

ỨNG DỤNG PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ HẤP THỤ PHÂN TỬ ĐỂ XÁC ĐỊNH ĐỘ PHÂN HỦY SINH HỌC CỦA CHẤT HOẠT ĐỘNG BỀ MẶT TRONG NƯỚC RỬA CHÉN

Lương Công Quang*, Đào Thị Sương

Trường Cao đẳng Công Thương miền Trung

*Email: luongcongquang.cnh@gmail.com

Ngày nhận bài: 18/12/2024; Ngày nhận đăng: 04/02/2025

Tóm tắt

Độ phân hủy sinh học trong nước rửa chén là khả năng các chất bị phân hủy bởi vi sinh vật tự nhiên (vi khuẩn, nấm...) thành các hợp chất đơn giản như nước (H_2O , CO) an toàn cho người tiêu dùng. Để xác định độ phân hủy sinh học của chất hoạt động bề mặt ta dùng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử. Hàm lượng chất hoạt động bề mặt anion trước và sau khi phân hủy được xác định bằng phương pháp đo độ hấp thụ cực đại phức của nó với methylen xanh sau khi chiết bằng clorofoc ở bước sóng $\lambda = 650$ nm. Dựa vào đường chuẩn ta tính được độ phân hủy sinh học của chất hoạt động bề mặt trong chất tẩy rửa.

Từ khóa: Chất hoạt động bề mặt, phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử, natri lauryl sunfat

Application of the molecular absorption spectroscopy method to determine the biodegradability of surfactants in dishwashing liquid

Luong Cong Quang, Dao Thi Suong

Mien Trung Industry and Trade college

Email: luongcongquang.cnh@gmail.com

Received: December 18, 2024; Accepted: February 4, 2025

Abstract

Biodegradability in dishwashing liquid is the ability of substances to be decomposed by natural microorganisms (bacteria, fungi, etc.) into simple compounds such as water (H_2O , CO) that are safe for consumers. To determine the biodegradability of surfactants, we use molecular absorption spectroscopy. The contents of anionic surfactants before and after decomposition is determined by measuring the maximum absorption of its complex with methylene blue after extraction with chloroform at a wavelength of $\lambda = 650$ nm. Based on the standard curve, we can calculate the biodegradability of surfactants in detergents.

Keywords: Surfactant, a molecular absorption spectroscopy method, Sodium lauryl sulfate

1. Mở đầu

Hiện nay trên thị trường có rất nhiều loại nước tẩy rửa tổng hợp, phong phú và đa dạng về chủng loại và chất lượng, bao gồm các sản phẩm như bột giặt, kem đánh răng, thuốc gội đầu, nước rửa chén, nước lau sàn nhà, sữa rửa mặt... có chức năng làm sạch, diệt khuẩn, dưỡng da... Trong các chất tẩy rửa tổng hợp thì nước rửa chén ít được sự quan tâm của mọi người hơn các loại khác mặc dù ngày nào chúng ta cũng sử dụng và quan trọng hơn là sử dụng để rửa các dụng cụ đựng đồ ăn uống, nghĩa là có khả năng ảnh hưởng đến hệ tiêu hoá (Vương Ngọc Chính, 2007; Louis Hồ Tấn Tài, 2003).

Ngoài các loại nước rửa chén có thương hiệu trên thị trường như Sunlight, Mỹ Hào... còn có những sản phẩm nước rửa chén trôi nổi không rõ nguồn gốc với giá siêu rẻ cũng xuất hiện tràn lan trên thị trường. Đa số các sản phẩm này được pha chế từ các hóa chất không rõ nguồn gốc, xuất xứ, sử dụng các các hóa chất có tính ăn mòn cao, phẩm màu và mùi độc hại. Phần lớn người sử dụng thường cho rằng, nước rửa chén không rõ nguồn gốc chỉ ảnh hưởng đến da tay, mà ít người biết rằng khi trong nước rửa chén có các chất độc nếu sử dụng lâu dài thì nó sẽ thẩm thấu qua da tay, làm mỏng làn da, nếu tích tụ lâu ngày có thể dẫn đến ung thư da. Ngoài ra nếu chén bát rửa không sạch các chất này thì nó sẽ theo thức ăn tích tụ dần trong cơ thể con người gây ra các bệnh về gan thận. Mặt khác, các chất hoạt động bề mặt được sử dụng trong chất tẩy rửa tổng hợp khi thải ra môi trường nếu không phân hủy hết sẽ ảnh hưởng đến môi trường (TCVN 5458-1991)

