



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**

(11)



2-0003940

(51) **G01N 1/28; G01N 21/00**
2024.01

(13) **Y**

(21) 2-2023-00282

(22) 04/06/2021

(67) 1-2021-03301

(45) 27/01/2025 442

(43) 27/09/2021 402

(73) Viện Tài nguyên và Môi trường, Đại học Quốc gia Hà Nội (VN)
Số 19 đường Lê Thánh Tông, phường Phan Chu Trinh, quận Hoàn Kiếm, thành phố
Hà Nội

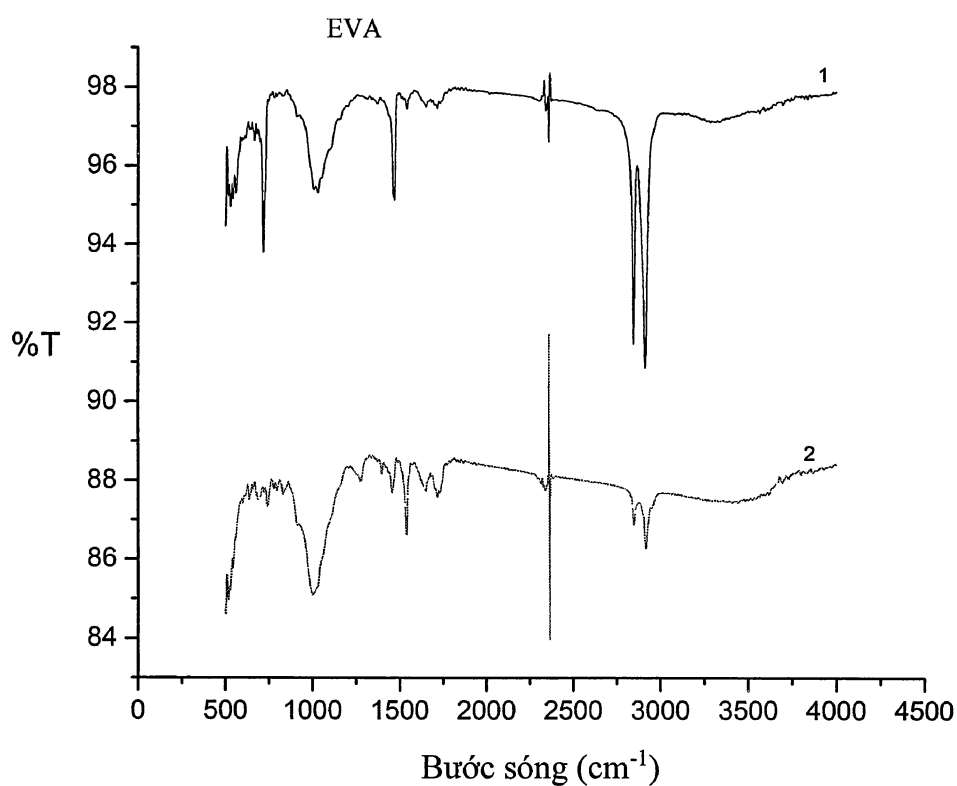
(72) Hà Thị Thu Huế (VN).

(74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ Hải Hân (HAI HAN IP CO., LTD.)

(54) QUY TRÌNH XÁC ĐỊNH VI NHỰA TRONG NGAO

(21) 2-2023-00282

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình xác định thành phần vi nhựa trong ngao, trong đó quy trình này bao gồm bước lựa chọn mẫu ngao, bước bảo quản mẫu, bước xử lý mẫu trước khi đưa mẫu vào thử nghiệm, bước tách vi nhựa trong ngao, bước phân tích vi nhựa bao gồm công đoạn xác định thành phần vật lý của vi nhựa sử dụng kính soi nổi để xác định hình dạng, màu sắc, kích thước của vi nhựa và công đoạn xác định thành phần hóa học của vi nhựa sử dụng máy quang phổ hồng ngoại phản xạ dựa trên việc so sánh phổ đo được với phổ chuẩn trong việc định danh các loại vi nhựa và bước tổng hợp số liệu phân tích để xác định thành phần vi nhựa trong ngao.



