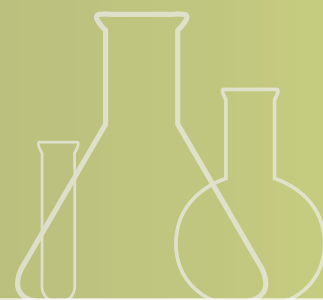


# 2010UY

Determinación de detergentes aniónicos sensibles al azul de metileno en efluentes líquidos industriales y domésticos.



Método espectrofotométrico

---

**Elaborado** - P. Simone

---

**Modificado** - R. Gálvez

---

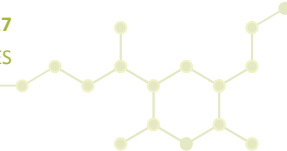
**Revisado** - S. Azambuya, Jefe Sección Físicoquímico

---

**Aprobado** - N. Barboza, Director División Laboratorio Ambiental

---





## 1. APLICACIÓN

- 1.1. Esta normativa técnica se utiliza para determinar detergentes aniónicos sensibles al azul de metileno en aguas naturales o tratadas y en aguas residuales domésticas e industriales; en un rango de concentración de 0,023 mg/L a 100 mg/L de LAS de peso molecular 318 g/mol. El límite de detección es de 0,0045 mg LAS/L.

## 2. REFERENCIAS

- 2.1. Manual de Calidad – Laboratorio Ambiental DINAMA
- 2.2. Manual de Gestión de Calidad – Laboratorio Ambiental DINAMA
- 2.3. Manual de Control de Calidad Analítico – Laboratorio Ambiental DINAMA
- 2.4. Carpeta de mantenimiento y control de equipos – Laboratorio Ambiental DINAMA
- 2.5. Instructivo de resolución 0,0001 g (INE 15)
- 2.6. Instructivo de uso espectrofotómetro (INE 22)
- 2.7. Ruta de análisis (RFQ 05)
- 2.8. Ruta de análisis para preparación de curva (RFQ 30)

## 3. RESUMEN DEL MÉTODO

- 3.1. Los detergentes aniónicos sensibles al azul de metileno se combinan con este pigmento catiónico, formando un complejo inmiscible en agua, el cual se extrae de la fase acuosa con cloroformo.
- 3.2. Este método es relativamente simple y preciso. Comprende tres extracciones sucesivas en cloroformo, seguido de un lavado y la medición de la intensidad del color azul del compuesto formado en un espectrofotómetro a 652 nm de longitud de onda. Se cuantifica a través de una curva de calibración.
- 3.3. El sulfonato de alquilbenceno lineal (LAS – linear alkylbenzene sulfonate) es el surfactante aniónico más ampliamente usado y se emplea para estandarizar el presente método; no es un compuesto simple, sino que comprende muchos isómeros y homólogos con estructura  $(R'C_6H_4SO_3)Na^+$ , donde R' es un grupo alquilo lineal secundario que posee entre 10 y 14 átomos de carbono de longitud. Los surfactantes de tipo sulfato y sulfonato responden ambos a esta metodología.
- 3.4. Los surfactantes aniónicos comúnmente empleados en la formulación de detergentes responden fuertemente al azul de metileno y estos incluyen surfactantes del sulfonato  $(RSO_3)Na^+$ ; del sulfato éster  $(ROSO_3)Na^+$ ; y surfactantes no iónicos sulfatados  $(REnOSO_3)Na^+$ .

## 4. PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

- 4.1. Se requieren túnica, guantes, lentes de seguridad y máscara de protección de vapores orgánicos (3M 6006 Multi acid gas/organic vapor cartridge o similar).
- 4.2. Trabajar en campana de extracción de gases y manipular con precaución el cloroformo, dado que es tóxico, y carcinogénico por inhalación y contacto a través de la piel.

