con una  $r^2 = 0.99951$ . El rango lineal de trabajo fue de 0.01753 - 3.0609 ppm, y una sensibilidad de 79618.1502 [cps/ppm] Para la desviación estándar del blanco (DE)<sub>blanco</sub> se obtuvo un valor de 658.28165 ppm y utilizando la función logística se obtuvo un de LOD = 0.0171 ppm y un LOQ = 0.05 ppm. Nuestro método tiene un mejor LOD que el propuesto por Tahirovic *et al.* (2009), y el rango de

señal dinámico abarca más que el propuesto por Lee *et al.* (1990) y Chenet *al.* (2007).

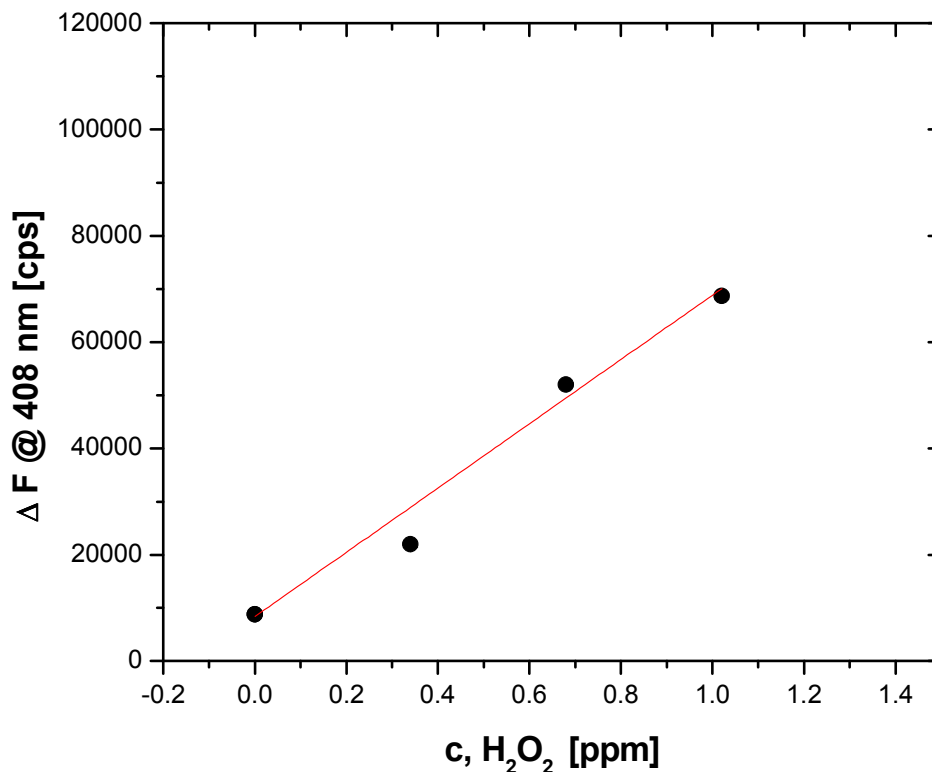
Siguiendo las reglas de la IUPAQ, el límite de detección (LOD) se calculó como tres veces la desviación estándar de las mediciones del blanco. El límite de cuantificación (LOQ) se calculó como diez veces la desviación estándar de las mediciones del blanco. Estos parámetros de calidad analítica ya han sido definidos en la sección de anexo.

#### **4.4. Análisis de muestra real**

Se obtuvo la muestra de agua de lluvia en Celaya el día 29 de julio del 2013 durante la noche en un período de colección de 9:30pm a 10:00 pm.

La determinación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en la muestra de agua de lluvia se analizó con la curva de calibración del método. Para calcular la concentración por medio de la curva de calibración antes propuesta, se despejó  $x$  del ajuste de la función logística de 4 parámetros obtenida en la curva de calibrado de la **Fig.4.5**:  $y = A_2 + (A_1 - A_2) / (1 + (x/x_0)^p)$ . Se sustituyeron los valores y el resultado obtenido fue de 0.02934 ppm.

Con el fin de contrastar el resultado anterior, se realizó otra curva por medio de adición estándar, de acuerdo a las fluorescencias obtenidas (Véase anexo), se presenta el siguiente gráfico de la **Fig. 4.7**:



**Figura 4.7.** Curva de  $\Delta F @ 408 \text{ nm [cps]}$  vs.  $C_{\text{H}_2\text{O}_2} [\text{ppm}]$  realizada por el método de adición estándar.

A partir de la ecuación de la recta obtenida  $y = 8360.04406 + 60459.54508x$  se realizó la operación por medio de la ecuación 5 (**Ec.5**) para calcular la concentración de nuestra muestra problema. Se multiplicó el valor de 8360.04406 por el valor en ppm de la solución patrón de  $\text{H}_2\text{O}_2$  de 0.00045 M (15.3045 ppm) y se dividió por el resultado de la multiplicación de 60459.54508 por el valor del volumen de la muestra problema 1 mL. El resultado del  $\text{H}_2\text{O}_2$  en agua de lluvia fue de 2.11 ppm.

El resultado arrojado por el método de adición de estándares acerca de la concentración de  $\text{H}_2\text{O}_2$  en la agua lluvia recolectada, nos sugiere que al contar con un resultado tan alto de 2.07 ppm, probablemente hubo algún efecto de la matriz en el método que interfirió en la lectura del  $\text{H}_2\text{O}_2$  produciéndonos una

exaltación en la sensibilidad proporcionándonos una señal de fluorescencia más alta (Ramis y García, 2001). Llevando a la conclusión que el agua de lluvia se formó en una atmósfera contaminada. Cabe resaltar que la probabilidad de contaminación va encaminada a la posible presencia de materia orgánica o de compuestos aromáticos presentes en el aire y pudieran estar fluoresciendo también, como menciona Rouessac (1998). El resultado que obtuvimos con la curva de calibración de 0.03 ppm fue únicamente del peróxido presente en la muestra, ya que la curva de calibrado se realizó con el uso de reactivos analíticos y agua DI, eliminando directamente los interferentes que causan el efecto de matriz. Este resultado de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> está dentro del promedio de las concentraciones a nivel mundial. Gonçalves *et al.* (2010) determinó un promedio de 0.01 ppm a 2.65 ppm, Watanabe *et al.* (2009) obtuvo valores por debajo de su límite de detección de 0.003 ppm a 6.46 ppm y Kibier *et al.* (2001) obtuvo valores entre 0.2 a 4 ppm. Estas variaciones se interpretan por la influencia de factores meteorológicos y reacciones que se manejaron en la revisión de literatura.

#### 4.5. Resultados de parámetros fisicoquímicos

Las mediciones de los parámetros fisicoquímicos se hicieron por cuatuplicado apoyándonos en la NOM-127-SSA1-1994 (descrita en el anexo C) para evaluar los resultados de las características del agua y así fijar un Imp para cada resultado con el fin de evaluar la calidad de esta agua. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

**Tabla 4.1.** Resultados de parámetros físicos de la muestra real.

Promedio	Resultado	NOM-127-SSA1-1994
SST	4 mg/L	1000 mg/L
Color	36 PtCo	20 PtCo
Turbidez	16 FAU	5 FAU
T	21.9 °C	NA



De acuerdo a la NOM, el color y la turbidez sobrepasan los Imp, indicándonos la posible existencia de partículas en suspensión como arcilla, minerales, sedimento, organismos microscópicos, cenizas, fenoles, etc. En conclusión, esta agua contiene material en suspensión. Sin embargo respecto al resultado de SST, no sobrepaso los Imp. El resultado de la temperatura permanece dentro de un rango normal.