Chính vì vậy mà gần đây các phương tiện thông tin đại chúng đã liên tục cảnh báo người sử dụng về tác hại của nước rửa chén không rõ nguồn gốc. Để bảo vệ sức khỏe người tiêu dùng, ngoài việc quản lý chặt chẽ nguồn gốc các nguyên liệu sử dụng trong sản xuất thì việc kiểm định độ phân hủy sinh học của sản phẩm cũng quan trọng không kém.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Cơ sở của phương pháp

Chất hoạt động bề mặt (CHĐBM) được sử dụng trong nước rửa chén là CHĐBM anion, do vậy ở đây chỉ xác định độ phân hủy sinh của CHĐBM anion.

CHĐBM trong điều kiện môi trường nhất định được phân huỷ sau một khoảng thời gian nhất định nhờ cây các vi sinh vật từ nguồn bùn hoạt hoá trong tự nhiên (TCVN 5454-1999).

Hàm lượng CHĐBM anion trước và sau khi phân huỷ được xác định bằng phương pháp đo độ hấp thụ cực đại phức của nó với methylen xanh sau khi chiết bằng clorofoc ở bước sóng $\lambda = 650 \text{ nm}$. Vì phương pháp đo độ hấp thụ cực đại là một công cụ mạnh mẽ và linh hoạt trong nghiên cứu hóa học, sinh học, môi trường và dược phẩm. Nhờ vào tính nhanh chóng, chính xác và chi phí hợp lý, phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử trở thành phương pháp phổ biến trong các phòng thí nghiệm phân tích hiện đại (TCVN 5492-1991).

2.2. Hoá chất, thiết bị và dụng cụ

- NH_4Cl
- K_2HPO_4
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- KCl

- $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- Dung dịch đệm borac pH = 10
- H_2SO_4 0,5M.
- Metylen xanh 0,25 %.
- Natri lauryl sunfat (SLS), khối lượng phân tử trung bình $288,6 \pm 2$, độ tinh khiết hơn 98%.

- Bùn hoạt hoá: giống vi sinh vật để thử nghiệm lấy từ nguồn tự nhiên như nước sông hồ hoặc từ nước cống rãnh dân dụng. Bùn hoạt hoá có hàm lượng rắn lơ lửng 10 - 20 g/l và chỉ được dùng trong vòng năm giờ sau khi lấy (số lượng con vi khuẩn phải đạt $10^6 - 10^7$).

- Etanol 90 độ.
- Cao men.
- Dung dịch tiêu chuẩn CHĐBM anion:
 - + Dung dịch A (1 mg/ml). Cân chính xác 1,831 gam $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ trên cân phân tích, tẩm ướt bằng 1 ml CH_3COOH đặc, thêm nước cất hoà tan và định mức thành 1000 ml, xóc trộn đều dung dịch.
 - + Dung dịch B (0,001 mg/ml): Lấy chính xác 1 ml dung dịch chì tiêu chuẩn A chuyển vào bình định mức 1000 ml, thêm nước cất đến vạch, xóc trộn đều dung dịch.
- Máy lắc ngang có biên độ 5 - 10 cm, tần số lắc 100 - 130 lần trong một phút hoặc máy lắc tròn 230 - 200 vòng/phút.
- Máy quang phổ, bước sóng $\lambda = 650 \text{ nm}$.
- Tủ sấy, cân phân tích sai số $2 \cdot 10^{-4}$, cân kỹ thuật.
- Bình nuôi cấy để lắc dung tích 1000 ml có nút đậy bằng bông đã được khử trùng trước trong vòng 1 đến 2 giờ ở 170°C .
- Phễu chiết, dung tích 250 ml, 2000 ml.
- Các dụng cụ thông thường của phòng thí nghiệm như bình định mức, bình tam giác, pipet, cốc thủy tinh...

2.3. Giai đoạn chuẩn bị

2.3.1. Chuẩn bị mẫu

- Cân 50 gam mẫu vào cốc thủy tinh dung tích 500 ml, thêm vào đó 40 ml etanol. Cô mẫu trên bếp cách thủy đến khô, sau đó hoà tan mẫu bằng 300 ml etanol, đậy cốc bằng mặt kính đồng hồ, đun nóng trên bếp cách thủy và khuấy cho mẫu phân tán hoàn toàn. Lọc mẫu qua giấy lọc vào cốc dung tích 250 ml. Cô nhẹ cốc trên bếp cách thủy đến còn khoảng 50 ml.

