

## PHÂN HUỖ MẪU ĐỂ XÁC ĐỊNH VI NHỰA TRONG CÁC BỘ PHẬN CỦA CÁ ĐỐI

Trần Thị Ái Mỹ<sup>1\*</sup>, Phan Thị Thuý Hằng<sup>2</sup>, Trần Anh Tuấn<sup>3</sup>, Lương Quang Đốc<sup>2</sup>, Võ Văn Quý<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Khoa Hoá, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế, 77 Nguyễn Huệ, Huế, Việt Nam

<sup>2</sup> Khoa Sinh, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế, 77 Nguyễn Huệ, Huế, Việt Nam

<sup>3</sup> Khoa Môi trường, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế, 77 Nguyễn Huệ, Huế, Việt Nam

\* Tác giả liên hệ Trần Thị Ái Mỹ <aimy.chem@hueuni.edu.vn>  
(Ngày nhận bài: 06-02-2023; Ngày chấp nhận đăng: 27-03-2023)

**Tóm tắt.** Trong nghiên cứu này, dung dịch KOH 10% được sử dụng để phân huỷ thịt, da và hệ tiêu hoá của cá đối. Các yếu tố ảnh hưởng bao gồm tỉ lệ thể tích KOH:mẫu thịt là 10/1 (mL·g<sup>-1</sup>), ủ mẫu ở 25 °C trong 72 giờ; thể tích KOH:mẫu da là 15/1 (mL·g<sup>-1</sup>), ủ mẫu ở 40 °C trong 72 giờ; thể tích KOH:mẫu hệ tiêu hoá là 20/1 (mL·g<sup>-1</sup>), ủ mẫu ở 40 °C trong 72 giờ. Hình ảnh phân tích mẫu thực tế cho thấy sự tồn tại của vi nhựa trong các bộ phận nghiên cứu với hình dáng và màu sắc khác nhau.

**Từ khoá:** vi nhựa, thịt, da, hệ tiêu hoá, cá đối

## Sample decomposition to determine microplastics in parts of mullets

Tran Thi Ai My<sup>1\*</sup>, Phan Thi Thuy Hang<sup>2</sup>, Tran Anh Tuan<sup>3</sup>, Luong Quang Doc<sup>2</sup>, Vo Van Quy<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Chemistry, University of Sciences, Hue University, 77 Nguyen Hue St., Hue, Vietnam

<sup>2</sup> Department of Biology, University of Sciences, Hue University, 77 Nguyen Hue St., Hue, Vietnam

<sup>3</sup> Department of Environment, University of Sciences, Hue University, 77 Nguyen Hue St., Hue, Vietnam

\* Correspondence to Tran Thi Ai My <aimy.chem@hueuni.edu.vn>  
(Received: 06 February 2023; Accepted: 27 March 2023)

**Abstract.** In this study, a 10% KOH solution was used to decompose the meat, skin, and digestive system of mullets. The factors in each experiment are as follows: 1)  $V_{\text{KOH}}:m_{\text{meat}}$  is 10/1 (mL·g<sup>-1</sup>), incubated at 25 °C for 72 h;  $V_{\text{KOH}}:m_{\text{skin}}$  is 15/1 (mL·g<sup>-1</sup>), incubated at 40 °C for 72 h;  $V_{\text{KOH}}:m_{\text{digestive system}}$  is 20/1 (mL·g<sup>-1</sup>), incubated at 40 °C for 72 h. The actual sample images display microplastics in the surveyed parts of the mullets with different shapes and colours.

**Keywords:** microplastics, meat, skin, digestive system, mullet

### 1 Mở đầu

Hiện nay, vi nhựa (microplastics, viết tắt MPs) được tìm thấy ở khắp nơi trên thế giới [1], từ môi trường nước mặn cho đến trầm tích ở đáy

biển sâu [2], hay ở các bãi cát ven biển. Vi nhựa cũng được tìm thấy trong nước ngầm, trong các hồ chứa, trong kênh rạch, sông ngòi và hồ của các khu đô thị [3]. Đối với một số loài cá, đã có nhiều nghiên cứu khác nhau chứng minh rằng, nếu đủ

thời gian và đủ số lượng tiêu thụ thì các MPs có thể dịch chuyển vào mô của sinh vật [4]. Vi nhựa thường bị nhầm lẫn là thức ăn nên được các vi sinh vật biến khác nhau tiêu thụ [5]. Sau khi được tiêu thụ, MPs có thể thông qua hệ thống tuần hoàn để xâm nhập vào các mô và tế bào khác nhau; do đó, chúng có khả năng gây ra một số loại tác dụng phụ (như nguy cơ gây tắc nghẽn hệ thống tiêu hoá, gây chấn thương cơ quan tiêu hoá từ bên trong hoặc/và gây ra cảm giác no giả làm giảm khả năng tiêu thụ thực phẩm khác nên không tạo được năng lượng cho các hoạt động, dẫn đến sinh vật bị mất dinh dưỡng) [5-7]. Turner và cs. [8] đã chỉ ra rằng MPs có thể gây hại thông qua quá trình tích lũy sinh học (gây suy giảm miễn dịch tại chỗ) hoặc có thể đóng vai trò là chất vận chuyển cho các hoá chất độc hại khác.

Một số nghiên cứu khác của Campani và cs. [9], Lazar và Gracan [10] đã chứng minh rằng việc các sinh vật biển cũng như một số loài sinh vật khác đã tiêu thụ MPs và việc tiêu thụ này phụ thuộc vào đặc điểm, hành vi của sinh vật cũng như phạm vi của các loại hạt mà sinh vật đó tiếp xúc trong môi trường. Theo Zettler và cs. [7], MPs đóng vai trò là nơi định cư quan trọng, chúng như chiếc thuyền chuyên chở các sinh vật di cư từ vùng này sang vùng khác, các sinh vật này phát triển nhanh chóng tạo ra một màng sinh học bao gồm một cộng đồng vi khuẩn đa dạng. Watnick và Kolter [11] ví màng sinh học này như một hệ sinh thái thu nhỏ và màng sinh học này kích thích các sinh vật lớn hơn ăn chúng.

