

## METHYLEENBLAUW ACTIEVE SUBSTANTIES

### 1 DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

De bepaling van de methyleenblauwactieve stoffen (MBAS) laat een schatting toe van het anionisch detergentgehalte in waters en afvalwaters.

De methode is opgesteld voor de bepaling van anionische detergenten van het sulfonaat  $(\text{RSO}_3)\text{Na}^+$  en het sulfaatester  $(\text{ROSO}_3)\text{Na}^+$  type.

Ze is bruikbaar voor MBAS-concentraties tot 2,0 mg/l. Bij hogere concentraties dient een geschikte verdunning te worden toegepast. De minimale detecteerbare concentratie is 0,2 mg/l MBAS, berekend als natriumlaurylsulfaat (LS).

### 2 PRINCIPE

De MBAS vormen met methyleenblauw, een kationische kleurstof, gekleurde complexen die extraheerbaar zijn met chloroform.

Dit gebeurt door ionpaarvorming van het MBAS-anion en het methyleenblauw-kation. De intensiteit van de resulterende blauwe kleur in de organische fase is een maat voor het gehalte aan anionische detergenten in het geanalyseerd watermonster.

Om stringen te vermijden worden de anionische stoffen na toevoeging van een neutrale methyleenblauwoplossing vanuit alkalisch milieu geëxtraheerd met chloroform. De bekomen chloroformfase wordt vervolgens met een zure methyleenblauwoplossing geschud. De afgescheiden organische fase wordt spectrofotometrisch gemeten. De concentratie van de anionische detergenten wordt uitgedrukt in mg/l ten opzichte van natriumlaurylsulfaat (LS).

### 3 BELANGRIJKE OPMERKINGEN

Zepen worden met de beschreven methode niet bepaald. Deze zepen, alkalische zouten van  $\text{C}_{10-20}$  vetzuren  $(\text{RCO}_2)\text{Na}^+$ , zijn te zwak geïoniseerd om een extraheerbaar ionpaar te vormen. Mogelijke negatieve interferenties worden veroorzaakt door de aanwezigheid van kationische detergenten en andere kationische materialen, zoals amines, omdat zij met methyleenblauw concurreren in het vormen van ionparen.

Anionische detergenten geadsorbeerd aan gesuspendeerde deeltjes worden onvolledig gedesorbeerd tijdens de chloroformextracties.

Mogelijke interferenties door niet-detergenten aanwezig in het te analyseren water kunnen optreden daar deze stoffen door vorming van chloroform oplosbare methyleenblauw-verbindingen te hoge waarden of door vorming van verbindingen met anionische detergenten te lage waarden geven. Deze interferenties worden geminimaliseerd door afscheiding en aanrijking van de anionische detergenten via de sublatie techniek.

Sulfides reageren met methyleenblauw met vorming van een kleurloos reductieproduct. Dit kan geëlimineerd worden door voorafgaande oxydatie met waterstofperoxide.

De verkregen anionische detergentgehalten wijken af indien ze in termen van gewicht worden uitgedrukt. Equimolaire hoeveelheden van 2 anionische detergenten met verschillende moleculaire gewichten geven gelijke kleuren in de chloroformlaag. Wanneer de resultaten moeten worden uitgedrukt in gewicht, dan moet het gemiddeld moleculair gewicht van het gemeten detergent gekend zijn of een kalibratiecurve gemaakt met die bepaalde component

gebruikt worden. Omdat zulke gedetailleerde informatie gewoonlijk ontbreekt worden de resultaten gerapporteerd in termen van een geschikte standaardkalibratiecurve, vb. 0,65 mg MBAS/l (berekend als LS).

Het aan te wenden materiaal na reinigen met water, spoelen met ethanolisch zoutzuur en vervolgens spoelen met gebidestilleerd water. Het materiaal dat in contact geweest is met methyleenblauw reinigen met natriumhydroxide.

#### 4 MONSTERBEHANDELING

De te analyseren watermonsters mogen niet doorheen een schuimlaag worden genomen.