- Tiếp tục quá trình hoà tan trên hai lần nữa, mỗi lần với 200 ml etanol. Thu gộp tất cả dung dịch lọc vào cốc đang cô trên và cô nhẹ tiếp cốc này trên bếp cách thủy cho đến khi chỉ còn lại cặn.

- Hoà tan 1,00 gam CHĐBM ở phần cặn và định mức thành 1000 ml dung dịch. Dung dịch này dùng để xác định độ phân huỷ sinh học CHĐBM trong mẫu thử [4].

2.3.2. Chuẩn bị môi trường cơ bản

- Thành phần môi trường cơ bản như sau:

+ NH_4Cl 3,0 g

+ K ₂ HPO ₄	1,0 g
+ MgSO ₄ .7H ₂ O	0,25 g
+ KCl	0,25 g
+ FeSO ₄ .7H ₂ O	0,002 g
+ Cao men	0,30 g
+ Nước	1 lít

- Cách pha môi trường cơ bản sử dụng ngay: Hoà tan lần lượt NH₄Cl, K₂HPO₄, KCl và FeSO₄.7H₂O trong khoảng 800 ml nước và điều chỉnh đến pH = 7,2 ± 0,2 bằng dung dịch HCl hay NaOH loãng. Cao men và MgSO₄ được hoà tan trong 200 ml nước, sau đó đổ vào dung dịch trên và khuấy. Cao men chỉ được thêm vào ở dạng khô ngay trước khi dùng. Điều quan trọng là phải sử dụng môi trường cơ bản ngay sau khi chuẩn bị để tránh nhiễm khuẩn.

- Cách pha môi trường cơ bản sử dụng sau 8 giờ: Hoà tan lần lượt NH₄Cl, K₂HPO₄, KCl, FeSO₄.7H₂O, MgSO₄ trong khoảng 800 ml nước và điều chỉnh đến pH = 7,2 ± 0,2 bằng dung dịch HCl hay NaOH loãng. Khử trùng dung dịch ở nhiệt độ 122-125⁰C, áp suất 110-130 KPa khoảng 20 phút và để nguội. Cao men được hoà tan trong 200 ml nước cũng đã được khử trùng và để nguội, sau đó đổ vào dung dịch trên và khuấy.

2.3.3. Giai đoạn cấy truyền

- *Bước 1*: Chuẩn bị ba bình cấy truyền, dung tích 1000 ml, có các thành phần như sau:

Bình	Bình mẫu trắng (t ₁)	Bình mẫu đối chứng (đc ₁)	Bình mẫu thử (m ₁)
Dung dịch (ml)			
Môi trường cơ bản	500	500	500
CHĐBM, dung dịch tiêu chuẩn B	0	30	0
CHĐBM, dung dịch mẫu thử chuẩn bị ở mục 2.3.1	0	0	30
Bùn hoạt hoá	5	5	5

Điều chỉnh đến pH = 6 - 8 trong các bình, đặt cả ba bình đã được nút bằng bông lên một máy lắc có khả năng thông khí và khuấy trộn tạo điều kiện môi trường tốt cho nuôi cấy truyền. Duy trì nhiệt độ ở 25 ± 3⁰C. Thời gian cấy truyền trong 72 giờ.

- *Bước 2*: Sau 72 giờ lắc như trên, lặp lại như bước 1 trong ba bình dung tích 1000 ml khác, có các thành phần như sau:

Bình	Bình mẫu trắng (t ₂)	Bình mẫu đối chứng (đc ₂)	Bình mẫu thử (m ₂)
Dung dịch (ml)			
Môi trường cơ bản	500	500	500
CHĐBM, dung dịch tiêu chuẩn B	0	30	0
CHĐBM, dung dịch mẫu thử chuẩn bị ở mục 2.3.1	0	0	30
Dung dịch cấy truyền ở bước 1	5ml dd t ₁	5ml dd đc ₁	5ml dd m ₁

Điều chỉnh đến pH = 6 - 8 trong các bình, đặt cả ba bình đã được nút bằng bông lên

một máy lắc có khả năng thông khí và khuấy trộn tạo điều kiện môi trường tốt cho nuôi cấy truyền. Duy trì nhiệt độ ở 25 ± 3 °C. Thời gian cấy truyền trong 72 giờ. Dung dịch thu được dùng để phân huỷ mẫu thử.