Do vậy, có thể nói các động vật và con người sẽ chịu những ảnh hưởng nhất định khi tiêu thụ thực phẩm chứa MPs có hoặc không hấp thụ các độc chất trên chúng. Thậm chí, các loài thủy sản nuôi cũng có thể hấp thụ MPs vào cơ thể do tiêu thụ bột thức ăn nhiễm bẩn MPs [12]. Vì vậy, thông qua chuỗi thức ăn, MPs cùng với những chất độc hấp thụ trên MPs có thể xâm

nhập vào các động vật bậc cao hơn và cuối cùng là con người [13-16].

Cá đối là một trong những loại thực phẩm yêu thích của người dân Thừa Thiên Huế nói riêng và miền Trung nói chung. Để định lượng MPs trong các bộ phận khác nhau của cá đối, cần nghiên cứu phương pháp phân hủy mẫu hiệu quả để không làm ảnh hưởng đến vi nhựa và lựa chọn dung dịch tẩy nổi vi nhựa phù hợp để tách được các vi nhựa ra khỏi nền mẫu sinh học mà không làm phá hủy chúng. Các dung dịch phân hủy mẫu khác nhau có thể ảnh hưởng đến chất lượng vi nhựa (thay đổi màu vi nhựa ban đầu hay thậm chí phá hủy chúng) và tác động của nhiệt độ ủ cũng ảnh hưởng đến hiệu quả phân hủy mẫu vì nhiệt độ cao hơn có thể làm tăng tốc độ phân hủy mẫu, nhưng nhiệt độ cao cũng có nguy cơ làm phân hủy các vi nhựa.

Trong bài báo này, chúng tôi nghiên cứu (1) các dung dịch phân hủy mẫu với tỉ lệ thích hợp cùng với nhiệt độ và thời gian ủ mẫu phù hợp để phân hủy các bộ phận khác nhau của mẫu cá đối và (2) dung dịch tẩy nổi các vi nhựa sau quá trình phân hủy mẫu. Từ đó, chúng tôi đưa ra quy trình xác định vi nhựa trong mẫu thịt, da và hệ tiêu hoá (HTH) của cá đối.

## 2 Phương pháp

### 2.1 Hoá chất, dụng cụ, thiết bị

Các dụng cụ thí nghiệm được rửa sạch bằng xà phòng, rửa siêu âm bằng nước cất hai lần và sấy ở 110 °C trong ít nhất một giờ. Riêng các dụng cụ như bình định mức thì để khô tự nhiên. Các thiết bị đã sử dụng bao gồm kính hiển vi YM0745-L (Biocular Stereo Microscope) có gắn camera 5.0 Megapixel; bộ lọc hút chân không Rocker ba nhánh (Đài Loan); bể chiết siêu âm (Power Sonic 420, Hàn Quốc); máy xay cầm tay (Philip, Nhật); cân phân tích với độ chính xác

0,0001 g (Hansung, Trung Quốc); tủ sấy (OF-02, Hàn Quốc); các chất rắn, KOH khan, NaI, NaCl, KCl và các axit đậm đặc HNO<sub>3</sub>, HCl, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> đều là loại tinh khiết phân tích (Merck, Đức).

## 2.2 Chuẩn bị mẫu

Mẫu cá đối (*Mugil cephalus*) được lấy vào tháng 6/2022 tại đầm Cầu Hai, tỉnh Thừa Thiên Huế. Mẫu được gói trong giấy nhôm và bảo quản lạnh trong quá trình vận chuyển về phòng thí nghiệm. Các mẫu cá đối sau khi mang về phòng thí nghiệm được tiến hành cân và đo kích thước từng con gồm chiều dài (ký hiệu là  $D$ , cm), chiều rộng (ký hiệu là  $R$ , cm) và khối lượng. Mẫu cá đối được làm sạch, loại bỏ xương và chia thành các bộ phận để phân tích bao gồm: da, hệ tiêu hoá và thịt cá. Việc mổ xẻ cá được thực hiện theo Luther và cs. [17]. Mỗi con cá được đặt trên một khay kim loại và được mổ xẻ từ thực quản đến hậu môn của cá [17, 18]. Hệ tiêu hoá, phần da cá, phần thịt cá được tách riêng, cân và đặt vào đĩa Petri và đậy nắp ngay để thực hiện quá trình phân huỷ mẫu tiếp theo.

## 2.3 Phân tích mẫu

### Phân huỷ mẫu để không ảnh hưởng đến các vi nhựa

Theo tài liệu tham khảo và các kết quả của một số nghiên cứu đã thực hiện trước đây [19-21], các dung dịch phân huỷ mẫu được lựa chọn để khảo sát gồm KOH (10% w/v), HNO<sub>3</sub> 10%, HNO<sub>3</sub> 20%, HCl 20%, HCl 37% và H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%. Các vi nhựa chuẩn 0,1 g mỗi loại: polypropylene (PP), polyethylene (PE), polyethylene terephthalate (PET), polyamide (PA), và polycarbonate (PC) được cho vào mỗi 60 mL dung dịch phân huỷ mẫu KOH (10% w/v), HNO<sub>3</sub> 10%, HNO<sub>3</sub> 20%, HCl 20%, HCl 37% và H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% đựng trong bình tam giác thủy tinh 125 mL, đậy kín bằng giấy bạc. Các bình được đặt ở nhiệt độ phòng 25 °C. Sau thời gian 96 giờ, mẫu được lọc

qua giấy lọc Whatman 1821-047 (đường kính 47 mm, kích thước lỗ lọc 1 µm) bằng hệ thống hút chân không. Trước và sau khi lọc, giấy lọc được cân trên cân phân tích với độ chính xác 0,1 mg. Để kiểm tra sự thay đổi khối lượng (nếu có) của giấy lọc do quá trình xử lý hoá học, các giấy lọc là mẫu trắng được tiến hành song song.