Het te analyseren watermonster wordt onmiddellijk na de monstername gefiltreerd. De eerste 100 ml van het filtraat worden verworpen. In een scheidrechter wordt een gekend volume van het gefiltreerde monster gebracht, waarvan de hoeveelheid aan MBAS tussen 20 en 200 µg zou liggen. Bij een gering gehalte aan MBAS kan tot 100 ml monster gebruikt worden. Bij een hoger gehalte wordt minder dan 100 ml genomen en met water aangelengd tot 100 ml.

Indien de concentratie van het detergent kleiner is dan  $\pm 1$  mg/l kan adsorptie aan de wand optreden. Dit kan verminderd worden door de wanden voor te spoelen met monster en door toevoegen van alkalifosfaat, vb. 0,03 N  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .

#### 5 APPARATUUR EN MATERIAAL

##### 5.1 Monstervoorbereiding = de sublatie

- maatcilinders 50, 100 en 1000 ml
- statieven en klemmen
- verwarmbare beker 250 ml of meer
- verwarmplaat met roerder en roervlo
- maatkolf 100 ml
- sublator, zie figuur 1
- gaswasfles 100 ml of meer
- scheidrechter 250 ml
- trechter
- medium porositeit (qualiteit grade) filtreerpapier (zwartband) filtreerpapier
- balans 0,01 g

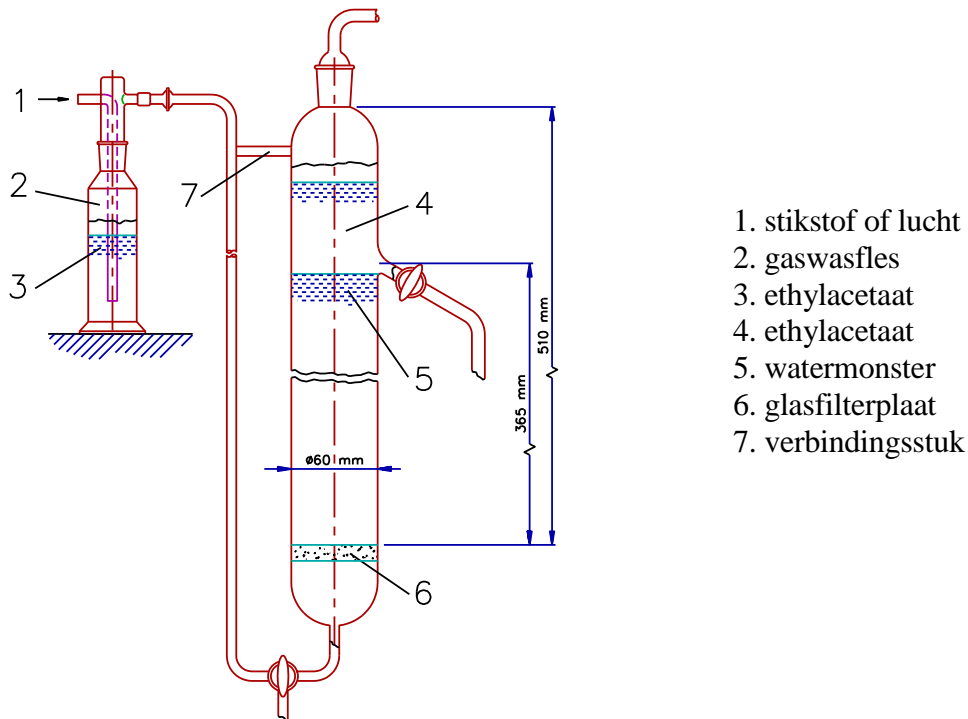
##### 5.2 Analyse

- scheidrechters 250 ml
- statieven en klemmen
- maatkolven 25, 50 en 1000 ml
- maatcilinders 10, 100 ml
- gegraduateerde pipet van 10 ml
- volpipetten 5, 10 ml
- micropipetten
- balans 0,01 g
- analytische balans (0,1 mg) (Mettler AD360)
- verwarmbare beker

- verwarmplaat met roerder en roervlo
- trechters
- watten

### 5.3 Meetapparatuur

- spectrofotometer geschikt voor het uitvoeren van metingen bij een golflengte van 650 nm, lichtpad van 1 tot 5 cm
- glascuvetten van 1 tot 5 cm



figuur 1: Sublator

## 6 REAGENTIA

Gebruik alleen reagentia van een analytisch zuivere kwaliteit en gebidestilleerd water of HPLC-water.