## 5. INTERFERENCIAS

- 5.1. Interferencias positivas resultan de todas otras sustancias sensibles al azul de metileno. Sustancias como los sulfonatos, sulfatos, carboxilatos, fenoles, tiocianatos inorgánicos, cianatos, nitratos y cloruros pueden transferir más o menos de azul de metileno a la fase de cloroformo. Las interferencias por cloruros se eliminan casi completamente y las de nitratos en gran medida, con el agua de lavado en la etapa de extracción.
- 5.2. Los detergentes catiónicos u otros componentes catiónicos como las aminas interfieren negativamente porque compiten por el azul de metileno en la formación de pares iónicos, con los detergentes aniónicos.
- 5.3. El material particulado interfieren negativamente porque algunos MBAS quedan adsorbidos en la superficie. Algunos MBAS se pueden desorber en las posteriores extracciones con  $CHCl_3$ , pero la recuperación será variable e incompleta.
- 5.4. Los sulfuros que suelen encontrarse en aguas residuales sin tratar o con sólo un tratamiento primario, pueden reaccionar con el azul de metileno formando un compuesto incoloro. Estas interferencias se eliminan agregando al inicio de la técnica peróxido de hidrogeno.

## 6. MUESTREO Y PRESERVACIÓN DE LA MUESTRA

- 6.1. Recolectar la muestra en recipiente de plástico (polietileno o equivalente) o en recipiente de vidrio. Lavado sin detergente. El volumen típico de la muestra es de 1000 mL. Mantenerla refrigerada a  $\leq 6\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $> 0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), durante un período máximo de 48 horas.

## 7. INSTRUMENTAL Y MATERIALES

- 7.1. Espectrofotómetro para uso a 652 nm  
7.2. Embudos de decantación de 1000 mL y 250 mL, preferentemente con tapón y válvula de teflón.  
7.3. Balanza de resolución 0,0001 g  
7.4. Matraces aforados de 50,00 mL y 100,00 mL  
7.5. Erlenmeyer de 1000 mL  
7.6. Pipetas automáticas de volumen variable rango 1 - 10 mL

## 8. REACTIVOS

- 8.1. Solución stock de LAS 1000 mg/L: pesar una cantidad de estándar de LAS de 1,00 g, en base activa. Disolver en agua, y diluir a 1000 mL; 1 mL = 1,00 mg LAS. Almacenar en la heladera, para disminuir la biodegradación. Si es necesario preparar semanalmente.  
8.2. Solución estándar 10 mg/L: diluir 10,00 mL de la solución stock de LAS llevando a 1000 mL con agua desionizada. 1,00 mL = 10  $\mu\text{g}$  LAS. Preparar diariamente.  
8.3. Indicador fenolftaleína solución alcohólica: disolver 0,5 g de fenolftaleína ( $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_4$  Nro. CAS 77-09-8) en 100 mL de etanol ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  Nro. CAS 64-17-5).  
8.4. Hidróxido de sodio (NaOH Nro. CAS 1310-73-2) 1 N: disolver 40 g de NaOH en 1000 mL de agua desionizada.  
8.5. Ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  Nro. CAS 7664-93-9) 1 N y 6 N: prepararlos a partir del ácido sulfúrico concentrado, diluyendo con agua desionizada 36 y 6 veces respectivamente.  
8.6. Cloroformo ( $\text{CHCl}_3$  Nro. CAS 67-66-3).  
8.7. Azul de metileno (AM  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{S}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$  Nro. CAS 61-73-4): disolver 100 mg de AM en 100 mL de agua. Transferir 30 mL de esta solución a un matraz de 1000 mL. Agregar 500 mL de agua, 41 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  6 N y 50 g de fosfato de sodio monobásico monohidrato ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$  Nro. CAS 10049-21-5) y mezclar. Diluir a 1000 mL.  
8.8. Solución de lavado: agregar 41 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  6N a 500 mL de agua desionizada en un matraz de 1000 mL de capacidad. Adicionar 50 g de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ , disolver por agitación y diluir con agua desionizada.  
8.9. Peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$  Nro. CAS 7722-84-1) al 30 % v/v.  
8.10. Lana de vidrio: lavarla con  $\text{CHCl}_3$  para remover interferencias.  
8.11. Agua desionizada (grado 2, según ISO 3696 en su versión vigente).  
8.12. Alcohol isopropílico ( $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$  Nro. CAS 67-63-0).