Xác định hệ số thu hồi Rev (%) theo công thức sau:

$$Rev (\%) = \frac{m_a - m_0 - m_{\text{blank}}}{m_{\text{Spiked MPs}}} \times 100$$

trong đó  $m_{\text{Spiked MPs}}$  là tổng khối lượng các vi nhựa đã được thêm;  $m_a$  và  $m_0$  là khối lượng giấy lọc sau và trước khi lọc;  $m_{\text{blank}}$  là khối lượng của các phần hoá chất còn lại trên giấy lọc của mẫu trắng, được tính bằng khối lượng giấy lọc chứa mẫu trắng sau quá trình xử lý hoá chất, trừ đi khối lượng giấy lọc trước quá trình xử lý hoá chất.

### Phân huỷ các bộ phận mẫu cá đối

Với các dung dịch phân huỷ mẫu cho kết quả độ thu hồi từ 95 đến 105% và các vi nhựa trong bình phân huỷ mẫu không bị biến dạng hoặc thay đổi màu sắc, thì các dung dịch phân huỷ này được lựa chọn để tiếp tục khảo sát hiệu quả phân huỷ các bộ phận khác nhau của cá đối (da, hệ tiêu hoá và thịt). Các bình chứa mẫu cá đối cần phân tích được thêm một thể tích thích hợp các dung dịch phân huỷ mẫu đã được chọn như mô tả ở Mục 2.3, đặt ở nhiệt độ phòng (25 °C) hoặc trong tủ sấy ở 40 °C và tiến hành quan sát bằng mắt ở các thời điểm 24, 48, 72 và 96 giờ.

Hiệu quả của quá trình phân huỷ mẫu  $H$  (%) được đánh giá thông qua việc xác định hàm lượng sinh vật chưa bị phân huỷ hoặc còn lại rất ít (nhỏ hơn 5%) giữ lại trên giấy lọc (nếu có) theo công thức sau:

$$H (\%) = \frac{m_S - (m_a - m_0 - m_{\text{blank}})}{m_S} \times 100$$

trong đó  $m_s$  là khối lượng mẫu sinh vật đem phân huỷ;  $m_a$ ,  $m_o$  và  $m_{\text{blank}}$  được định nghĩa như Mục 2.3.

### Tuyển nổi vi nhựa ra khỏi dịch chiết mẫu sau quá trình phân huỷ

Sodium tungstate ( $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) là một loại muối có khối lượng riêng rất lớn ( $d = 4,18 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ). NaI cũng là một loại muối có khối lượng riêng khá lớn ( $d = 3,67 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ). Chúng có thể tuyển nổi hầu hết các loại vi nhựa với khối lượng riêng lớn như PET ( $d = 1,32\div 1,41 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ) và PVC ( $d = 1,14\div 1,56 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ). Tuy nhiên, giá thành  $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  cũng như NaI là quá cao, do đó việc khảo sát các dung dịch có giá thành thấp hơn như NaCl ( $d = 2,16 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ) hay KCl ( $d = 1,98 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ) để làm dung dịch tuyển nổi vi nhựa phù hợp nhằm tiết kiệm chi phí phân tích là cần thiết. Mẫu phân huỷ đã chọn sau các quá trình thí nghiệm được cho vào 15 mL dung dịch tuyển nổi khác nhau:  $\text{Na}_2\text{WO}_4$  bão hòa, NaI bão hòa, NaCl bão hòa, KCl bão hòa và  $\text{ZnCl}_2$  bão hòa trong từng bình thí nghiệm; lắc 30 phút và để lắng trong 60 phút. Lọc phần nổi ở trên qua phễu lọc bằng bộ hút chân không; phần cặn còn lại tiếp tục được cho vào dung dịch tuyển nổi và tuyển phần nổi qua giấy lọc. Lặp lại quá trình này ba lần để đảm bảo hiệu quả của quá trình tuyển nổi vi nhựa trên giấy lọc. Kiểm tra độ đúng của quá trình tuyển nổi vi nhựa thông qua xác định độ thu hồi của các vi nhựa chuẩn theo Mục 2.3.

Mẫu trắng (mẫu không có nền mẫu sinh vật) được thực hiện đồng thời để khắc phục khả năng nhiễm bẩn trong quy trình phân tích. Để tránh nhiễm bẩn, tất cả dung dịch phân tích (bao gồm nước cất hai lần sử dụng, dung dịch phân huỷ mẫu động vật thủy sinh và dung dịch tuyển nổi vi nhựa) được lọc bằng giấy lọc 4,7 mm ( $d = 1 \mu\text{m}$ ) trước khi sử dụng. Tất cả các vật chứa và cốc được tráng ba lần bằng nước siêu sạch (MiliQ water).

Để tránh mẫu có thể bị nhiễm sợi tổng hợp trong không khí, quá trình mở đường tiêu hoá, và tách các bộ phận của cá đối được tiến hành nhanh chóng và mẫu được đặt trong đĩa Petri và đậy nắp ngay lập tức. Găng tay cao su, dụng cụ bằng thủy tinh và kim loại và áo phòng thí nghiệm bằng vải cotton luôn được sử dụng.