**Tabla 4.2.** Resultados de parámetros químicos de la muestra real.

Promedio	Resultado	NOM-127-SSA1-1994
DQO	17.5 mg/L	NA
OD	83.6 %	NA
Nitratos	1.1 mg/L	10 mg/L
Sulfatos	5 mg/L	400 mg/L
pH	7.08	6.5-8.5

La DQO, según el indicador de calidad de agua de CONAGUA, el agua es de buena calidad, teniendo un bajo contenido de materia orgánica. Al tener un resultado bajo DQO, se puede observar un contenido alto de OD. Así que, nos sugiere que no existió algún consumo de OD para la formación de  $H_2O_2$ .

Los nitratos y los sulfatos, que juegan un papel importante en las reacciones de competencia con el  $H_2O_2$ , fueron de mínimas concentraciones respecto a la NOM, descartando así una posible relación en la formación de  $H_2SO_4$  y  $HNO_3$  por  $H_2O_2$ . El pH se encuentra en los límites normales del agua de lluvia, evitando así la formación de lluvia ácida al no brindarse las condiciones adecuadas para un proceso de oxidación (Ji *et al.*, 1991).

Respecto con los resultados anteriores, probablemente existió un bajo contenido de materia orgánica que afectó en las propiedades de turbiedad y color, así como algunas partículas en suspensión, sin embargo hay un alto contenido de oxígeno que no reaccionó para la formación de peróxido, evitando

así, la formación de procesos de oxidación de sulfatos y nitratos para acidificar el agua de lluvia.

#### 4.6. Resultados de parámetros meteorológicos

**Tabla 4.3.** Resultados de la estación meteorológica Tecnológico de la ciudad de Celaya el día 24/07/13 a las 21:00 hrs.

Fecha	Hora	O <sub>3</sub> ppb	SO <sub>2</sub> ppb	NO <sub>2</sub> ppb	CO ppm	PM <sub>10</sub> µg/m <sup>3</sup>	Vel. V.	Dir. V.	Tem
13-07- 24	21:00	15.86	NA	NA	NA	55.12	1.71	63.37	18.0

Un factor importante en la formación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Marinoni *et al.*, 2011; Gonçalves *et al.*, 2010; Watanabe *et al.*, 2009; Padilla *et al.*, 2007) fue la falta de radiación solar, ya que el muestreo fue durante la noche, evitando la formación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> durante esa hora, cuantificando solo el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> restante que se formó durante el transcurso de ese día.

De acuerdo a la literatura, además de la radiación solar, debe de existir una disponibilidad de ozono para su formación, y de acuerdo a la NOM- 020-SSA1-1993 y otros datos históricos de ozono de la misma estación, ese día hubo concentraciones mínimas de este elemento. Un parámetro importante fue la presencia de PM<sub>10</sub> en el aire. Esto nos explicaría el posible efecto de matriz en nuestro método (mencionado anteriormente), resultando así el contenido determinado de turbiedad y color en la muestra de agua de lluvia.

## 5. CONCLUSIONES

Se logró reproducir el método Fenton-OHBA por medio de espectroscopia de fluorescencia para la detección de  $H_2O_2$  en agua de lluvia. Se comparó el método por medio de la adición y sin la adición de un reactivo mejorador de fluorescencia, explicando las causas de su intervención. Se obtuvo una curva de calibración para la el análisis inmediato por medio de interpolación para las muestras de  $H_2O_2$  en agua de lluvia, cumpliendo con un intervalo de detección adecuado para las concentraciones que pudieran existir en agua de lluvia, definiendo así mismo los parámetros analíticos del método.

Se analizó una muestra real mediante la interpolación de una curva de calibración propuesta y por medio de una curva realizada por el método de adición de estándar, destacando que sufre de interferencias en las lecturas, debido a la fluorescencia de otros componentes obteniendo valores no solo de las concentraciones del  $H_2O_2$ , sino también de la matriz.

Se relacionó la concentración obtenida del análisis de muestra real de peróxido con parámetros fisicoquímicos y meteorológicos, definiendo que el muestreo de noche influye en las concentraciones de formación de  $H_2O_2$ .

El sitio de muestreo cuenta con una atmósfera un tanto limpia, ya que la lluvia presento un pH normal promedio, y se evitó la formación de nitratos y sulfatos que participan en una lluvia ácida. El problema que destaca en la lluvia de Celaya, es que existen niveles un tanto altos de  $PM_{10}$  que influyen en la turbiedad del agua de lluvia, debido al propio lavado atmosférico y se presentan como un efecto matriz en el método de adición de estándar

## 6. PERSPECTIVAS

Se requieren más estudios en México respecto a la determinación de  $H_2O_2$  para comprender la contribución de este compuesto en la transformación de los elementos en el ambiente atmosférico, y así conocer mejor sus fuentes y remociones. Y poder atacar el problema ambiental de la lluvia ácida de otra posible manera.

El desarrollo de técnicas sencillas para analizar el  $H_2O_2$  en tiempo real debe también de ser atendido. Con la base de esta técnica, se pretende en un futuro desarrollar un kit para el sencillo análisis del peróxido, y poder realizar campañas de muestreo en regiones remotas.

Se recomienda ampliar el rango lineal de trabajo de la curva de calibración propuesta.

Se recomienda hacer los debidos análisis de metales, hidrocarburos, coliformes totales, materia orgánica y de hidrocarburos, para comprobar una posible existencia de ellos respecto a los resultados obtenidos en la ciudad de Celaya y así poder descartar este resultado de una posible interferencia con el método de adición estándar.

## 7. LITERATURA CITADA

Allen, N.D.C., G .G. Abad, P. F.Bernath y C.D. Boone 2013. "Satellite observations of the global distribution of hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) from ACE". *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer*. Vol.115, 66-77.

Andrews, J.E., P. Brimblecombe, T. D. Jickells, S. P. Liss y B. Reid. 2004. "An introduction to environmental chemistry". 2nd ed. ISBN 0-632-05905-2. pp. 36, 44. Disponible: [http://f3.tiera.ru/2/Ch\\_Chemistry/Andrews\\_J.E.,\\_et\\_al,\\_eds\)\\_An\\_introduction\\_to\\_environmental\\_chemistry\\_\(2ed.,\\_Blackwell,\\_2004\)\(,ISBN200632059052\(O\)\(326s\)\\_Ch\\_.pdf](http://f3.tiera.ru/2/Ch_Chemistry/Andrews_J.E.,_et_al,_eds_An_introduction_to_environmental_chemistry_(2ed.,_Blackwell,_2004)(,ISBN200632059052(O)(326s)_Ch_.pdf)

Centro Virtual de Información del Agua. 2012. ¿Qué es el ciclo del agua? [http://www.agua.org.mx/h2o/index.php?option=com\\_content&view=category&id=1118&Itemid=300009#precipitacion](http://www.agua.org.mx/h2o/index.php?option=com_content&view=category&id=1118&Itemid=300009#precipitacion) [En línea]

Cerón, R.R., M. Muriel y J.G.Cerón.2004." Improvement of  $H_2O_2$  stabilization in rainwater samples". *Global Nest: Int. J.* Vol.6. No 2. 149-156.

Chen, H., H. Yu., Y. Zhou yL. Wang. 2007. "Fluorescent quenching method for determination of trace hydrogen peroxide in rainwater". *Spectrochimica ActaPart A*. Vol. 67. 683-686.