Hình 1

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình xác định vi nhựa trong ngao làm cơ sở phân tích đánh giá mức độ ô nhiễm của vi nhựa đang làm ảnh hưởng đến quá trình sản xuất sản phẩm sạch trong nuôi trồng thủy sản và mức độ ảnh hưởng đến con người tiêu thụ. Việc lập ra quy trình phân tích mức độ vi nhựa trong vật chỉ thị (ngao nuôi) làm cơ sở phân tích mức độ môi trường thay đổi là yếu tố quan trọng để góp phần bảo vệ môi trường trong nuôi trồng thủy sản.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Với ưu thế về điều kiện địa lý Việt Nam có chiều dài bờ biển 3.260 km, việc phát triển khá phổ biến nuôi ngao đang được người dân và chính quyền địa phương thực hiện. Đây là lĩnh vực chủ lực hiện nay trong phát triển ngành nuôi trồng thủy sản ven bờ biển tại Việt Nam. Giá trị xuất khẩu nhuyễn thể hai mảnh vỏ liên tục tăng trưởng trong những năm gần đây, đặc biệt khu vực các tỉnh ven biển phía Bắc đóng góp phần lớn vào sản lượng xuất khẩu. Cả nước hiện có khoảng 50 cơ sở chế biến nhuyễn thể 2 mảnh vỏ xuất khẩu với thị trường chủ yếu là các nước EU, Nhật Bản, Mỹ và một số nước Châu Á. Năm 2020 sản lượng xuất khẩu khoảng 50.000 tấn, tiêu thụ nội địa 250.000 tấn.

Giá trị kinh tế từ nuôi trồng nhuyễn thể hai mảnh vỏ ngày càng cao. Định hướng đến năm 2030, tổng diện tích nuôi ngao của cả nước sẽ đạt 24.550 ha, sản lượng đạt trên 393.000 tấn. Dự báo đến năm 2030 tổng sản lượng xuất khẩu nhuyễn thể hai mảnh vỏ của cả nước đạt trên 74.000 tấn, tổng giá trị xuất khẩu đạt trên 201 triệu USD.

Nuôi ngao đã và đang thu hút hàng nghìn lao động, giải quyết việc làm phổ thông tại địa phương. Do vậy, việc ứng dụng khoa học vào nâng cao chất lượng nuôi và quy trình kiểm định ngao là yếu tố cần thiết để đáp ứng nhu cầu thực tiễn trong sản xuất và phát triển kinh tế của cộng đồng vùng ven biển. Từ đó nâng cao đời sống người dân và góp phần không nhỏ vào sự ổn định, phát triển kinh tế cho người dân vùng ven biển.

Phần lớn các nghiên cứu đã công bố về vi nhựa chủ yếu tập trung vào các loài cá, vật trôi nổi, khó khăn trong việc nghiên cứu vì đòi hỏi chi phí lớn và mất thời gian trong quá trình thu thập mẫu. Do đó, cần thiết phải nghiên cứu đối tượng phù hợp để giảm chi phí và thời gian thực hiện, đưa ra kết luận chính xác đối với các vấn đề an toàn thực phẩm và chất lượng môi trường do nhiễm bẩn từ vi nhựa. Như vậy, không những nâng cao khả năng đánh giá môi trường mà còn có ý nghĩa hỗ trợ phát triển mặt kinh tế đối với vùng rộng lớn ven biển theo chiều dài địa lý Việt Nam đang thực hiện nuôi ngao.