## 3 Kết quả và thảo luận

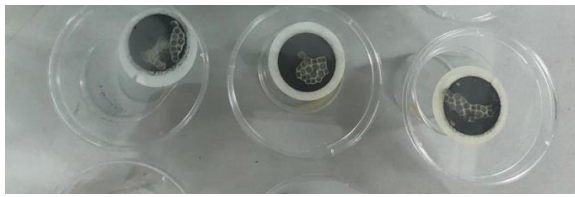
### 3.1 Khảo sát các điều kiện thích hợp để phân huỷ mẫu cá đối

#### Ảnh hưởng của dung dịch phân huỷ mẫu đến vi nhựa tiêu chuẩn

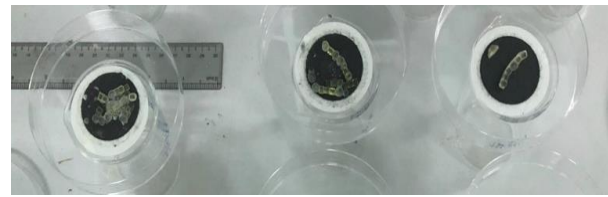
Hình 1 cho thấy hình ảnh các mẫu nhựa chuẩn phân huỷ trong các dung dịch phân huỷ mẫu khác nhau như đã mô tả ở Mục 2.3.

Quan sát bằng mắt thường ở Hình 1a và 1b có thể thấy dung dịch  $\text{HNO}_3$  ở bất kỳ nồng độ nào đều làm chảy hoàn toàn nhựa chuẩn polyamide (nylon 6,6) (màu đen) và biến dạng nhựa poly propylen (PP) (màu trắng); nhựa PE và PC ở dạng bột mịn nên không quan sát được sự biến dạng bằng mắt thường. Claessens và cs. [22] cũng đã công bố rằng hạt polystyrene (PS) bị tan chảy khi tiếp xúc trực tiếp với axit nitric. Ngoài ra, trên Hình 1d, màu vàng đậm trên nền giấy lọc cản trở quá trình quan sát vi nhựa. Đồng thời, độ thu hồi các mẫu chuẩn sau khi phân huỷ bằng HCl 37% nhỏ hơn 95%, chứng tỏ HCl đậm đặc có thể phân huỷ một số vi nhựa chuẩn ngay tại nhiệt độ phòng. Vì thế, dung dịch HCl 37% không được lựa chọn để khảo sát tiếp.

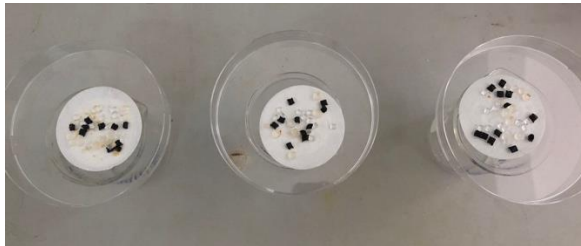
Độ thu hồi hàm lượng nhựa chuẩn được phân huỷ bằng các dung dịch phân huỷ mẫu còn lại là từ 94% đến 105%. Do đó, các dung dịch HCl 20%, KOH 10% và  $\text{H}_2\text{O}_2$  30% được sử dụng để khảo sát hiệu quả phân huỷ các bộ phận da, hệ tiêu hoá và thịt của mẫu cá đối cho các nghiên cứu tiếp theo.



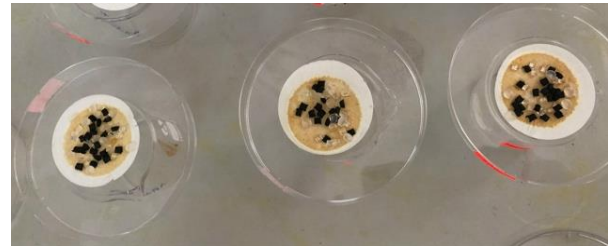
a. HNO<sub>3</sub> 20%



b. HNO<sub>3</sub> 63%



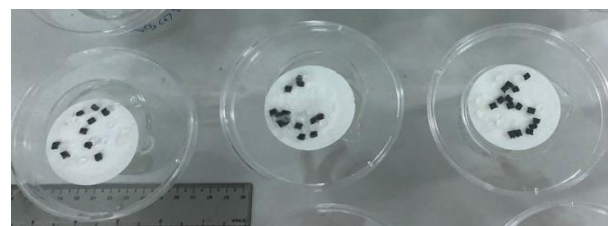
c. HCl 20%



d. HCl 37%



e. KOH 10%



f. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%

**Hình 1.** Các mẫu nhựa chuẩn được phân huỷ với các dung dịch phân huỷ mẫu khác nhau

### **Ảnh hưởng của các dung dịch phân huỷ mẫu khác nhau ở các nhiệt độ khác nhau đến sự phân huỷ các bộ phận khác nhau của mẫu cá đối**

Để lựa chọn điều kiện phân huỷ mẫu thích hợp với từng bộ phận của cá đối, các dung dịch HCl 20%, KOH 10% và H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% với các thể tích khác nhau được thêm vào các mẫu phân tích (Bảng 1). Các bình phân huỷ mẫu được đặt ở nhiệt độ phòng (25 °C) và trong tủ sấy (40 °C) và được quan sát ở các thời gian cố định là 24, 48, 72 và 96 giờ. Mỗi thí nghiệm làm lặp lại ba lần.

Ngay sau khi cho dung dịch H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% với tỉ lệ thể tích/khối lượng mẫu là 10/1 (mL/g) vào các mẫu thịt thì đều xảy ra hiện tượng sủi bọt và dung dịch trào ra ngoài. Do đó, chúng tôi giảm tỉ

lệ xuống 6/1, nhưng hiện tượng sủi bọt và trào dung dịch mẫu ra ngoài sau khoảng 15 phút vẫn tiếp tục xảy ra. Đối với các mẫu da và HTH cá đối, hiện tượng sủi bọt và trào dung dịch mẫu ra ngoài sau khoảng 1–2 giờ thêm dung dịch H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% tỉ lệ 10/1 và 6/1 cũng xảy ra. Do đó, dung dịch H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% không được lựa chọn cho những khảo sát tiếp theo vì khó đảm bảo tính toàn vẹn của mẫu phân tích.