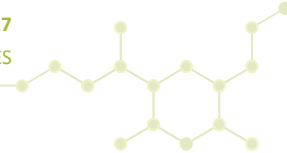
*Nota 1: Salvo que se especifique, se debe emplear reactivos para análisis (PA), que son aque-llos cuyo contenido en impurezas no rebasa el número mínimo de sustancias determinables por el método que se utilice.*

## 9. PRECAUCIONES PARA LA OPERACIÓN

- 9.1. Las soluciones stock y estándar necesarias para la realización de la curva de calibración, de la fortificación de la muestra y el chequeo de la curva forman abundante espuma; como el surfactante se concentra en la interfase gas-liquido la solución no tendrá una concentración homogénea. Debe tenerse entonces especial cuidado en evitar la formación de espuma.

## 10. CALIBRACIÓN DEL MÉTODO

- 10.1. Preparar una curva de calibración inicial de por lo menos cinco estándares. El método es lineal en el rango de 10 a 200  $\mu\text{g}$  de MBAS estándar, esto puede variar dependiendo del estándar que se utilice. Siempre que se demuestre la linealidad en el rango de interés, puede variarse el rango de concentración deseado ( $r^2=0,995$  o mayor).



Si se cuenta con Material de Referencia Certificado (MRC), la curva puede realizarse con dicho material, asegurando la trazabilidad de la técnica.

10.2. Realizar las diluciones para crear la curva de calibración en cantidades que van desde 0 a 200 µg, considerando un punto cercano al Límite de Cuantificación del método.

Realizando las tomas de solución estándar de LAS o MRC en Erlenmeyers. Adicionar suficiente agua para que el volumen total en cada embudo de decantación sea de 100 mL. Las tomas pueden realizarse en peso, considerando densidad 1 g/L. Trasvasar estas soluciones a los embudos de decantación.

10.3. Realizar el procedimiento de extracción según se detallan en los puntos 11.2 al 11.8.

10.4. Medir la absorbancia a 652 nm; empleando como blanco  $\text{CHCl}_3$ .

10.5. La curva es válida mientras cumpla con los límites establecidos en el control de calidad descrito en el punto 13.1.

## 11. ANÁLISIS DE LA MUESTRA

11.1. Toma de muestra:

a) Para el análisis directo de agua o efluente, seleccionar el volumen de la muestra según la concentración esperada de MBAS:

Concentración esperada MBAS mg/L	Volumen de la muestra mL
0,025 – 0,080	400
0,08 – 0,40	250
0,4 – 2,0	100

b) Si la concentración esperada está por encima de 2 mg/L, tomar una fracción de muestra conteniendo de 40 a 200 µg MBAS y diluir a 100 mL con agua desionizada.

c) Se puede realizar una dilución de 50 veces la muestra original y tomando como mínimo 100 mL, se puede llegar a valores de 100 mg/L de MBAS

11.2. Colocar el volumen de muestra preestablecido en el embudo de decantación de 1000 mL, llevar a medio alcalino con NaOH 1 N hasta viraje de color de la solución a rosado, usando fenolftaleína como indicador. Agregar  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1 N hasta que desaparezca el color rosado.

11.3. Agregar 10 mL  $\text{CHCl}_3$  y 25 mL de azul de metileno. Agitar vigorosamente por 30 segundos y dejar que se separen las fases. Agitación excesiva puede causar formación de emulsión. Si se forma emulsión persistente agregar alcohol isopropílico en una cantidad menor a 10 mL y agregarle el mismo volumen a todos los estándares.

11.4. Tratamiento con peróxido: en caso de ser necesario para evitar la decoloración del azul de metileno por sulfuros; agregar unas pocas gotas de peróxido de hidrógeno al 30 %.

11.5. Antes de separar la capa de  $\text{CHCl}_3$ , mover suavemente y luego dejar reposar.

11.6. Descargar la capa de  $\text{CHCl}_3$  en otro embudo de decantación de 250 mL de capacidad. Repetir la extracción 2 veces más usando 10 mL de  $\text{CHCl}_3$  cada vez.