### 6.1 Reiniging van het materiaal

- Alcoholisch zoutzuur HCl 10 %  
Weeg 100 g zoutzuur, HCl 36-38 % af en leng aan tot 1 l met ethanol, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH technische kwaliteit.
- Natriumhydroxide oplossing, NaOH 0,8 M  
Los 8 g natriumhydroxide op met water in een maatkolf van 250 ml en leng aan tot de maatstreep.

## 6.2 Sublatie

- Stikstof, N<sub>2</sub>, standaard commerciële graad
- Ethylacetaat, C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>
- Natriumbicarbonaat, NaHCO<sub>3</sub>
- Natriumchloride, NaCl
- Methanol, CH<sub>3</sub>OH

## 6.3 Analyse

- Stock natriumlaurylsulfaat (LS), C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>NaO<sub>4</sub>S : 1 g/l (op1A)  
Los 1,0 g natriumlaurylsulfaat op in ± 800 ml water en leng aan tot 1 l. met water.
- Standaard natriumlaurylsulfaat (LS) oplossing (op1B) : 100 mg LS/l  
Pipetteer 2,5 ml uit de stockoplossing (op1A) in een maatkolf van 25 ml en leng aan met water.
- Bereid de werkstandaarden rechtstreeks in de scheidrechters:
  - 0,2 mg LS/l:  
Pipetteer 200 µl uit op1B in de scheidrechter en voeg met een maatcilinder 100 ml water toe.
  - 0,5 mg LS/l:  
Pipetteer 500 µl uit op1B in een andere scheidrechter en voeg 100 ml water toe.
  - 1 mg LS/l:  
Pipetteer 1 ml uit op1B en voeg 100 ml water toe.
  - 2 mg LS/l:  
Pipetteer 2 ml uit op1B en voeg 100 ml water toe.
- Bufferoplossing, pH = 10  
Los 24 g natriumbicarbonaat, NaHCO<sub>3</sub> en 27 g natriumcarbonaat Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> op in water en breng de oplossing kwantitatief over in een maatkolf van 1 l en leng aan met water tot de maatstreep.
- Chloroform, CHCl<sub>3</sub>
- Neutrale methyleenblauwoplossing  
Breng 0,35 g methyleenblauw, C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>3</sub>S.nH<sub>2</sub>O in een maatkolf van 1 l, los op in water en leng aan tot de maatstreep.
- Zure methyleenblauwoplossing  
Breng 0,35 g methyleenblauw, C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>3</sub>S.nH<sub>2</sub>O in een maatkolf van 1 l, los op in ± 500 ml water en voeg 6,5 ml zwavelzuur H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 95-97 % (d=1,84) toe. Leng aan met water tot de maatstreep.

Opmerking: beide methyleenblauwoplossingen moeten minstens 24 uur vóór het opstellen van de ijkcurve bereid worden.

## 7 ANALYSEPROCEDURE

### 7.1 Monstervolume

Bij directe analyse (zonder sublatie) van het watermonster wordt het monstervolume gekozen op basis van de verwachte MBAS concentratie. Bij een MBAS concentratie van 0,2 tot 2,0 mg/l wordt 100 ml monster genomen.

Bij een MBAS concentratie groter dan 2 mg/l wordt een geschikte verdunning toegepast.

Indien sublatie wordt toegepast wordt een monster dat niet meer dan 1 tot 2 mg anionisch detergent bevat genomen:

- voor de meeste waters:  $\pm 1$  l
- voor afvalwaters: een kleiner volume.