2.3.4. Giai đoạn phân huỷ sinh học của CHĐBM

- Chuẩn bị ba bình nuôi cấy, dung tích 1000 ml, có các thành phần như sau:

Dung dịch \ Bình	Bình mẫu trắng	Bình mẫu đối chứng	Bình mẫu thử
Môi trường cơ bản	500	500	500
CHĐBM, dung dịch tiêu chuẩn B	0	30	0
CHĐBM, dung dịch mẫu thử chuẩn bị ở mục 2.3.1	0	0	30
Dung dịch cấy chuyển ở bước 2	5 ml dd t ₂	5 ml dd đc ₂	5 ml dd m ₂

- Điều chỉnh đến dung dịch trong các đến pH = 6 – 8. Lấy mỗi bình 10 ml để xác định CHĐBM trước khi phân huỷ sinh học, lần lượt được kí hiệu là t₃, đc₃, m₃

- Phần còn lại trong bình được nút bằng bông, đặt cả ba bình lên một máy lắc có khả năng thông khí và khuấy trộn tạo điều kiện môi trường tốt cho nuôi cấy truyền. Duy trì nhiệt độ ở 25 ± 3 °C. Thời gian nuôi và phân huỷ CHĐBM trong vòng 8 ngày. Các dung dịch sau khi phân huỷ 8 ngày được kí hiệu là t₄, đc₄, m₄.

3. Thực nghiệm

3.1. Tiến hành xác định

3.1.1. Làm sạch các dung dịch

- Chuẩn bị 2 phễu chiết 2000 ml (kí hiệu A và B)
- Phễu chiết A cho vào: 500 ml nước, 100 ml đệm borax và 50 ml methylen xanh .
- Phễu chiết B cho vào: 1000 ml nước, 100 ml đệm borax và 50 ml dung dịch methylen xanh.
- Thêm vào mỗi phễu 100 ml clorofoc để rửa pha nước, sau đó loại bỏ pha clorofoc. Lặp lại quá trình rửa pha nước này bằng cách chiết tiếp hai lần nữa, mỗi lần với 30 ml clorofoc và loại bỏ pha clorofoc.

- Thêm vào phễu chiết B 30 ml axit sunfuric 0,5M.

3.1.2. Dụng đường chuẩn

- Chuẩn bị: 7 phễu chiết 250 ml đánh số thứ tự từ a₀ đến a₆, 7 phễu chiết 250 ml đánh số thứ tự từ b₀ đến b₆, 7 bình định mức 50 ml đánh số thứ tự từ 0 đến 6.

- Lần lượt thêm vào các bình a các chất sau:

STT phễu \ Hoá chất	a ₀	a ₁	a ₂	a ₃	a ₄	a ₅	a ₆
Dung dịch từ phễu A, ml	50	50	50	50	50	50	50
SLS, mg	0	0,02	0,04	0,06	0,08	0,10	0,12
Clorofoc, ml	15	15	15	15	15	15	15

- Lắc với tốc độ 2 vòng/s, để yên cho phân lớp. Chiết lớp clorofoc sang các phễu theo thứ tự từ b₀ đến b₆ đã có sẵn 100 ml dung dịch lấy từ phễu B. Tiếp tục thêm vào

các phễu a với 15 ml clorofoc, lặp lại thao tác như trên, chiết lớp clorofoc sang các phễu b. Lắc các phễu chiết b trong 1 phút, để phân lớp rồi chuyển pha clorofoc qua phễu lọc có lớp bông đã tẩm trước bằng clorofoc vào bình định mức dung tích 50 ml. Định mức tới vạch bằng clorofoc, lắc kỹ.

- Đo màu của dung dịch trong vòng ba giờ, ở bước sóng $\lambda = 650$ nm, dung dịch so sánh là clorofoc. Vẽ đồ thị chuẩn biểu thị mối tương quan giữa số mg CHĐBM và mật độ quang (A).