Chen, X., M. Aoki, S. Zhang, J. Zhang, S. Nozo, D. Kmori, A. Takami y A. Hatakeyama, S. 2008. "Observation of hydrogen peroxide concentrations in a Japanese red pine forest". *J AtmosChem*. Vol. 60. 37-49.

Clavijo, D. A. 2002. "Fundamentos de Química Analítica: Equilibrio Iónico y Análisis Químico". Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá, ISBN 958-701-138-4, pp. 681-682.

Day, R. A., Jr. y A.L. Underwood. 1989. "Química Analítica Cuantitativa". 5 ed., Prentince-Hall Hispanoamericana, S.A., México, ISBN 0-13-746728-1. pp. 764 – 766.

Deng, Y. y Z.Yuegang. 1999. "Factors affecting the levels of hydrogen peroxide in rainwater". *Atmos. Environ.* Vol. 33. 1469-1478.

Dillon, J., R. Watson y C. Tosunoglu. 1993. "Chemistry and the Environment, Centre for Educational Studies". King's College, Education Division, The Royal Society of Chemistry, London.

Dorfman, L. M.; I.A. Tauh y R.E.Buhler. 1962. J. Chem. Phys. Vol. 36, 30515061.

T.,T.K.,F. Grathouse., F. Lefèvre yS.K. Atreya. 2011. Hydrogen peroxide on Mars: Observations, interpretation and future plans. Planet.Space.Sci.

Eriksson E. 1952. "Composition of Atmospheric Precipitation.Sulfur, chloride, iodine compounds".Bibliography.Institute of Pedology and Institute of General and Inorganic Chemistry, Royal Agricultural College of Sweden, Uppsala.Manuscript. Vol.4. 6.

Evaristo H.A. 2010. "Tratamiento de Aguas Superficiales por Electrocoagulación para su Infiltración al Subsuelo". Tesis de licenciatura. Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica/Instituto Tecnológico de Celaya, Celaya, Guanajuato, México, pp. 39-42.

Gregory L. Kok. 1967. "Measurements of hydrogen peroxide in rainwater". Atms. Environ. Vol. 14. No. 6. 653-657.

González, C.M y B.H. Aristizábal. 2012. "Acid rain and particulate matter dynamics in a mid-sized Andean city: The effect of rain intensity on ion scavenging", Atmos Environ.

Gonçalves, C., A.M. Santos, A. Fornaro y J.J. Pedrotti. 2010. "Hydrogen peroxide in the rainwater of Sao Paulo megacity: Measurements and controlling factors". J. Braz. Chem. Soc., Vol. 21.No.2, 231-339.

Harris, D.C.2007. "Análisis químico cuantitativo". Sexta edición. Editorial Reverté. Barcelona, España. ISBN: 84-291-7224-6. pp.88-90.

Honorio, B.A.D., A.M.C. Horbe yP. Seyler. 2010. "Chemical composition of rainwater in western Amazonia-Brazil". Atmospheric Research. Vol.98. 416-425.

Howard B.C. 2013. "West Virginia Fights Acid Rain by Dumping Limestone Into Streams, Abril 2013". National Geographic: Water Currents.

<http://newswatch.nationalgeographic.com/2013/04/10/west-virginia-fights-acid-rain-by-dumping-limestone-into-streams/>[En línea].

Ibanez J.G., M.H. Esparza, C.D. Serrano y A.F. Infante.2007, "Environmental chemistry fundamentals", *Springer Science.Busines Media*.ISBN 978-0-387-26061-7.

Instituto de Ecología del Estado de Guanajuato. 2012. "Informe de Estados y Tendencia de la Calidad del Aire en el Estado de Guanajuato". pp. 95

Instituto Nacional de Ecología, 2012."Datos generales de los estados", <http://www.ine.gob.mx/>[En línea].

Jackson, A.V. y C.N. Hewitt. 1999. "Atmosphere hydrogen peroxide and organic hydroperoxides: A review". *Crit. Rev. Env. Sci. Tec.* Vol.29. No.2. 175-228.

Ji, S., Z. Qianxue, Z. Xiaoshan, Z. Baozhu, Z. Dianwu, F. Zenghua y C. Panjiang. 1991. "Sulfur dioxide-hydrogen peroxide relationships and acidification of precipitation in Guiyang area- a case of study". *J. Enviro. Scien.(China)*.Vol.3, No.1.41-58.

Jones, Craig W. 1999. "Applications of hydrogen peroxide and derivatives".Ed. Royal Society of Chemistry". pp. 14-15. [http://www.knovel.com/web/portal/browse/display?\\_EXT\\_KNOVEL\\_DISPLAY\\_booki=1204&VerticalID=0](http://www.knovel.com/web/portal/browse/display?_EXT_KNOVEL_DISPLAY_booki=1204&VerticalID=0) [En línea]

Kieber, R.J., B. Peake, J.D. Willey y B. Jacobs. 2001. "Iron speciation and hydrogen peroxide concentrations in New Zealand rainwater". *Atmos. Environ.* 6041-6048.

Kieber R. J, J. Smith, K.M. Mullaugh, M.W. Southwell, G.B. Avery Jr. y J. Willey. 2010. "Influence of dissolved organic carbon on photochemically mediated cycling of hydrogen peroxide in rainwater". *J Atmos Chem.* Vol. 64, 149-158.

Kroschwitz, J. I. y M. Howe-Grant.1995 "Encyclopedia of chemical technology".Vol. 13, 4<sup>th</sup> ed., pp. 961- 962, ISBN 0-471-52682-7.

Krupa S.V. 2002. "Sampling and physico-chemical analysis of precipitation: a review". *Environ. Pollut.* Vol.120, 565-594.

Kurihara, M., M. Muramatsu, M. Yamada y N. Kitamura. 2012. "Flow injection determination of hydrogen peroxide using catalytic effect of cobalt (II) ion on a dye formation reaction". *Talanta*, Vol. 96: 180-184.

Little J.A. 2004. "Comparison of curve fitting models for ligand binding assays". *Chromatographia*. Vol. 59 (0):S177-S181.

Lee M., Kim Joo-Ae., Y. Kim y L. Gangwoong. 2008. "Characteristics of atmospheric hydrogen peroxide variations in Seoul megacity during 2002-2004". *Sci. Total. Environ.* Vol.393. 299-308.

Leng, D.F. y F. Cheng. 2008. "Analysis of hydrogen peroxide and an organic hydroperoxide via electrocatalytic Fenton reaction". *Microchem. J.* Vol. 91, 78-81.

Marinoni, A., M. Parazols, M. Brigante, L. Deguillaume, P. Amato, P. Delort Annie, Laj. y G. Mailhot. 2011. "Hydrogen peroxide in natural cloud water: Sources and photoreactivity". *Atmos. Res.* Vol. 101. 256-263.

Miller C., J.D. Willey y R.J. Kibier. 2008. Changes in rainwater composition in Wilmington, NC during tropical storm Ernesto". *Atmos. Environ. Monograph*, "Electrochemistry a laboratory textbook". Editorial: Metrohm pp.36-38.

Möller D.. 2009. "Atmospheric hydrogen peroxide: Evidence for aqueous-phase formation from a historic perspective and a one-year measurement campaign". *Atmos. Environ.* Vol. 43.5923-5936.

Mullaugh, K.K., J.D. Willey, R.J. Kibier, R.N. Mead y G.B. Avery Jr. 201. "Dynamics of the chemical composition of rainwater throughout Hurricane Irene". *Atmos. Chem. Phys. Discuss.* Vol.12. 26995-27020.