## 7.2 Sublatie

Het sublatieproces isoleert het detergent van de verdunde waterige oplossing en geeft een droog residu dat betrekkelijk vrij is van niet-detergent materiaal en dat volgens 7.3 verder dient behandeld te worden. Het sublatieproces isoleert enkel opgeloste detergenten.

Zie de opstelling in figuur 1.

Filtreer het monster door zwartband filtreerpapier. Was het filtreerpapier met ongeveer 100 ml watermonster en verwijder het waswater.

Verbind de stikstof of lucht aanvoerleiding met de inlaat van de gaswasfles.

Vulling:

Vul de gaswasfles tot  $\pm 2/3$  vol met ethylacetaat. Spoel de sublatiekolom met ethylacetaat en verwijder het spoelmiddel. Giet het gefiltreerd monster met gekend volume in de sublator. Voeg 5 g natriumbicarbonaat,  $\text{NaHCO}_3$  en 100 g natriumchloride,  $\text{NaCl}$  toe.

Opmerking:

- indien het monstervolume  $< 500$  ml: los de toe te voegen zouten op in  $\pm 400$  ml water en doe deze oplossing in de sublator
- indien het monstervolume  $> 500$  ml: breng de zouten in vaste vorm in de sublator en los ze op in water onder doorleiden van stikstof of lucht.

Voeg in beide gevallen water toe zodat het niveau stijgt tot of juist boven de uitlaat. Voeg 100 ml ethylacetaat toe door het voorzichtig langs de wand van de sublator naar beneden te laten lopen zodat zich een laag bovenop het monster vormt.

Sublatie:

1. Start de stikstof- of luchtstroom, de snelheid voorzichtig verhogend tot 1 l/min initieel. De volumestroom moet zo zijn dat de fasen duidelijk gescheiden blijven en aan de interfase geen turbulentie ontstaat zodat een vermenging van de fasen wordt vermeden. Na 5 min wordt de gasstroom dichtgedraaid. Indien een lagere gassnelheid nodig is om fasevermenging te vermijden, verleng dan de sublatietijd proportioneel.

Opmerking: indien het volume van de ethylacetaatfase met meer dan  $\pm 20$  % verminderd is, moet de sublatie herbegonnen worden op een nieuw watermonster.

Laat de hele ethylacetaatlaag af door de bovenste uitlaat in een scheidtrechter.

Breng de getransfereerde waterlaag (hoogstens enkele ml) terug in de sublator.

Filtreer de ethylacetaatlaag door zwartband filtreerpapier, voorafgewassen met ethylacetaat, en vang het filtraat op in een verwarmbare beker.

2. Herhaal voorgaand proces met een 2de 100 ml ethylacetaat en gebruik hierbij dezelfde scheidtrechter en filter.

Voeg de beide filtraten samen. Spoel scheidtrechter en filter na met 20 ml ethylacetaat en voeg dit bij het eerder verzamelde ethylacetaat. De waterige fase in de scheidtrechter wordt weggegoten.

3. Verdamp het ethylacetaat (op een verwarmplaat) onder continu roeren en stuur hierbij een zachte stikstof- of luchtstroom over het vloeistofoppervlak om verdamping te versnellen en actief koken te minimaliseren. Het gesubleeerde detergent blijft in de beker achter als een film van residu.

Oplossing:

Voeg 10 tot 20 ml methanol toe om het sublatieresidu op te lossen. Voeg 25 tot 50 ml water toe. Verdamp zonder koken de methanolfase. Voeg water toe indien nodig (om droogdampen te vermijden). Verdun tot 100 ml met water.

Indien meer dan 200 µg MBAS aanwezig is, een geschikte verdunning toepassen.

Ga dan verder zoals beschreven is in 7.3.

### 7.3 Ionpaarvorming en extractie

De kalibratiecurve wordt opgesteld aan de hand van 4 standaarden gelegen in het werkgebied van 0,2 tot 2,0 mg LS/l.

De standaarden worden op een analoge wijze als de monsters (hieronder beschreven) geanalyseerd, (totaal volume: 100 ml).

Per monster zijn er 2 scheitrechters nodig.