Kết quả quan sát mẫu phân huỷ mẫu sau 24, 48, 72 và 96 giờ ở 25 °C và 40 °C cho thấy HCl 20% tỉ lệ 10/1 và 20/1 đều không phân huỷ tốt các mô. Hình 2 là một số hình ảnh phân huỷ các bộ phận của mẫu cá đối bằng HCl 20% tỉ lệ 10/1 sau 96 giờ ở 25°C.

**Bảng 1.** Các dung dịch phân hủy mẫu khác nhau với tỉ lệ thể tích và khối lượng mẫu khác nhau được thêm vào các bộ phận khác nhau của cá đối, mẫu được ủ ở nhiệt độ phòng (25 °C) và 40 °C

Dung dịch $V \text{ (mL)}/m_{\text{mẫu}} \text{ (g)}$	Hệ tiêu hoá				Da				Thịt			
	24 giờ	48 giờ	72 giờ	96 giờ	24 giờ	48 giờ	72 giờ	96 giờ	24 giờ	48 giờ	72 giờ	96 giờ
<b>Nhiệt độ ủ 25 °C</b>												
KOH 10% 10/1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	K
KOH 10% 15/1	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	K
KOH 10% 20/1	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	K
HCL 20% 10/1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HCl 20% 20/1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 10% 10/1	-	K	K	K	-	K	K	K	-	K	K	K
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 10% 6/1	-	K	K	K	-	K	K	K	-	K	K	K
<b>Nhiệt độ ủ 40 °C</b>												
KOH 10% 10/1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	K
KOH 10% 15/1	-	-	-	K	-	-	+	K	-	-	+	K
KOH 10% 20/1	-	-	+	K	-	-	+	K	-	-	+	K
HCl 20% 10/1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HCl 20% 20/1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Ghi chú: “-” vẫn còn nền mẫu sinh học; “+” gần như không còn nền mẫu sinh học; “K” không quan sát



Mẫu phân hủy thịt cá đối



Mẫu phân hủy da cá đối



Mẫu phân hủy hệ tiêu hóa cá đối

**Hình 2.** Hình ảnh phân hủy các bộ phận mẫu cá đối bằng dung dịch HCl 20% tỉ lệ 10/1 ở nhiệt độ phòng sau 96 giờ

Hiệu quả phân hủy của các bộ phận của cá đối bằng dung dịch HCl 20% tỉ lệ 10/1 và 20/1 và KOH 10% tỉ lệ 10/1, 15/1 và 20/1 ở nhiệt độ phòng và 40 °C được trình bày ở Bảng 2 và Hình 3.

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy rằng hiệu quả phân hủy nền mẫu hệ tiêu hoá, da và thịt cá đối

bằng HCl 20% trong 96 giờ ở tỉ lệ 10/1 và 20/1 đều không đạt tối ưu ( $H < 95\%$ ). Do đó, dung dịch HCl 20% không phải là tác nhân phù hợp để phân hủy các bộ phận của mẫu cá đối. Điều này phù hợp với cấu trúc của Nuelle và cs. [23] khi cho rằng HCl 20% không có khả năng phân hủy vật liệu hữu cơ trong nền mẫu sinh học.

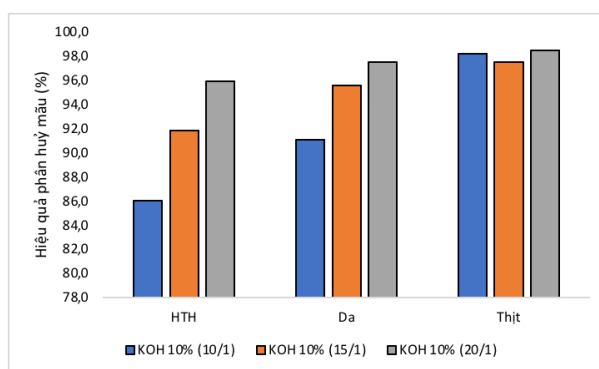
Kết quả ở Bảng 2 và Hình 3 cho thấy dung dịch KOH 10% tỉ lệ 10/1 chỉ loại bỏ tốt các mô trong mẫu thịt ( $H > 95\%$ ) sau 72 giờ ở nhiệt độ phòng và 40 °C chứ không loại bỏ được các mô trong nền mẫu da và hệ tiêu hoá ở nhiệt độ phòng và 40 °C sau 96 giờ. Tuy nhiên, khi tỉ lệ là 15/1 thì dung dịch KOH 10% loại bỏ các mô tốt hơn đối với hệ tiêu hoá và da, nhưng chỉ thực sự đạt hiệu quả phân huỷ mẫu mong muốn với mẫu da ( $H > 95\%$ ) sau 96 giờ ở nhiệt độ phòng và sau 72 giờ ở 40 °C. Đối với hệ tiêu hoá thì KOH 10% tỉ lệ 20/1 mới đủ để loại bỏ các mô và hiệu quả phân huỷ mẫu đạt trên 95% sau 96 giờ ở nhiệt độ phòng và sau 72 giờ ở 40°C.

Kiểm tra t-test với số liệu ở Bảng 2 cho thấy với cùng một loại mẫu thịt, cùng thời gian phân huỷ mẫu là 72 giờ, hiệu quả phân huỷ mẫu ở nhiệt độ phòng và 40 °C không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Do đó, nhiệt độ phòng được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo. Đối với mẫu da và hệ tiêu hoá thì khi gia nhiệt lên 40 °C, thời gian phân huỷ mẫu rút ngắn xuống 24 giờ (Bảng 3, Hình 3 và Hình 4). Như vậy, để rút ngắn thời gian phân tích, đối với mẫu da và mẫu thịt cá đối, chúng tôi lựa chọn phân huỷ mẫu trong tủ sấy (40 °C). Các điều kiện phân huỷ mẫu hệ tiêu hoá, da và thịt cá đối được tóm tắt ở Bảng 3.