Mullaugh K.M., R.J. Kibier, J.D. Willey y G.B. Avery Jr. 2012. Long- Term Temporal Variability in Hydrogen Peroxide Concentrations in Wilmington, North Carolina USA Rainwater. *Environ. Sci. Technol.* Vol. 45. 9538-9542.

Noone, K.J., J.A. Ogren, K.J. Noone y A. Hallber. 1991. "Measurements of the partitioning of hydrogen peroxide in a stratiform cloud". *Tellus*, 43B. 280-290.



Ortiz, V., M.A. Rubio y E.A. Lissi. 2000. "Hydrogen peroxide deposition and decomposition in rain and dew waters". *Atmos. Environ.* Vol.34. 1139-1146.

Padilla, H., M.C. Torres, R. Belmont, R. García y A. Báez. 2007. "Total peroxides and sulfate in rainwater in the Mexican eastern Pacific Ocean during the Climatic Experiment in the Americas Warm Water Pools". *Atmos.* Vol. 20(3), 299-305.

Padilla, H., M.C. Torres, R. Belmont, R. García, E. Mendoza y A. Báez. 2007. "Total peroxides in rainwater at two mountainous sites and Mexico city". *Chem. Ecol.* Vol. 23, No.4. 325-336.

Peña, R.M., S. García, C. Herrero y T. Lucas. 2001. "Measurements and analysis of hydrogen peroxide rainwater levels in a Northwest región of Spain", *Atmos. Environ.*, Vol. 35, 209-219.

Polle A. y Wolfgang.J. 1994. "Does atmospheric hydrogen peroxide to damage to forest trees?". *Environ. Sci. Technol.* Vol. 28. 812-815.

Ramos G.R. y C.G. Álvarez-Coque. "Quimiometría". Ed. Síntesis. España. ISBN 84-7738-904-7.p. 99-100.

Rouessac, F. y A. Rouessac. 1998. "Chemical analysis, Modern instrumentation methods and techniques". John Wiley & Sons, Inc. New York. 222-224.

Santos, M.A., J.J. Pedrotti y A. Fornaro. 2007. "Evaluation of hydrogen peroxide in rainwater in downtown Sao Paulo". *Highway and urban environment: Proceedings of the 8<sup>th</sup> highway and urban environment symposium*, 119-128.

Santos, S.M., M. Otero, E.B.H. Santos y A.C. Duarte. 2010. "Chemical composition of rainwater at a coastal town on the southwest of Europe: What changes in 20 years?" *Scien.of Total Environ.* 409. 3548-3553.

Santos, S.M., M. Otero, E.B.H. Santos y A.C. Duarte. 2010. "Molecular fluorescence analysis of rainwater: Effects of simple preservation". *Talanta.* Vol. 82. 1616-1621.

Skoog, D.A, F.J.Holler y T.A. Nieman. "Principios de análisis instrumental". 5<sup>ta</sup> Edición. McGraw Hill.ISBN 0-03-002078-6. pp 12-16.

Taniai T., A. Sakuragawa y T. Okutani. 2000. "Monitoring of hydrogen peroxide, nitrate and nitrite in rainwater". Analytical Sciences. Vol.16

U.S. Environmental Protection Agency (EPA).Acid rain home.2011. <http://www.epa.gov/acidrain/measure/index.html>. [En línea].

Vázquez, A., M. Costoya,,R. Peña, S. García y C. Herrero. 2003. "A rainwater quality monitoring network: a preliminary study of the composition of rainwater in Galicia (NW Spain)". Chemosphere, Vol. 51.375–386.

Watanabe, K., M. Aoki, N. Eda, Y. Saito, Y. Sakai, S. Tamura, M. Ohata, M. Kawabuchi, A. Takahashi, N. Miyashita y K. Yamada. 2009. "Measurements of peroxide concentrations in precipitation and dew water in Tomaya, Japan". Jpn. Soc. Snow. Ice. Bull. Glac. Resear. Vol. 27.1-5.

Weihan, S., L. Wei, D. Guoan.yW.E. Wilson. 1989. "A Study on Hydrogen Peroxide in the Atmosphere". Advances in Atmospheric Sciences.Vol.6 No.4.

Weinstein-Lloyd J. y J.H. Lee. 1995. "Analysis of hydrogen peroxide by fluorescence spectroscopy". J. Chem. Edu. Vol. 72, No.11, pp. 1053-1055.

Jinchun Y. y A.M. Miller. 2000. "The variation of hydrogen peroxide in rainwater over the South and Central Atlantic Ocean". Atmos. Environ. Vol. 34. 3973-3980.

Zhang X., H. Jiang,Q. Zhang y X. Zhang. 2012. "Chemical characteristics of rainwater in northeast China, a case of study of Dalian". Atmos. Res.

**ANEXOS**

### A.1. Parámetros de calidad

La selección de los métodos analíticos se realiza con el fin de mejorar varios parámetros analíticos característicos, como se enumeran en la **Tabla A.1**, donde se describen los criterios cuantitativos de funcionamiento de los instrumentos, criterios que se pueden utilizar para decidir si un determinado método instrumental es o no adecuado para resolver un problema analítico. Estas características se expresan en términos numéricos y se denominan parámetros de calidad. Para un problema analítico dado, los parámetros de calidad permiten reducir la elección de los instrumentos a tan solo unos pocos (Skoog, 1992).

**Tabla A.1.** Criterios numéricos para seleccionar métodos analíticos (Skoog, 1992).

Criterio	Parámetro de calidad
1. Precisión	Desviación estándar absoluta, desviación estándar relativa, coeficiente de variación, varianza.
2. Sesgo	Error absoluto sistemático, error relativo sistemático.
3. Sensibilidad	Sensibilidad de calibración, sensibilidad analítica.
4. Límite de detección	Blanco más tres veces la desviación del blanco.
5. Intervalo de concentración	Concentración entre el límite de cuantificación (LOQ) y el límite de linealidad (LOL).
6. Selectividad	Coeficiente de selectividad.

En este proyecto se buscó realizar el método instrumental principalmente por:

- a) Sensibilidad y selectividad.
- b) Precisión y exactitud.
- c) Bajo coste y bajo impacto medioambiental.
- d) Simplicidad y tiempo de análisis menor.
- e) Volumen de muestra reducido.

## A.2. Precisión

La precisión de los datos analíticos se define como el grado de concordancia mutua entre los datos que se han obtenido de una misma forma. La precisión indica la medida del error aleatorio, o interinado, de un análisis. Los parámetros de calidad de la precisión son la desviación estándar absoluta, desviación estándar relativa. Estos términos se describen en la tabla siguiente:

**Tabla A.2.** Parámetros de calidad para la precisión de métodos analíticos (Skoog, 1992).

Términos	Definición
Desviación estándar absoluta $s$	$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N-1}}$
Desviación estándar relativa (RSD)	$RSD = \frac{s}{\bar{x}}$
Desviación estándar de la media $s_m$	$s_m = s / \sqrt{N}$
Varianza	$S^2$

\* = valor numérico de la  $i$ ésima medida.

$$\bar{x} = \text{media de } N \text{ medidas} = \frac{\sum_{i=1}^N x_i}{N}$$

## A.3. Sesgo

El sesgo mide el error sistemático, o determinado, de un método analítico. El sesgo se define mediante la ecuación

$$\text{Sesgo} = \mu - x_1$$

donde  $\mu$  es la media de la población de la concentración de un analito en una muestra cuya concentración verdadera es  $x_1$ . Sin embargo, los resultados de dichos análisis también tendrán tanto errores aleatorios como errores

sistemáticos, pero si se realiza un número suficiente de determinaciones, se puede determinar el valor de la media, para un nivel de confianza dado.