3.1.3. Đo mẫu

- Chuẩn bị 6 phễu chiết 250 ml đánh số thứ tự từ a_1 đến a_6 , 6 phễu chiết 250 ml đánh số thứ tự từ b_1 đến b_6 , 6 bình định mức 50 ml đánh số thứ tự từ 1 đến 6. Lần lượt thêm vào các dung dịch sau:

STT phễu Hoá chất	a_1	a_2	a_3	a_4	a_5	a_6
Dung dịch từ phễu A, ml	50	50	50	50	50	50
Dung dịch mẫu	3 ml dd t_3	3 ml dd $đc_3$	3 ml dd m_3	5 ml dd t_4	3 ml dd $đc_4$	3 ml dd m_4
Clorofoc, ml	15	15	15	15	15	15

- Tiến hành tương tự như với dãy màu chuẩn, chiết dung dịch trong các phễu a hai lần bằng clorofoc, chuyển lớp clorofoc sang phễu các phễu b tương ứng, tách lớp clorofoc trong phễu b vào bình định mức 50 ml, định mức tới vạch bằng clorofoc, lắc kỹ.

- Đo màu của dung dịch trong vòng ba giờ, ở bước sóng $\lambda = 650$ nm với dung dịch so sánh là clorofoc.

3.2. Tính kết quả

Từ đường chuẩn và mật độ quang đo được của mẫu tính được hàm lượng CHĐBM anion có trước và sau 8 ngày phân huỷ sinh học.

Độ phân huỷ sinh học tính sau 8 ngày (D) được thể hiện bằng phần trăm khối lượng (%) và được tính theo công thức sau:

$$D = \frac{(X_0 - T_0) - (X_8 - T_8)}{(X_0 - T_0)} \cdot 100$$

Trong đó:

- X_0 là giá trị trung bình của các số liệu phân tích bình mẫu thử (hoặc mẫu đối chứng) trước khi phân huỷ sinh học, tính bằng mg/l CHĐBM, được tính từ đồ thị chuẩn dựa vào mật độ quang đo được (A_{m0})

- T_0 là giá trị trung bình của các số liệu phân tích ở bình mẫu trắng trước khi phân huỷ sinh học.

- X_8 là giá trị trung bình của các số liệu phân tích bình mẫu thử (hoặc mẫu đối chứng) sau 8 ngày phân huỷ sinh học, tính bằng mg/l CHĐBM.

- T_8 là giá trị trung bình của các số liệu phân tích ở bình mẫu trắng sau 8 ngày phân huỷ sinh học

Nếu độ phân huỷ sinh học của bình đối chứng thấp hơn 95% thì phép phân tích không có giá trị.

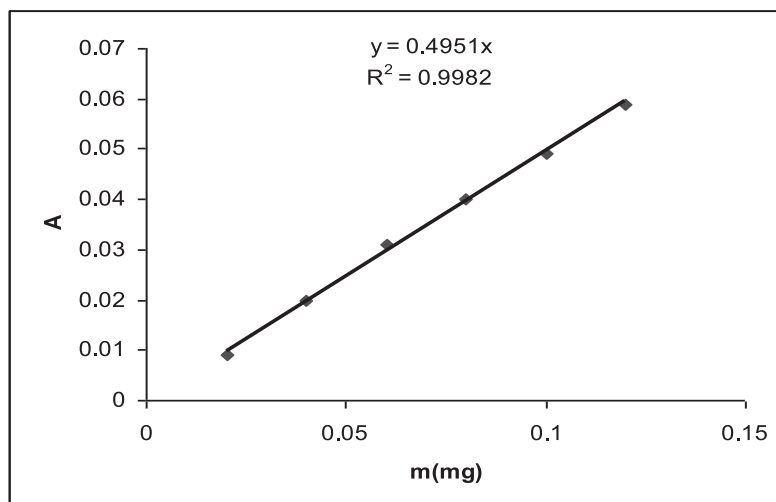
❖ **Kết quả thực nghiệm:**

- Dãy màu chuẩn đo được giá trị mật độ quang như sau:

$$A_1 = 0,009 \qquad A_3 = 0,031 \qquad A_5 = 0,049$$

$$A_2 = 0,02 \qquad A_4 = 0,04 \qquad A_6 = 0,059$$

- Đồ thị chuẩn biểu thị mối tương quan giữa mật độ quang A và số mg CHĐBM (m)