Ting.W và các cộng sự đã nghiên cứu ảnh hưởng và hàm lượng ô nhiễm của vi nhựa trong loài cua biển sẫm màu (*Charybdis japonica*) cho ra với kính thước nhỏ và đánh giá mức độ ảnh hưởng đến các cơ quan từ gan tụy, ruột, mang, cơ. Sự đồng nhất sinh học (tức là sự tích tụ qua việc tiêu thụ trai nhiễm vi nhựa) đã không xảy ra, có thể do tiêu hóa vi nhựa. Cua được điều chỉnh khả năng giải độc (EROD) và bảo vệ chống oxy hóa (GST) để phản ứng với vi nhựa tích tụ trong mô của chúng. Tuy nhiên, các cơ chế bảo vệ này bị sụp đổ khi nồng độ vi nhựa trong gan tụy vượt quá ~ 3 mg, dẫn đến tổn thương gan nghiêm trọng (AST và ALT tăng) và suy giảm hoạt động thần kinh (giảm AChE).

Azad. S.M.O và các cộng sự đã nghiên cứu sự tồn tại vi nhựa trong dạ dày các loại cá vùng biển Thái Lan thuộc như vùng đáy biển, vùng ngoài khơi. Sự tồn tại của các kích thước khác nhau phụ thuộc vào dạ dày, chiều rộng của miệng và cân nặng kích thước của các loài cá khác nhau. Kết quả cho thấy, trong nội tạng cá được phân tích, vi nhựa chiếm 79,52% (< 5mm). Kích thước và cân nặng của cá nằm trong khoảng từ 8,5 đến 37,1cm và nằm trong khoảng từ 8 đến 133g.

Rachel R.H và các cộng sự đã nghiên cứu vi nhựa tồn tại trong giun tại Salford Quays, của phía Tây Bắc nước Anh. Các mẫu tìm thấy có kích thước chiều dài nằm trong khoảng từ 55 đến 4100µm chiếm 87%, trong khi kích thước chiều dài nằm trong khoảng từ 50 đến 4500µm chiếm 13%. Quá trình nghiên cứu cũng ghi nhận, sự tồn tại của vi nhựa lâu hơn trong cơ thể giun so với các thành phần khác.

Luisa. A và các cộng sự đã nghiên cứu vi nhựa (< 5mm) trong loài cá thuộc họ cá lù đù (*Stellifer brasiliensis*). Việc lựa chọn mẫu theo độ tuổi cá khác nhau (cá nhỏ, cá gần trưởng thành và trưởng thành) để xác định vi nhựa với kích thước là

1,31±0,52µm. Kết quả tìm ra mối tương quan giữa độ rộng của hệ tiêu hoá và kích thước vi nhựa trong cá.

McNeish R. E và các cộng sự đã nghiên cứu vi nhựa trong các loài cá thuộc họ Bống trắng (*Neogobius melanostomus*) tại hồ Michigan, Mỹ. Nghiên cứu đã tìm ra mối tương quan giữa kích thước cá với kích thước mẫu vi nhựa tìm thấy trong cá. Tuy vậy, không có mối tương quan về thành phần vi nhựa trong cá và vùng phân bố cá trên mặt nước.

Von M. N và các cộng sự đã nghiên cứu mẫu trai (*Mytilus edulis*) có chứa thành phần vi nhựa. Đã tiến hành ngâm mẫu nghiên cứu vào dung dịch công nghiệp polyethylene (HDPE) để tìm ra vi nhựa nằm trong khoảng từ 0 đến 80µm trong mô và tế bào của trai. Quá trình nghiên cứu đã chứng minh sự xâm nhập của vi nhựa vào mức độ tế bào của trai.

Mathew. C và các cộng sự đã nghiên cứu loài hào (*Crassostrea gigas*) đã tìm thấy các kích thước vi nhựa nằm trong khoảng từ 70nm đến 20µm. Sự khác nhau về kích thước vi nhựa tùy thuộc vào kích thước lớn và mức độ cho ăn của hào.