En general, al desarrollar un método analítico, todos los esfuerzos se dirigen hacia la identificación de las causas de sesgo y a su eliminación o corrección mediante el uso de blancos y calibrado del instrumento.

#### **A.4. Sensibilidad**

En general se acepta que la sensibilidad de un instrumento o método es una medida de su capacidad para diferenciar pequeñas variaciones en la concentración del analito. Dos factores limitan la sensibilidad: la pendiente de la curva de calibrado y la reproducibilidad o precisión del sistema de medida. Entre dos métodos que tengas igual precisión, será más sensible aquel cuya curva de calibrado tenga mayor pendiente. La definición cuantitativa de la sensibilidad aceptada por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC), es la sensibilidad de calibrado, que se define como la pendiente de la curva de calibrado a la concentración objeto de estudio. La mayoría de las curvas de calibrado que se usan en química analítica son lineales y se pueden representar mediante la ecuación:

$$S = mc + S_{bl}$$

En la que la  $S$  es la señal medida,  $c$  es la concentración del analito,  $S_{bl}$  es la señal instrumental de un blanco y  $m$  es la pendiente de la línea recta. El valor de  $S_{bl}$  será la intersección de la recta con el eje  $y$ . En dichas curvas, la sensibilidad de calibrado es independiente de la concentración  $c$  y es igual a  $m$ . La sensibilidad de calibrado como parámetro de calidad tiene el inconveniente de no tener en cuenta la precisión de las medidas individuales. Una desventaja de la sensibilidad analítica es que generalmente depende de la concentración, ya que  $s_s$  puede variar con ella (Skoog, 1992).

#### **A.5. Límite de detección**

En la literatura, varios enfoques para la determinación del límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) son descritos. La elección es de la simple consideración del ruido de fondo como medida para la sensibilidad en lugar de exámenes complejas estadísticas de la medición del error. Para una aplicación práctica, lo llamaron enfoque de regresión, encontrándose que era muy útil. Por un lado es muy fácil de llevar a cabo, por el otro lado te provee de valores reales para el valor crítico o nivel crítico (LC) y el valor mínimo cuantificable(verdadero) o el límite de cuantificación (LQ) como la LOD y LOQ deberían de ser nombradas de acuerdo a la IUPAC. En principio, el enfoque de regresión es un enfoque estadístico simplificado. Utiliza una desviación estándar residual de una curva de calibración grabada en el rango de concentración del límite de cuantificación para el cálculo. La curva de calibración debe de cumplir con los siguientes requerimientos (Metrohm):

- a) Relación lineal entre concentración y señal, curva de calibración  $y=A+Bx$ .
- b) Medición del blanco ( $c=0$ ) debe de ser incluida en la curva de calibración.
- c) De 5 a 10 estándares de calibración, puntos de calibración equidistantes.
- d) De 5 a 10 replicaciones por estándar, mismo número de réplicas por estándar.
- e) Min.40 puntos medibles para  $c= 0$
- f) Más baja concentración en el rango de LOQ
- g) Más alta concentración 10...30 LOD
- h) La adición estándar puede ser usada para grabar la curva de calibración
- i) La desviación estándar es homogénea

Para los cálculos, las siguientes reglas deben de ser consideradas:

- a) Señales del blanco ( $c = 0$ ) son incluidas en el cálculo para la desviación estándar residual ( $S_y$ ).
- b) Señales blanco ( $c = 0$ ) no son incluidas para el cálculo de los parámetros A (intersección) y B (pendiente) de la regresión lineal.

Fórmulas:

$$y = A + Bx$$

Donde:

y= pico máximo

x= concentración del analito

A= Intersección de la regresión linear

B= Pendiente de la regresión linear

$$S^2_y = \sum_{i=0}^n \left( \frac{(y_i - \hat{y}_i)^2}{n-m} \right)$$

Donde:

Sy= Error estándar para estimar (desviación estándar residual) en regresión.

Sy<sup>2</sup>= Varianza de yi

yi= valor de señal del punto i<sup>th</sup> en la regresión

yi= Valor de regresión de la señal en el punto i<sup>th</sup> en la regresión linear

n= número de puntos de la regresión

ns= número de estándares de calibración

m= número de regresión de parámetros (para la regresión linear m=2)

$$\text{Concentración LOD} = \frac{3 \times S_y}{B}$$

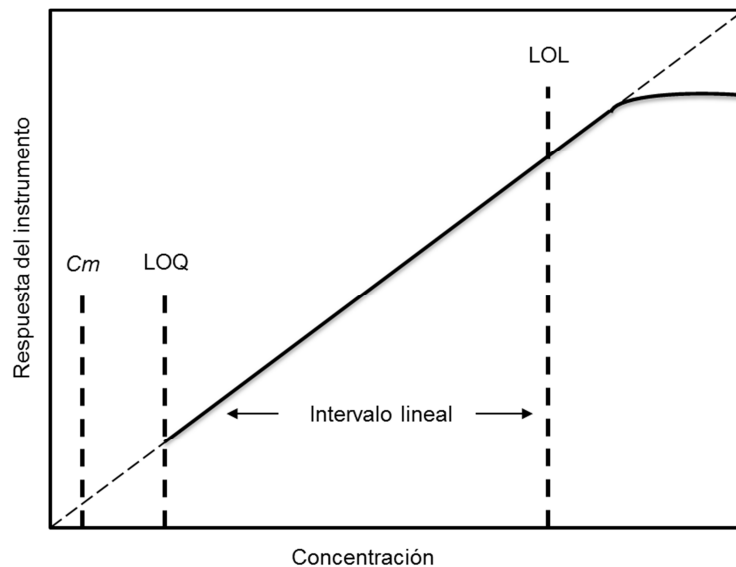
$$\text{Concentración LOQ} = \frac{10 \times S_y}{B}$$

## A.6. Intervalo lineal

Como se representa en la **Fig. A.1.**, el intervalo lineal de un método analítico va desde la concentración más pequeña a la que se puede realizar en medidas cuantitativas (límite de cuantificación LOQ) hasta la concentración a la que la



curva de calibrado se desvía de la linealidad (límite de linealidad LOL o LOD). Para las medidas cuantitativas se toma como límite inferior, en general, la que corresponde a diez veces la desviación estándar de las medidas repetidas en un blanco o  $10s_{bl}$ . En este punto, la desviación estándar relativa es del orden de un 30 por 100 y disminuye con rapidez cuando las concentraciones aumentan. En el límite de detección, la desviación estándar relativa es del 100 por 100.



**Figura A.1.** Intervalo lineal de un método analítico. LOQ = Límite de cuantificación; LOL = límite de linealidad (Skoog, 1997).

Para que un método analítico sea útil, debe tener un intervalo lineal de, al menos, dos órdenes de magnitudes. Algunos métodos tienen un intervalo de concentración aplicable de cinco a seis órdenes de magnitud (Skoog, 1992).

### **A.7. Selectividad**

La selectividad de un método analítico indica el grado de ausencia de interferencias con otras especies que contiene la matriz de la muestra. Desafortunadamente, ningún método analítico está totalmente libre de estas interferencias y, con frecuencia, hay que realizar diversas etapas para la minimizar sus efectos.