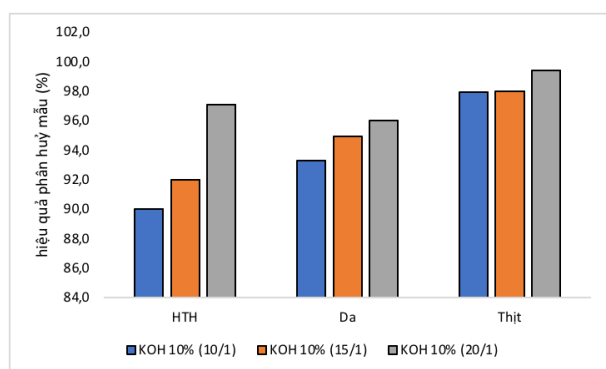
**Bảng 2.** Hiệu quả phân huỷ các bộ phận của cá đối bằng KOH và HCl

Dung dịch, V (mL)/m <sub>mẫu</sub> (g)	Nhiệt độ phòng (n = 3)			40 °C (n = 3)		
	HTH <sup>(b)</sup>	Da <sup>(b)</sup>	Thịt <sup>(c)</sup>	HTH <sup>(c)</sup>	Da <sup>(c)</sup>	Thịt <sup>(c)</sup>
KOH 10% (10/1)	86,0 ± 4,6	91,1 ± 3,7	98,2 ± 0,7	90,0 ± 2,5	93,3 ± 5,0	97,9 ± 1,2
KOH 10% (15/1)	91,8 ± 2,3	95,6 ± 0,8	97,5 ± 1,3	92,0 ± 3,2	94,9 ± 1,8	98,0 ± 4,1
KOH 10% (20/1)	95,9 ± 1,4	97,5 ± 0,2	98,5 ± 0,1	97,1 ± 3,4	96,0 ± 2,8	99,4 ± 2,3
Dung dịch, V (mL)/m <sub>mẫu</sub> (g)	Nhiệt độ phòng (n = 3)			40 °C (n = 3)		
	HTH <sup>(b)</sup>	Da <sup>(b)</sup>	Thịt <sup>(b)</sup>	HTH <sup>(b)</sup>	Da <sup>(b)</sup>	Thịt <sup>(b)</sup>
HCl 20% (10/1)	72,5 ± 5,3	64,2 ± 8,1	75,0 ± 3,4	74,5 ± 8,6	70,8 ± 4,8	69,0 ± 3,4
HCl 20% (20/1)	78,0 ± 7,0	71,5 ± ,5	72,9 ± 3,9	84,9 ± 2,4	79,4 ± 2,5	71,1 ± 6,7

*Chú thích:* Khối lượng da và hệ tiêu hoá đều nhỏ hơn 3 g; khối lượng thịt cá được cân chính xác là 6 g. Thời gian ủ mẫu là <sup>(b)</sup>96 giờ, <sup>(c)</sup>72 giờ.



a) ĐKTN: 25 °C, 72 giờ



b) 40 °C, 72 giờ

**Hình 3.** Hiệu quả phân huỷ các bộ phận khác nhau của cá đối bằng dung dịch phân huỷ KOH 10%

**Bảng 3.** Điều kiện phân huỷ các bộ phận mẫu cá đối bằng dung dịch KOH 10%

Nền mẫu	HTH	Da	Thịt
V (mL)/m (g)	20/1	15/1	10/1
Thời gian (giờ)	72	72	72
Nhiệt độ (°C)	40	40	25

### 3.2 Ảnh hưởng của dung dịch tẩy nổi hạt vi nhựa sau quá trình phân huỷ mẫu

Quá trình thí nghiệm được mô tả như Mục 2.3. và kết quả được trình bày ở Bảng 4.

Dung dịch tẩy nổi vi nhựa Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub> bão hòa và NaI bão hòa cho kết quả độ thu hồi lớn hơn 95%. Các dung dịch KCl bão hòa, NaCl bão hòa và ZnCl<sub>2</sub> bão hòa cho kết quả độ thu hồi xấp xỉ 95% nên nếu muốn tiết kiệm chi phí thì có thể sử dụng để tẩy nổi vi nhựa khỏi dịch chiết các bộ phận thịt, da, hệ tiêu hoá mẫu cá đối sau khi phân huỷ mẫu bằng dung dịch KOH 10% ở các điều kiện ở Bảng 3.

### 3.3 Phân tích vi nhựa trong các bộ phận của cá đối

Trên cơ sở các kết quả thu được, chúng tôi đề xuất quy trình phân tích vi nhựa trong các bộ phận của cá đối (Hình 4).