\*1ste scheitrechter (extractie in alkalische oplossing):

Breng 100 ml monster of een kleinere hoeveelheid aangelengd met water tot 100 ml in de scheitrechter. Voeg hierbij 10 ml bufferoplossing, 5 ml neutrale methyleenblauwoplossing en 15 ml chloroform. Extraheer gedurende 1 minuut.

Opmerking : het mengsel gelijkmatig en niet te hevig omschudden en de druk regelmatig via het kraantje aflaten.

\*2de scheitrechter (extractie in zure oplossing):

Voeg 110 ml water en 5 ml zure methyleenblauwoplossing toe. Laat de heldere chloroformlaag (= de onderste laag) uit de 1ste scheitrechter hierin af. Extraheer gedurende 1 minuut (ook druk aflaten). Plaats een trechter (met watten) op een maatkolf van 50 ml en bevochtig deze wattenfilter met chloroform. Laat de chloroformlaag uit de 2de scheitrechter af over deze filter.

Voer deze extracties in alkalische en zure oplossing driemaal achtereenvolgend uit. Gebruik voor de 2de en 3de extractie telkens 10 ml chloroform.

De door diezelfde watten gefiltreerde en verenigde chloroformextracten worden in de maatkolf met chloroform tot de maatstreep aangelengd. De hiervoor noodzakelijke hoeveelheid chloroform wordt voor het nawassen van de watten gebruikt. De tot 50 ml aangelengde maatkolf wordt goed omgeschud en fotometrisch gemeten (zie 7.5).

Opmerking : overmatig schudden kan emulsievorming veroorzaken. Om moeilijk afbreekbare emulsies af te breken: voeg een klein volume isopropylalcohol (< 10 ml) toe, en voeg hetzelfde volume isopropylalcohol toe aan alle standaarden.

#### 7.4 Blanco bepalingen

Voer op analoge manier (7.3) een blancobepaling uit op 100 ml water in plaats van op het monster.

#### 7.5 Fotometrische bepaling

Eigenlijke meting:

- stel de fotometer in op 650 nm
- gebruik cuvetten van 1 cm
- zet de fotometer op absorptie nul met chloroform
- lees de standaarden, monsters en blanco af ten opzichte van chloroform.

### 8 CONTROLE-ANALYSEN

Een blanco oplossing wordt met elke reeks meegenomen.

Onder de aangegeven omstandigheden mag de absorptiewaarde van de blanco bij een laagdikte van 1 cm de waarde 0,02 niet overschrijden. Indien dit wel het geval is dan moeten de gebruikte apparatuur en reagentia zorgvuldig op verontreinigingen getest worden.

### 9 BEREKENINGEN

Uit de kalibratiecurve wordt het aantal mg/l schijnbare LS overeenkomend met de gemeten absorptie gehaald.

Het resultaat wordt uitgedrukt als mg LS/l.

### 10 VEILIGHEID

Ethylacetaat, C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>

R : 11

S : 16-23-29-33

- licht ontvlambaar

Methanol, CH<sub>3</sub>OH

R : 11-23/25

S : 2-7-16-24

- licht ontvlambaar
- giftig

Zoutzuur, HCl

R : 34-37

S : 2-26

- corrosief

Ethanol, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH

R : 11

S : 7-16

- licht ontvlambaar

Natriumcarbonaat Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>

R : 36

S : 22-36

- irriterend

Chloroform, CHCl<sub>3</sub>

R : 20

S : 2-24/25

- schadelijk

Zwavelzuur, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

R : 35

S : 2-26-30

- nooit water op deze stof gieten
- corrosief

Natriumhydroxyde, NaOH

R : 35

S : 2-26-37/39

- veroorzaakt ernstige brandwonden

## 11 REFERENTIES

- Standard methods for the examination of water and wastewater, 17th edition, 1989
- Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser-, und Schlammuntersuchung, H23, 1981
- Analysemethoden voor water, Ministerie van Volksgezondheid en van het Gezin, Instituut voor Hygiëne en Epidemiologie, 1985