Có mong muốn nghiên cứu tìm ra quy trình xác định thành phần vi nhựa trong ngao, hoàn thiện quy trình kỹ thuật và công nghệ phân tích thành phần vi nhựa trong ngao từ đó góp phần kiểm soát an toàn thực phẩm và chất lượng môi trường do nhiễm bẩn hạt vi nhựa.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích là đề xuất quy trình xác định thành phần vi nhựa trong ngao, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

bước lựa chọn mẫu ngao;

bước bảo quản mẫu, trong đó mẫu được bảo quản ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -20°C đến -18°C;

bước xử lý mẫu trước khi đưa mẫu vào thử nghiệm;

bước tách vi nhựa trong ngao trong đó bước này gồm các công đoạn:

công đoạn tách mô mềm của ngao;

công đoạn xử lý mẫu ngao trong dung dịch, trong đó sử dụng dung dịch KOH 10% theo tỷ lệ 3:1 để phân hủy mẫu ngao;

công đoạn lọc vi nhựa trong dung dịch trong đó hỗn hợp NaCl và ZnCl_2 theo tỷ lệ 1:4 theo khối lượng rắn (NaCl (1,2g/ml) và ZnCl_2 (1,8g/ml)) được sử dụng để tuyển nổi các loại vi nhựa, bước tuyển nổi được thực hiện gồm việc đưa mẫu qua rây có đường kính $53\mu\text{m}$ để rửa sạch KOH bằng nước cất một lần, phần cặn thu được trên rây có kích thước lớn hơn $53\mu\text{m}$ được cho vào ống thủy tinh và đưa hỗn hợp NaCl và ZnCl_2 vào, sau đó khuấy đều và ngâm, dung dịch đã ngâm được gạn qua giấy lọc đặt trong máy bơm hút chân không để gạn dung dịch để thu được vi nhựa;

bước phân tích vi nhựa bao gồm các công đoạn:

công đoạn xác định thành phần vật lý của vi nhựa, sử dụng kính soi nổi để xác định hình dạng, màu sắc, kích thước của vi nhựa;

công đoạn xác định thành phần hóa học của vi nhựa, sử dụng máy quang phổ hồng ngoại phản xạ dựa trên việc so sánh phổ đo được với phổ chuẩn trong việc định danh các loại vi nhựa; và

bước tổng hợp số liệu phân tích để xác định thành phần vi nhựa trong ngao.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 là hình ảnh minh họa kết quả phân tích quang phổ trong ngao tại Quảng Ninh đối với vi nhựa là EVA.

Hình 2 là hình ảnh minh họa kết quả phân tích quang phổ trong ngao tại Nam Định đối với vi nhựa là nylon.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Quy trình xác định thành phần vi nhựa trong ngao được mô tả chi tiết như dưới đây.

Quy trình xác định thành phần vi nhựa trong ngao bao gồm bước lựa chọn mẫu ngao, bước bảo quản mẫu, bước xử lý mẫu trước khi đưa mẫu vào thử nghiệm, bước tách vi nhựa trong ngao, bước phân tích vi nhựa và bước tổng hợp số liệu phân tích để xác định thành phần vi nhựa trong ngao.

Bước lựa chọn mẫu ngao được thực hiện theo vùng địa lý và lựa chọn mẫu ngao theo nhóm tuổi để có thể so sánh kết quả giữa các vùng được chọn và các nhóm tuổi.

Bước bảo quản mẫu được thực hiện bằng cách, mẫu ngao sau khi thu về ngoài khu vực nghiên cứu được rửa sạch bằng nước thường để loại bỏ phần bẩn ngoài vỏ, cho vào tủ đông lạnh ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -20°C đến -18°C , tốt hơn nếu nhiệt độ này là -19°C để con ngao giữ được độ tươi phù hợp cho việc phân tích theo giải pháp hữu ích.

Bước xử lý mẫu trước khi đưa mẫu vào thử nghiệm được thực hiện như sau: ngao được rã đông, sau đó rửa kỹ bằng nước cất đã lọc để loại bỏ cặn và tạp chất bẩn ngoài vỏ trước khi tiến hành xác định các số đo của ngao bằng thước đo điện tử có độ nhạy đến mm. Ngoài ra còn tiến hành đánh số thứ tự ngao để lựa chọn theo nhóm phân tích theo nhóm tuổi.