### 3.4 Một số ảnh chụp vi nhựa trong các bộ phận của cá đối

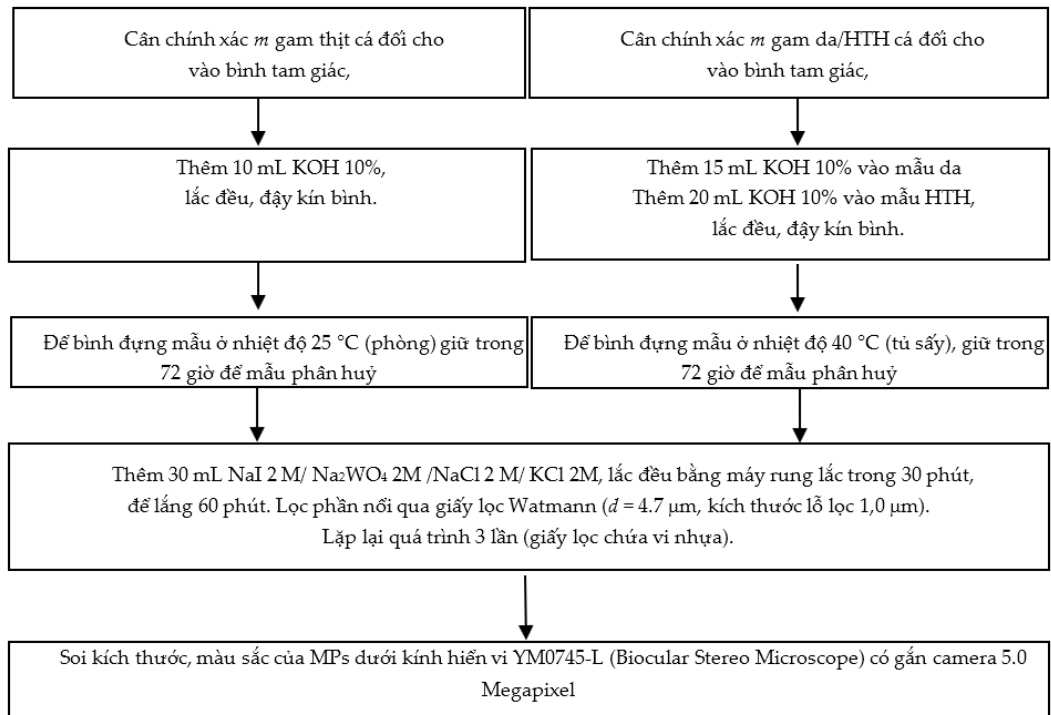
Áp dụng quy trình phân tích ở Hình 4 cho mẫu thịt, da và hệ tiêu hoá của cá đối, chúng tôi thu được một số hình ảnh vi nhựa (Hình 5). Hình ảnh phân tích mẫu thực tế cho thấy bằng chứng về sự tồn tại của vi nhựa trong các bộ phận của cá đối khảo sát với các hình dáng và màu sắc khác nhau.

**Bảng 4.** Ảnh hưởng của các dung dịch tẩy nổi đến khả năng tách vi nhựa ra khỏi dịch chiết các bộ phận của cá đối

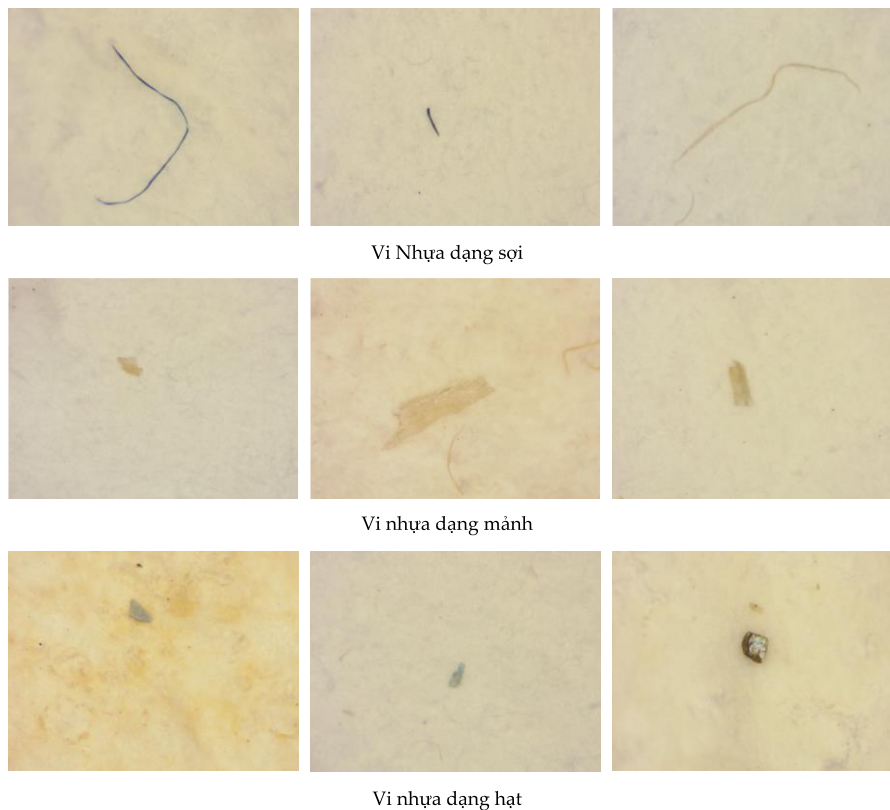
Dung dịch tẩy nổi	Rev (%) ± SD (n = 3)		
	HTH	Da	Thịt
Na <sub>2</sub> WO <sub>4</sub> bão hòa	98,0 ± 2,1	99,5 ± 3,2	98,8 ± 2,6
NaI bão hòa	97,4 ± 1,3	98,7 ± 3,4	99,3 ± 4,8
NaCl bão hòa	94,2 ± 4,1	94,9 ± 4,3	95,5 ± 5,1
KCl bão hòa	93,5 ± 3,0	94,3 ± 1,5	93,8 ± 4,9
ZnCl <sub>2</sub> bão hòa	94,8 ± 2,7	93,6 ± 2,3	94,5 ± 3,4

(\*) Điều kiện thí nghiệm: như Bảng 3





Hình 4. Quy trình phân tích vi nhựa trong thịt, da và hệ tiêu hoá cá đối



Hình 5. Một số ảnh chụp vi nhựa trong các mẫu nghiên cứu

## 4 Kết luận

Chúng tôi đã phân huỷ các bộ phận của cá đối trong dung dịch KOH 10% theo tỉ lệ 10/1 (10 mL KOH 10%/1 g mẫu thịt cá) ở 25 °C trong 72 giờ, tỉ lệ 15/1 ở 40 °C trong 72 giờ, và tỉ lệ 20/1 ở 40 °C trong 72 giờ. Phương pháp này có thể áp dụng để phân tích thành công hàm lượng vi nhựa trong các bộ phận khác nhau của cá đối. Hình ảnh vi nhựa trong mẫu thực tế cho thấy bằng chứng về sự tồn tại của vi nhựa trong các bộ phận mẫu cá đối khảo sát với nhiều loại vi nhựa khác nhau về hình dáng và màu sắc. Do đó, mở rộng nghiên cứu sâu hơn về đối tượng nghiên cứu, cấu trúc vi nhựa và dự đoán nguồn gốc của chúng là rất cần thiết để kịp thời có những giải pháp khuyến cáo thích hợp.