Si el color azul en la fase acuosa desaparece se recomienda; descartar la muestra y usar un volumen menor.

11.7. Juntar todos los extractos de  $\text{CHCl}_3$  en el 2º embudo de decantación. Agregar 50 mL de solución de lavado, agitar vigorosamente 30 segundos.

11.8. Mover suavemente y luego dejar reposar. Descargar la capa de  $\text{CHCl}_3$  a través de un embudo con un filtro de lana de vidrio a un matraz aforado de 50 mL. El filtrado debe ser límpido.

11.9. Agregar dos tandas de 10 mL de  $\text{CHCl}_3$  a la solución de lavado que se encuentra en el embudo de decantación de 250 mL, filtrar y juntarlas con el resto de cloroformo.

11.10. Lavar embudo y lana de vidrio con  $\text{CHCl}_3$ , que se junta con lo demás. Enrasar a volumen 50 mL.

*Nota 2: debido a que el cloroformo es volátil, la suma de todos los volúmenes recogidos no excede los 50 mL.*

11.11. Medir la absorbancia a 652 nm; en celdas de 2,5 cm de paso de luz, utilizando como blanco  $\text{CHCl}_3$ .

## 12. ANÁLISIS DE DATOS

12.1. Graficar la absorbancia leída para cada estándar en función de los  $\mu\text{g}$  de LAS tomados para cada punto de la curva según:

$$\mu\text{g LAS}_{\text{estándar}} = T \times C_{\text{LAS}}$$

donde:

T: corresponde a la toma del estándar

$C_{\text{LAS}}$ : corresponde a la concentración de la solución estándar LAS de 10 mg/L o MRC

La curva de calibración está representada por la siguiente curva lineal:

$$\text{Abs}_{\text{estándar}} = a \times (\mu\text{g LAS}_{\text{estándar}}) + b$$

donde:

a y b: corresponden a la pendiente ordenada en el origen respectivamente

12.2. Los  $\mu\text{g}$  de LAS correspondientes a la absorbancia de muestra se calcula según la siguiente ecuación:

$$\mu\text{g de LAS}_{\text{muestra}} = \frac{(\text{Abs muestra} - b)}{a}$$

12.3. A partir de los  $\mu\text{g}$  de LAS, correspondientes a la absorbancia leída de la muestra calcular:

$$\text{mg MBAS/L} = \frac{\mu\text{g de LAS}_{\text{muestra}}}{T_{\text{muestra}}}$$

donde:

$T_{\text{muestra}}$ : el volumen de muestra tomado para la extracción en mL

Se debe informar "MBAS, calculada con LAS de peso molecular 318 g/mol

*Nota 3: En caso de haber utilizado un estándar o MRC de LAS de peso molecular diferente a 318 g/mol, realizar la corrección correspondiente.*

## 13. CONTROL DE CALIDAD ANALÍTICO

13.1. **Chequeo de la curva de calibración:** Realizar el chequeo diario de la curva de calibración con soluciones control, una de concentración cercana al Límite de Cuantificación, y la otra de concentración superior a la esperada de las muestras. Referirse al Manual de Control de Calidad Analítico. El resultado de la solución control de menor concentración se considerara aceptable si se encuentre dentro de un 25 % del valor original, mientras que el valor para la solución control de mayor concentración, no puede apartarse más allá de un 10 % del valor original. Si se superan estos límites preparar una nueva curva de calibración.

13.2. **Precisión:** Las muestras de aguas tratadas, aguas residuales domesticas e industriales se analizaran por duplicado. Verificar que la dispersión de los duplicados este dentro de los límites del gráfico de control correspondientes

13.3. **Exactitud como porcentaje de recuperación de fortificación:** Las muestras de aguas tratadas, aguas residuales domesticas e industriales se deberán fortificar. Verificar que el porcentaje de recuperación este dentro de los limites de control.

## 14. BIBLIOGRAFÍA

14.1. American Public Health Association (APHA) (2012). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22nd edition, APHA, AWWA, WEF, Washington, DC. Método 5540 A Surfactabts Introduction y 5540 C Anionic Surfactants as MBAS, pp 5-50 y 5-53 al 5-55.