Bước tách vi nhựa trong ngao, trong đó bước này gồm các công đoạn: công đoạn tách mô mềm của ngao, công đoạn xử lý mẫu ngao trong dung dịch trong đó sử dụng dung dịch KOH 10% theo tỷ lệ 3:1 để phân hủy mẫu ngao và công đoạn lọc vi nhựa trong dung dịch trong đó hỗn hợp NaCl và ZnCl_2 được sử dụng để tuyển nổi các loại vi nhựa và giấy lọc đặt trong máy bơm hút chân không được sử dụng để gạn dung dịch để thu được vi nhựa.

Bước phân tích vi nhựa bao gồm các công đoạn: công đoạn xác định thành phần vật lý của vi nhựa sử dụng kính soi nổi để xác định hình dạng, màu sắc, kích thước của vi nhựa và công đoạn xác định thành phần hóa học của vi nhựa sử dụng máy quang phổ hồng ngoại phản xạ dựa trên việc so sánh phổ đo được với phổ chuẩn trong việc định danh các loại vi nhựa.

Bước tổng hợp số liệu phân tích dựa vào các số liệu đã thu được từ bước phân tích vi nhựa để so sánh giữa các mẫu theo vùng địa lý và độ tuổi của ngao, từ đó tìm ra được những mẫu ngao có hàm lượng vi nhựa lớn nhất, trung bình và nhỏ nhất.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ 1: Lựa chọn mẫu ngao

Tiến hành lấy mẫu ngao ngẫu nhiên tại xã Giao Thiện, huyện Giao Thủy, tỉnh Nam Định và ngao hai cùi tại xã Bản Sen, huyện Vân Đồn, tỉnh Quảng Ninh. Tổng số

mẫu là 400 con ngao của 2 tỉnh (200 con tại Quảng Ninh và 200 con tại Nam Định). Việc lựa chọn ngao chia theo 2 nhóm tuổi (tuổi 1 và tuổi 2).

Ví dụ 2: Bảo quản sau khi lấy mẫu và xử lý trước khi đưa mẫu vào thử nghiệm

Bảo quản sau khi lấy mẫu

Mẫu ngao sau khi thu về ngoài khu vực nghiên cứu được rửa sạch bằng nước thường để loại bỏ phần bẩn ngoài vỏ, cho vào tủ đông lạnh ở nhiệt độ -19°C . Ngao được người nuôi ngao và người bán phân định kích cỡ theo cảm quan, tại Quảng Ninh. Ngao đầu 2: từ 20 đến 25 con/kg (2 to), từ 26 đến 30 con/kg (2 nhỏ); ngao đầu 3: từ 31 đến 35 con/kg (3 to), từ 36 đến 40 con/kg (3 nhỏ); ngao đầu 4: trên 40 con/kg.

Xử lý mẫu trước khi tiến hành phân tích giải phẫu

Mẫu ngao được rửa đông sau đó rửa kỹ bằng nước cất đã lọc để loại bỏ cặn và tạp chất bẩn ngoài vỏ trước khi tiến hành. Tiến hành xác định các số đo của ngao bằng thước đo điện tử có độ nhạy đến mm (chiều dài, chiều ngang, chiều dày), giới tính. Tiến hành đánh số thứ tự ngao để lựa chọn theo nhóm phân tích theo nhóm tuổi.

Ví dụ 3: Tách thành phần vi nhựa trong ngao

Tiến hành tách mô mềm của ngao

Xác định chia nhóm mẫu của các loại ngao theo nhóm 01 tuổi và 02 tuổi. Mỗi mẫu gồm 10 con ngao theo kích thước phân nhóm. Giải phẫu để cân khối lượng mô mềm bằng cân điện tử chuyên dụng (đơn vị tính gram). Tiến hành cắt nhỏ mô mềm của ngao thành từ 6 đến 8 phần và cho vào ống thủy tinh Onelab 100ml: 1ml Ex $20^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ml}$ để xác định thể tích của ngao làm cơ sở để tính toán thể tích hoá chất