### Thông tin tài trợ

Đây là kết quả của đề tài khoa học và công nghệ cấp tỉnh được ngân sách nhà nước tỉnh Thừa Thiên Huế đầu tư, mã số THH.2021-KC.04.

### Tài liệu tham khảo

1. Cole M, Lindeque P, Halsband C, Galloway TS. Microplastics as contaminants in the marine environment: a review. *Marine Pollution Bulletin*. 2011;62(12):2588-2597.
2. da Costa JP, Santos PS, Duarte AC, Rocha-Santos T. (Nano) plastics in the environment—sources, fates and effects. *Science of the Total Environment*. 2016;566:15-26.
3. Rose D, Webber M. Characterization of microplastics in the surface waters of Kingston Harbour. *Science of the Total Environment*. 2019;664:753-760.
4. Compa C, Ventero A, Iglesias M, Deudero S. Ingestion of microplastics and natural fibres in *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792) and *Engraulis encrasicolus* (Linnaeus, 1758) along the Spanish Mediterranean coast. *Marine Pollution Bulletin*. 2018;128:89-96.
5. De Sá LC, Luís LG, Guilhermino L. Effects of microplastics on juveniles of the common goby (*Pomatoschistus microps*): confusion with prey, reduction of the predatory performance and efficiency, and possible influence of developmental conditions. *Environmental Pollution*. 2015;196:359-362.
6. Foley CJ, Feiner ZS, Malinich TD, Hóök TO. A meta-analysis of the effects of exposure to microplastics on fish and aquatic invertebrates. *Science of the Total Environment*. 2018;550-559.
7. Zettler ER, Mincer TJ, Amaral-Zettler L. A Life in the “plastisphere”: microbial communities on plastic marine debris. *Environmental Science & Technology*. 2013;47(13):7137-7146.
8. Turner A, Wallerstein C, Arnold R. Identification, origin and characteristics of bio-bead microplastics from beaches in western Europe. *Science of the Total Environment*. 2019;664:938-947.
9. Campani T, Bainsi M, Giannetti M, Cancelli F, Mancusi C, Serena F, et al. Presence of plastic debris in loggerhead turtle stranded along the Tuscany coasts of the Pelagos Sanctuary for Mediterranean Marine Mammals (Italy). *Marine Pollution Bulletin*. 2013;74(1):225-230.
10. Lazar B, Gracan R. Ingestion of marine debris by loggerhead sea turtles, *Caretta caretta*, in the Adriatic Sea. *Marine Pollution Bulletin*. 2011;62(1):43-47.
11. Watnick P, Kolter R. Biofilm city of microbes. *Journal of Bacteriology*. 2000;182(10):2675-2679.
12. Renzi M, Guerranti C, Blašković A. Microplastic contents from maricultured and natural mussels. *Marine Pollution Bulletin*. 2018;131:248-251.
13. Farrell P, Nelson K. Trophic level transfer of microplastic: *Mytilus edulis* (L) to *Carcinus maenas* (L). *Environmental Pollution*. 2013;177:1-3.
14. Hartmann NB, Rist S, Bodin J, Jensen LHS, Schmidt SN, Mayer P, et al. Microplastics as vectors for environmental contaminants: exploring sorption, desorption, and transfer to biota. *Integrated Environmental Assessment and Management*. 2017;13:488-493.
15. Santana MFM, Moreira FT, Turra A. Trophic transference of microplastics under a low exposure scenario: insights on the likelihood of particle cascading along marine food-webs. *Marine Pollution Bulletin*. 2017;121:154-159.

16. Teuten EL, Saquing JM, Knappe DR, Barlaz MA, Jonsson S, Björn A, et al. Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2009;364(1526):2027-2045.
17. Lusher AL, O'Donnell C, Officer R, O'Connor I. Microplastic interactions with North Atlantic mesopelagic fish. *ICES Journal of Marine Science*. 2016;73(4):1214-1225.
18. Su L, Deng H, Li B, Chen Q, Pettigrove V, Wu C, et al. The occurrence of microplastic in specific organs in commercially caught fishes from coast and estuary area of east China. *Journal of Hazardous Materials*. 2019;365:716-724.
19. Avio CG, Gorbi S, Regoli F. Experimental development of a new protocol for extraction and characterization of microplastics in fish tissues: first observations in commercial species from Adriatic Sea. *Marine Environmental Research*. 2015;111:18-26.
20. Karami A, Golieskardi A, Choo CK, Romano N, Ho YB, Salamatinia B. A high-performance protocol for extraction of microplastics in fish. *Science of the Total Environment*. 2016;578:485-644.
21. My TTA, Dat ND, Long HT, Binh TT. Occurrence of microdebris in muscle of round scad (*Decapterus maruadsi*) collected from Central Vietnam. *EnvironmentAsia*. 2022;15(3):38-47.
22. Claessens M, Van Cauwenberghe L, Vandegehuchte MB, Janssen CR. New techniques for the detection of microplastics in sediments and field collected organisms *Marine Pollution Bulletin*. 2013;70:227-233.
23. Nuelle MT, Dekiff JH, Remy D, Fries E. A new analytical approach for monitoring microplastics in marine sediments. *Environmental Pollution*. 2014; 184:161-169.