Una muestra que contiene un analito A así como dos especies potencialmente interferentes B y C. Si  $c_A$ ,  $c_B$ ,  $c_C$  son las concentraciones de las tres especies, y  $m_A$ ,  $m_B$ , y  $m_C$  corresponden a su sensibilidad de calibrado, la señal total del instrumento vendrá dada por la siguiente ecuación:

$$S = m_A c_A + m_B c_B + m_C c_C + S_{bl}$$

Se define ahora el coeficiente de selectividad de B respecto a A como:

$$K_{BA} = m_B / m_A$$

El coeficiente de selectividad indica, por tanto, la respuesta relativa del método para la especie B cuando se compara con A. Un coeficiente similar para C con respecto a A será:

$$K_{CA} = m_C / m_A$$

La sustitución de estas relaciones en la ecuación conduce a:

$$S = m_A (c_A + k_{B,A} c_B + k_{C,A} c_C) + S_{bl}$$

Los coeficientes de selectividad pueden variar desde cero (no hay interferencia) hasta valores bastantes superiores a uno. Hay que tener en cuenta que un coeficiente es negativo cuando la interferencia causa una reducción en la intensidad de la señal del analito. Por ejemplo, si la presencia de un interferente B causa una reducción de  $S$  en la ecuación 1-7,  $m_B$ , tendrá un signo negativo, al igual que  $k_{A,B}$ . Los coeficientes de la selectividad son parámetros de calidad útiles para informar sobre la selectividad de los métodos analíticos (Skoog, 1992).

## **B. Estaciones de monitoreo atmosférico:**

El monitoreo atmosférico, es uno de los indicadores principales de la calidad del aire, además representa una valiosa herramienta de gestión para instrumentar acciones de prevención y control de los contaminantes presentes en la atmósfera, ante condiciones que ponen en riesgo la salud de los ciudadanos. Destacando como una fuente de información para la ciudadanía sobre los niveles de contaminación. La importancia de una estación de monitoreo ambiental recae en la influencia que ejercen los factores meteorológicos sobre el peróxido de hidrogeno. Saber relacionar estas variables es de suma importancia para determinar su formación así como la perdida misma del peróxido. Además, de acuerdo a la bibliografía, al realizarse las campañas de muestreo, consideran dentro de la experimentación estos parámetros en los resultados de diversos autores. Según el SMN (2011) una estación de monitoreo es un conjunto de dispositivos eléctricos y mecánicos que realizan mediciones de las variables meteorológicas de forma automática (sobre todo en forma numérica). Una estación meteorológica automática, está conformada por un grupo de sensores que registran y transmiten información meteorológica de forma automática de los sitios donde están estratégicamente colocadas. Su función principal es la recopilación y monitoreo de algunas variables meteorológicas para generar archivos del promedio de cada 10 minutos de todas las variables, esta información es enviada vía satélite en intervalos de 1 ó 3 horas por estación. El área representativa de las estaciones es de 5 km de radio aproximadamente, en terreno plano, excepto en terreno montañoso.

Los sensores que integran la estación son los siguientes:

- a) Velocidad del viento
- b) Dirección del viento
- c) Presión atmosférica
- d) Temperatura y Humedad
- e) Radiación solar
- f) Precipitación

**C. Norma oficial mexicana NOM-127-SSA1-1994, "Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización".**

**C.1. Resumen de la norma**

El abastecimiento de agua para uso y consumo humano con calidad adecuada es fundamental para prevenir y evitar la transmisión de enfermedades gastrointestinales y otras, para lo cual se requiere establecer límites permisibles en cuanto a sus características bacteriológicas, físicas, organolépticas, químicas y radiactivas. Con el fin de asegurar y preservar la calidad del agua en los sistemas, hasta la entrega al consumidor, se debe someter a tratamientos de potabilización.

**C.2. Objetivo y campo de aplicación**

Esta Norma Oficial Mexicana establece los límites permisibles de calidad y los tratamientos de potabilización del agua para uso y consumo humano, que deben cumplir los sistemas de abastecimiento públicos y privados o cualquier persona física o moral que la distribuya, en todo el territorio nacional.

**C.3. Límites permisibles de calidad del agua**

El contenido de organismos resultante del examen de una muestra simple de agua, debe ajustarse a lo establecido en la **Tabla C.1**. Bajo situaciones de emergencia, las autoridades competentes deben establecer los agentes biológicos nocivos a la salud a investigar.

**TablaC.1.** Límites permisibles de características bacteriológicas

<b>Característica</b>	<b>Limite permisible</b>
Organismos coliformes totales	2 NMP/100 mL
Organismos coliformes fecales	2 UFC/100 ml No detectable NMP/100 MI

Los resultados de los exámenes bacteriológicos se deben reportar en unidades de NMP/100 mL (número más probable por 100 mL), si se utiliza la técnica del número más probable o UFC/100 mL (unidades formadoras de colonias por 100 mL), si se utiliza la técnica de filtración por membrana.

Las características físicas y organolépticas deberán ajustarse a lo establecido en la **Tabla C.2.**

**TablaC.2.** Límites permisibles de características físicas y organolépticas.

<b>Característica</b>	<b>Limite permisible</b>
Color	20 unidades de color verdadero en la escala de platino-cobalto.
Olor y sabor	Agradable (se aceptarán aquellos que sean tolerables para la mayoría de los consumidores, siempre que no sean resultados de condiciones objetables desde el punto de vista biológico o químico).
Turbiedad	5 unidades de turbiedad nefelométricas (UTN) o su equivalente en otro método.

El contenido de constituyentes químicos deberá ajustarse a lo establecido en la siguiente **Tabla C.3.** Los límites se expresan en mg/L, excepto cuando se indique otra unidad.

**Tabla C.3.** Límites permisibles de características químicas.

<b>Característica</b>	<b>Limite permisible</b>
Aluminio	0.20
Arsénico	0.05
Bario	0.70
Cadmio	0.005
Cianuros (como CN)	0.07
Cloro residual libre	0.2-1.50
Cloruros (como Cl)	250.00
Cobre	2.00
Cromo total	0.05
Dureza total (como CaCO <sub>3</sub> )	500.00
Fenoles o compuestos fenólicos	0.001
Fierro	0.30
Fluoruros (como F)	1.50
Manganeso	0.15
Mercurio	0.001
Nitratos (como N)	10.00
Nitritos (como N)	0.05
Nitrógeno amoniacal (como N)	0.50
pH (potencial de hidrógeno) en unidades de pH	6.5-8.5
Plaguicidas en microgramos/l: Aldrín y dieldrín (separados o combinados)	0.03
Clordano (total de isómeros)	0.30
DDT (total de isómeros)	1.00
Gamma-HCH (lindano)	2.00
Hexaclorobenceno	0.01
Heptacloro y epóxido de heptacloro	0.03
Metoxicloro	20.00
2,4 – D	50.00
Plomo	0.025
Sodio	200.00
Sólidos disueltos totales	1000.00
Sulfatos (como SO <sub>4</sub> )	400.00
Sustancias activas al azul de metileno (SAAM)	0.50
Trihalometanos totales	0.20
Zinc	5.00

## **D. Preparación de Soluciones patrón y reactivos**

Las soluciones patrón y reactivo que se usaron en este trabajo se prepararon de acuerdo a los procedimientos siguientes:

### **D.1. Preparación $\text{KMnO}_4$ 0.02 M**

Se pesaron aproximadamente 1.59 gr de  $\text{KMnO}_4$  de buen grado y se colocó en un matraz volumétrico limpio de 500 mL aforando con agua DI y después se sonicó por 5 minutos para su homogenización. A continuación, se hirvió por varios minutos para oxidar la materia orgánica y producir  $\text{MnO}_2$  coloidal y se filtró a vacío a través de asbesto en un embudo Büchner. Al finalizar el filtrado, la solución de permanganato se almacenó en un frasco color ámbar para evitar su descomposición (Clavijo, 2008).