Xử lý mẫu ngao trong dung dịch

Thể tích dung dịch KOH 10% theo tỷ lệ 3:1 ($V_{\text{KOH}} = 3 \cdot V_{\text{mẫu ngao}}$) để phân hủy mẫu ngao. Ngâm mẫu trong dung dịch 02 ngày để mẫu phân hủy hoàn toàn, cứ 24 tiếng lắc đều hỗn hợp một lần. Cho dung dịch vào tủ sấy đối lưu tự nhiên ED115 ở nhiệt độ 56°C , trong trường hợp 02 ngày mà mẫu ngao chưa tan hết, có thể để thêm 01 ngày (có sổ nhật ký từng mẫu cho vào tủ sấy).

Lọc vi nhựa trong dung dịch

Lọc mẫu qua rây có đường kính 53 μ m để rửa sạch KOH bằng nước cất 1 lần, thu phần cặn trên rây. Cho phần cặn vào ống thủy tinh WERTLAB của Đức, dùng 100ml hỗn hợp NaCl (1,2g/ml) và ZnCl₂ (1,8g/ml) (d xấp xỉ bằng 1,5g/cm³) để tuyển nổi các loại vi nhựa trong 24 giờ.

Lọc phần nước trong qua giấy lọc: trước khi lọc qua giấy lọc, giấy được cân trọng lượng, để trong tủ sấy khô.

Đặt giấy lọc vào trong máy bơm hút chân không Rocker 300, gạn dung dịch đã ngâm để tuyển nổi trong 24 giờ qua máy hút để đảm bảo hút khô dung dịch. Dùng nước cất, rửa sạch thành của cốc thủy tinh để đảm bảo không còn vi nhựa, cặn bám trên thành cốc. Chân không tối đa: 105mbar, tốc độ dòng chảy tối đa nằm trong khoảng từ 20 đến 23 lít/phút, tốc độ quay bằng 1750 vòng/phút, mã lực bằng 1/8 HP, độ ồn bằng 50dB, điện áp bằng 110V/60Hz và 220V/50Hz.

Phần cặn còn lại tiếp tục tuyển nổi lần 2 trong 24 giờ, và lọc phần nước trong qua giấy lọc. Sấy giấy lọc trong 24 giờ ở nhiệt độ 60°C.

Ví dụ 4: Phân tích vi nhựa

Xác định thành phần vật lý của vi nhựa

Đề giấy lọc dưới kính hiển vi kỹ thuật số với độ phóng đại 300 lần và cảm biến hình ảnh 5M pixel kết nối với máy tính để xác định hình dạng, màu sắc, kích thước của vi nhựa.

Xác định thành phần hóa học

Các vi nhựa sẽ được xác định thành phần hóa học và giải phổ thông qua phương pháp FTIR-ATR, sử dụng máy đo quang phổ FT/IR-6600 FT-IR loại A và có thêm hệ thống hỗ trợ ATR PRO ONE. Máy hoạt động ở bước sóng trong khoảng từ 497,544 đến 4003,5cm. Nguyên tắc đo của ATR dựa trên sự ghi nhận những thay đổi xảy ra khi chùm tia hồng ngoại phản xạ bên trong tiếp xúc với mẫu. Mẫu sẽ hấp thụ năng lượng tại các vùng hồng ngoại, do đó sóng phát ra sẽ suy giảm dần. Chùm tia được dẫn đến đầu dò trong máy quang phổ hồng ngoại. Đầu dò ghi lại chùm tia hồng ngoại suy giảm dưới dạng tín hiệu giao thoa, kết nối với phần mềm quản lý phổ Spectra Manager™ Suite sẽ xử lý để tạo ra phổ hồng ngoại. Sử dụng dữ liệu phổ chuẩn để so sánh với phổ đo được trong việc định danh các loại vi nhựa để cho ra kết quả. Đối với vi nhựa trong

sinh vật, dạng sợi sẽ không được xác định do phần diện tích bề mặt quá nhỏ, nằm ngoài khả năng đo của máy.

Ví dụ 5: Kết quả đạt phân tích xác định vi nhựa trong đối tượng nghiên cứu.