- Kết quả đo mật độ quang của các bình mẫu

+ Mẫu trắng trước khi phân huỷ sinh học: $A_{t0} = 0,003$

$$\Rightarrow T_0 = A_{t0} / 0,4951 = 0,003 / 0,4951 = 0,006$$

+ Mẫu thử trước khi phân huỷ sinh học: $A_{m0} = 0,047 \Rightarrow X_0 = 0,047 / 0,4951 = 0,095$

+ Mẫu thử sau khi phân huỷ sinh học: $A_{m8} = 0,004 \Rightarrow X_8 = 0,004 / 0,4951 = 0,008$

+ Mẫu trắng sau khi phân huỷ sinh học: $A_{t8} = 0,001$

$$\Rightarrow T_8 = A_{t8} / 0,4951 = 0,002$$

$$\Rightarrow D = \frac{(0,095 - 0,006) - (0,008 - 0,002)}{0,095 - 0,006} \cdot 100 = 93,3 (\%)$$

Tính khả thi của phép đo: giá trị của phép đo được chấp nhận khi độ phân huỷ sinh học của mẫu đối chứng đạt từ 95% trở lên

+ Mẫu đối chứng trước khi phân huỷ sinh học: $A_{đc8} = 0,051$

$$\Rightarrow X_{đc8} = 0,104 / 0,4951 = 0,104$$

+ Mẫu đối chứng sau khi phân huỷ sinh học: $A_{đc0} = 0,002$

$$\Rightarrow X_{đc0} = 0,0025 / 0,4951 = 0,005$$

Độ phân huỷ sinh học của mẫu đối chứng là:

$$D_{đc} = \frac{(0,104 - 0,006) - (0,005 - 0,002)}{0,104 - 0,006} \cdot 100 = 96,9 (\%)$$

Vậy giá trị của phép đo được chấp nhận.

4. Kết luận

Trong đời sống hiện nay, với sự tiến bộ của khoa học kỹ thuật ngày càng phát triển một cách mạnh mẽ, nên nhu cầu sử dụng chất tẩy rửa của con người ngày càng cao, đáp ứng điều đó ngày càng nhiều sản phẩm mới được ra đời. Các chất tẩy rửa ngày càng đa dạng vì thế chất tẩy rửa càng chứa nhiều các hóa chất gây nguy hại đến con người, vì mọi người

thường nghĩ rằng, nước rửa chén không rõ nguồn gốc chỉ ảnh hưởng đến da tay, làm khô da tay mà ít người biết rằng khi trong nước rửa chén có các chất độc nếu sử dụng lâu dài thì nó sẽ thẩm thấu qua da tay, làm mỏng làn da. Vì vậy, việc áp dụng phương pháp quang phổ hấp thụ phân để phân tích và tìm ra hàm lượng độ phân hủy sinh học của chất hoạt động bề mặt để bảo vệ sức khỏe người tiêu dùng, ngoài việc quản lý chặt chẽ nguồn gốc các nguyên liệu sử dụng trong sản xuất thì việc kiểm định chất lượng của sản phẩm rất quan trọng đời sống hiện nay □

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Vương Ngọc Chính (2007), *Giáo trình hương liệu - mỹ phẩm*, Đại học Bách khoa TP. HCM.
- Louis Hồ Tấn Tài (2003), Các sản phẩm tẩy rửa và chăm sóc cá nhân, Unilever, TCVN 5458-1991. Chất tẩy rửa tổng hợp. Phương pháp xác định chỉ số nồng độ ion hidro (độ pH)
- TCVN 5454-1999. Chất hoạt động bề mặt và chất tẩy rửa - Các phương pháp phân chia mẫu.
- TCVN 5493:1991.Xà phòng gội đầu và tắm dạng lỏng (SAMPUN). Phương pháp xác định hàm lượng clorua.
- TCVN 5491:1991. Xà phòng và chất tẩy rửa. Lấy mẫu trong sản xuất.
- TCVN 6969:2001. Phương pháp thử độ phân hủy sinh học của các chất tẩy rửa tổng hợp.
- TCVN 5494:1991. Xà phòng gội đầu và tắm (SAMPUN) dạng lỏng. Phương pháp xác định hàm lượng sunfat.
- TCVN 5492:1991.Xà phòng gội đầu và tắm dạng lỏng (SAMPUN). Phương pháp xác định hàm lượng chất hoạt động bề mặt.