### **D.2. Estandarización de permanganato de potasio por el método McBride**

Se pesaron con exactitud tres muestras, de 0.25 a 0.30 g cada una, de  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$  en matraces Erlenmeyer limpios de 250 mL. Se disolvió cada muestra en 75 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1.5 N (20 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado adicionados a 400 mL de agua). Luego se calentó la primera solución casi a ebullición (de 80 a 90°C) y se tituló lentamente con  $\text{KMnO}_4$  agitando con movimientos circulares constantes. El punto final lo determina la aparición de un color rosa tenue que persiste por lo menos 30 segundos. Durante la titulación, la temperatura de la solución no bajo de los 60°C. Se titularon las otras dos soluciones siguiendo el mismo procedimiento. A 100 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1.5 N se agregó gota a gota la solución de  $\text{KMnO}_4$  hasta que el color sea igual al de la solución que se tituló. Se restó este volumen del que se gastó en la titulación. Se procedió a calcular la normalidad de la solución de  $\text{KMnO}_4$  (Day y Underwood, 1989).

### **D.3. Determinación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

Se pipetearon 25 mL de la solución de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> comercial en un matraz volumétrico de 250 mL, diluyéndose la solución con agua DI hasta la marca y mezclando bien. Se transfirió una alícuota de 25 mL de esta solución a un matraz Erlenmeyer de 250 mL al cual se le adicionaron 5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado y 75 mL de agua DI. Se tituló con solución de KMnO<sub>4</sub> hasta la aparición del primer tono rosa permanente. Se repitió la titulación con dos alícuotas adicionales de la solución. Al finalizar el procedimiento se calculó el peso del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en la muestra original de 25 mL, y suponiendo que el peso fue exactamente de 25 g, se calculó el porcentaje en peso del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Day y Underwood, 1989).

\*Se modificó el procedimiento a 1:10, tomando tan solo una alícuota de 1 mL de la primera dilución del peróxido comercial para una mayor disolución del mismo.

### **D.4. Preparación de FeSO<sub>4</sub> 1.5 mM**

Se pesaron 0.042 g de FeSO<sub>4</sub> y se transfirieron a un matraz volumétrico de 100 mL, aforando con HSO<sub>4</sub> pH 1.9 y se sónico el matraz por 5 minutos. Finalizado en tiempo, se refrigeró la solución en un recipiente de plástico estéril.

### **D.5. Preparación de C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>COOH 3.0 mM**

Se pesaron 0.37 g de C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>COOH y se colocaron en un matraz volumétrico de 100 mL, aforando con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pH 1.9 y se sónico el matraz por 5 minutos. Finalizado el tiempo, se refrigeró la solución en un recipiente de plástico estéril.

### **D.6. Preparación de solución mejoradora de fluorescencia**

La solución mejoradora de fluorescencia contiene Al (NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 1.5 mM aforado con buffer de acetato. Primeramente, se preparó el buffer de acetato 0.2 M pH 3.8. Se pesaron 4.1 g de C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>NaO<sub>2</sub> y se agregaron en un matraz volumétrico de 250 mL aforando con agua DI y se sónico por cinco minutos. Después, se procedió a pesar 2.88 gr de C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub> y se colocó en un matraz volumétrico de 250 mL



aforándolo con agua DI, y se sónico la solución por cinco minutos. A continuación, se tomaron 6.0 mL de  $C_2H_3NaO_2$  y 44.0 mL de  $C_2H_4O_2$  para añadirlos a un matraz volumétrico de 100 mL, aforando con agua DI, al adquirir el buffer y homogenizarlo, se realizó una dilución 1:2 para llevar el buffer a una concentración de 0.10 mM. Seguido a lo anterior, se pesaron 0.37513 gr de  $AL(NO_3)_3$  para colocarlos en un matraz volumétrico de 100 mL, y se aforó con el buffer de acetato recién preparado, y se almacenó en un recipiente de plástico estéril.

## **E. Procedimientos para la determinación de parámetros fisicoquímicos**

### **E.1. Determinación de parámetros químicos**

Este apartado incluye las pruebas de OD, DQO, Sulfatos, Nitratos, pH. Los procedimientos se describen a continuación:

#### **E.1.2. Determinación de oxígeno disuelto (OD)**

Primeramente se preparó el equipo medidor de oxígeno disuelto portátil HI 9146 preparando la sonda para su uso, de acuerdo a lo siguiente: Se retiró la tapa y se mojó el sensor sumergiendo 2½ cm inferiores de la sonda solución en electrolito (HI7041S) durante 5 minutos. Se tomó la membrana (HI76407A suministrada con el medidor) y se aseguró de que la junta de goma se asentara correctamente en la tapa de la membrana. Se enjuagó la membrana con electrolito mientras se agitó suavemente. Se rellenó con electrolito nuevo, para después dar unos suaves golpes a los lados de la membrana con el dedo para garantizar que no quedarán burbujas de aire atrapadas. Con el sensor mirando hacia abajo, se enroscó la membrana en la dirección de las agujas del reloj. Para iniciar la lectura se sumergió la punta de la sonda en la muestra a analizar y se aseguró de que el sensor de temperatura también estuviera sumergido. Finalmente se pulso el botón RANGE para mostrar en el display del equipo el valor en % de saturación de oxígeno disuelto.

### **E.1.3. Determinación de sulfatos**

En el equipo marca HACH, modelo DR 2010, se ajustó el número del programa no. 680 a una longitud de onda de 450 nm para la medición de la pastilla de polvo de alto rango de las bolsas de polvo de sulfato  $\text{SO}_4^{-2}$ . Posteriormente se llenó una celda limpia con 25 ml de muestra. Se agregaron los contenidos de una bolsa de polvo de reactivo de sulfato SulfaVer 4 en la celda de muestra (la muestra preparada), se giró para disolver y se presionó: SHIFT TIMER. Se inició un período de reacción de 5 minutos. Cuando sonó el cronómetro, en la pantalla se leyó: mg/L  $\text{SO}_4$ . Se llenó una segunda celda con 25 ml de muestra (el blanco) y se colocó en el soporte de la celda. Se presionó: ZERO y se desplegó 0 mg/L  $\text{SO}_4$ . Dentro de los cinco minutos posteriores al timbre del cronómetro se colocó la muestra preparada y se presionó: READ y se desplegaron los resultados (Manual de análisis de agua HACH, 2000).

### **E.1.4. Determinación de nitratos**

En el equipo marca HACH, modelo DR 2010, se ajustó el número del programa no. 355 a una longitud de onda de 500 nm para su correcta medición para la pastilla de polvo de alto rango de las bolsas de polvo nitrato de nitrógeno. Se llenó una celda con 25 mL de agua DI para la lectura del blanco, después se introdujo la celda al equipo y se presionó la tecla SHIFT y el número 5, el resultado del blanco desplegó las unidades de mg/L  $\text{NO}_3$ . Se llenó una celda con 25 mL de la muestra, después se añadió la bolsa de polvo de reactivo de nitrato NitraVer 5 a la celda. La celda se agitó vigorosamente durante un minuto, después se introdujo la celda al equipo y se presionó la tecla SHIFT y el número 5 (Manual de análisis de agua HACH, 2000).

### **E.1.5. Determinación de la demanda química de oxígeno (DQO)**

Se trabajaron con tres viales de referencia y un blanco preparados, de un rango de 150 ppm y se tomó una alícuota de 2 mL de la muestra de agua de lluvia, colocando el vial en un ángulo de cuarenta y cinco grados y vertiendo en él la muestra, y se cerró herméticamente. Se agitó varias veces cada vial para

posteriormente colocarlos en el reactor para DQO, y de forma inmediata se preparó un blanco con 2 mL de agua DI colocándose también dentro del reactor. Se dejaron digerir los viales a 150 °C, por un tiempo de dos horas. Finalizado el tiempo de digestión, se dejaron enfriar por media hora dentro del reactor a temperatura ambiente antes de proceder a la medición de DQO. Se midieron en el equipo marca HACH, modelo DR 2010 con el programa No. 430 para un rango de 0 a 150 ppm. Con la perilla ubicada a la derecha del HACH se ajustó la longitud de onda a un rango de 420 nm para su correcta medición. Se tomó el blanco y se procedió a limpiar el vial con un pañuelo limpio para eliminación de huellas digitales, y después introducir el vial al equipo para iniciar la lectura oprimiendo la tecla ZERO y registrar el resultado. Posteriormente, se tomaron los viales que contienen la muestra y se procedió a limpiarlos de la manera anteriormente descrita, se introdujeron en el equipo y se oprimió la tecla READ. El resultado desplegado en la pantalla del equipo se mostró en las siguientes unidades: mg/L DQO (Evaristo, 2011).

#### **E.1.6. Determinación de pH**

El pH de la muestra se tomó de manera in situ con ayuda del Multi-parámetro Testr 35. Se introdujo en el muestreador el multi-parámetro, en donde seleccionándose el parámetro de interés y se tomó lectura del pH. Al llegar al laboratorio se registró el mismo parámetro de la muestra, con ayuda del potenciómetro portátil Cole-Parmer.

#### **E.2. Determinación de parámetros físicos**

Este apartado incluye las pruebas de turbidez, color, SST. Los procedimientos se describen a continuación:

##### **E.2.1. Determinación de turbidez**

La turbidez se midió con el programa No. 750 del espectrofotómetro marca HACH, modelo DR 2010 a una longitud de onda de un rango de 450 nm. En una celda, se adicionaron 25 mL de agua DI (blanco), cuidando que la celda

estuviera libre de burbujas, huellas digitales, manchas y ralladuras, para no interferir con la medición. Se cerró la tapa y se oprimió la tecla ZERO. Después, se procedió a preparar la celda de la muestra, agregando 25 mL de agua pluvial en una celda, dicha celda se agitó para asegurar que la turbidez no estuviera sedimentada. Se retiró el blanco del compartimiento del espectrofotómetro, y se reemplazó por la celda que contiene la muestra. Se cerró la tapa y se oprimió la tecla READ. El resultado se desplegó en la pantalla del equipo, de acuerdo a la siguientes unidades: 0 FAU (Unidades Nefelométricas) (Evaristo, 2011).

### **E.2.2. Determinación de color**

El color se midió con el programa No. 120 del espectrofotómetro, marca HACH, modelo DR 2010, a una longitud de onda de un rango de 455 nm. En una celda para HACH, se adicionó 25 mL de agua DI (blanco), cuidando que la celda estuviera libre de burbujas, huellas, manchas y ralladuras, para no interferir con la medición. Se cerró la tapa y se oprimió la tecla ZERO. Después, se procedió a preparar la celda de la muestra, agregando 25 mL de agua pluvial en una celda; dicha celda se agitó para asegurar que la turbidez no estuviera sedimentada. Se retiró el blanco del compartimiento del espectrofotómetro, y se reemplazó por la celda que contiene la muestra. Se cerró la tapa y se oprimió la tecla READ. El resultado se desplegó en: 0 units Pt-Co (Platino- Cobalto) (Evaristo, 2011).

### **E.2.3. Determinación de temperatura**

La temperatura de la muestra se tomó de manera in situ con ayuda del Multi-parámetro Testr 35. Se introdujo en el muestreador el multi-parámetro, en donde previamente se seleccionó el parámetro de T Al llegar al laboratorio se registraron el mismo parámetro de la muestra, con ayuda del potenciómetro portátil Cole-Parmer.

**F. Resultados de datos experimentales de datos para la construcción de la curva de calibración de  $\Delta F$  [cps] vs. c, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [ppm]**

La **Tabla F.1** y la **Tabla F.2** muestran el registro de las señales de fluorescencia obtenidas de:  $\Delta F$  [cps] de los patrones de concentración conocidos de peróxido. Las señales se corrigieron respecto al blanco con la finalidad de suprimir la señal debida a los reactivos empleados en el análisis:

**Tabla F.1.** Datos experimentales de  $\Delta F$  [cps] normalizados a diferentes concentraciones añadidas de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para la realización de la curva de calibración sin reactivo mejorador.

ppm H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	$\mu$ L H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Promedio $\Delta F$ [cps]	DE	Promedio $\Delta F$ [cps] normalizado	DE normalizada
0.00	0.00	3748.42	290.60	0.00	410.97
0.34	222.22	86254.10	7107.99	82505.68	7113.93
0.68	444.44	86176.43	7962.94	82428.01	7968.24
1.02	666.67	133233.87	7923.15	129485.45	7928.48
1.36	888.89	142545.51	11428.94	138797.09	11432.63
1.70	1111.11	154214.04	9844.56	150465.62	9848.85
2.04	1333.33	174868.09	10720.23	171119.68	10724.16
2.38	1555.56	167806.75	8885.60	164058.33	8890.35
2.72	1777.78	170562.56	8772.36	166814.14	8777.17
3.06	2000.00	170598.27	10333.29	166849.85	10337.37

**Tabla F.2.** Datos experimentales de  $\Delta F$  [cps] normalizados de diferentes concentraciones añadidas de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para la realización de la curva de calibración con reactivo mejorador.

ppm H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	$\mu$ L H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Promedio $\Delta F$ [cps]	DE	Promedio $\Delta F$ [cps] normalizado	DE normalizada
0.00	0.00	5322.84	465.48	0.00	658.28
0.34	222.22	73963.82	1806.89	68640.98	1865.89
0.68	444.44	133291.79	1369.37	127968.95	1446.32
1.02	666.67	184584.00	1631.52	179261.16	1696.63
1.36	888.89	213105.46	1392.87	207782.62	1468.59

1.70	1111.1 1	249454.32	3782.54	244131.48	3811.07
2.04	1333.3 3	230793.96	2860.61	225471.12	2898.23
2.38	1555.5 6	280869.95	3310.74	275547.11	3343.30
2.72	1777.7 8	293337.74	3477.58	288014.90	3508.60
3.06	2000.0 0	292775.56	6622.93	287452.72	6639.27

**Tabla F.3.**Datos experimentales de  $\Delta F$  408 nm [cps] normalizados a diferentes concentraciones añadidas de  $H_2O_2$  en una muestra real de agua de lluvia de Celaya, para determinar la concentración de  $H_2O_2$  por el método de adición de estándares.

ppm $H_2O_2$	$\mu L$ $H_2O_2$	Promedio $\Delta F$ [cps]	DE
0	0	8827.37	238.22
0.34	222.22	21928.04	578.67
0.68	444.44	51952.41	380.23
1.02	666.67	68653.29	561.7