Kích thước cơ bản của các mẫu ngao được chọn

Tiến hành phân tích đo đếm các thông số cơ bản đối với mẫu ngao thu được từ quá trình phân tích với chiều dài ngao Quảng Ninh (QN1) là $(53,54 \pm 4,83)$ mm, QN2: $(61,04 \pm 2,99)$ mm trong khi tương ứng với ngao Nam Định (NĐ) là $(36,18 \pm 4,92)$ mm và $(40,72 \pm 2,67)$ mm. Các kích thước chiều ngang, bề dày và khối lượng mô mềm của ngao cũng được tương ứng theo tuổi ngao, trong đó ngao QN có kích thước cao hơn ngao NĐ. Tuy vậy, ngao NĐ lại có sự phát triển đồng đều hơn so ngao QN ($\pm 0,88$, $\pm 0,63$ so với $\pm 0,63$, $\pm 1,25$) như được thể hiện trong Bảng 1 dưới đây.

Bảng 1. Thông số đo đếm về mẫu ngao nghiên cứu

TT	Tuổi ngao	Chiều dài (mm)	Chiều ngang (mm)	Chiều dày (mm)	Khối lượng mô mềm (gam)
1	Quảng Ninh năm 1 (QN1)	$53,54 \pm 4,83$	$36,06 \pm 2,372$	$22,57 \pm 1,58$	$4,94 \pm 1,3$
2	Quảng Ninh năm 2 (QN2)	$61,04 \pm 2,99$	$41,14 \pm 2,144$	$25,67 \pm 1,22$	$7,74 \pm 1,25$
3	Nam Định năm 1 (NĐ1)	$36,18 \pm 4,92$	$29,44 \pm 3,96$	$18,95 \pm 3,02$	$2,23 \pm 0,88$
4	Nam Định năm 2 (NĐ2)	$40,72 \pm 2,67$	$33,24 \pm 1,99$	$21,84 \pm 1,57$	$2,66 \pm 0,63$

Phân tích vi nhựa trong mẫu ngao

Thông số về mẫu ngao và vi nhựa tìm thấy được thể hiện trong Bảng 2 dưới đây:

Bảng 2. Thông số giải phẫu về mẫu ngao và vi nhựa tìm thấy

TT	Tuổi Ngao	Khối lượng của ngao (g)	Khối lượng mô mềm ngao (g)	Số lượng vi nhựa tìm thấy (cái)
1	Quảng Ninh năm 1 (QN1)	$176,11 \pm 17,716$	$49,67 \pm 4,822$	$4,56 \pm 2,92$

2	Quảng Ninh năm 2 (QN2)	246,44±24,321	77,67±5,852	6,67±2,96
3	Nam Định năm 1 (ND1)	121,64±14,99	20,45±2,02	2,45±1,44
4	Nam Định năm 2 (ND2)	169,20±13,82	28,50±1,90	5,40±4,09

Qua phân tích kết quả mẫu ngao thu được tại Bảng 2 cho thấy, khối lượng (g) ngao trung bình tại Quảng Ninh phát triển về khối lượng tổng thể (vỏ và mô mềm) hơn so với khối lượng mô mềm đối với Nam Định. Cụ thể QN1 là (176,11±17,716) so với ND1: (121,64±14,99); QN2: (246,44±24,321) so với ND2: (121,64±14,99). Đi sâu vào phân tích cho thấy: khối lượng mô mềm cũng có mức độ khác nhau theo như khối lượng mô mềm và cũng cùng với sự phát triển không đồng đều giữa cùng cấp tuổi và vị trí. Tuy vậy, sự đồng đều trong phát triển của ngao trong cùng địa điểm của cùng một cấp tuổi thì thấy ngao Nam Định năm 2 là đồng đều nhất khi khối lượng tổng thể và khối lượng mô mềm nhỏ nhất ($\pm 13,82$) và ($\pm 1,9$).

Số lượng vi nhựa đã được tìm thấy hầu hết tại các mẫu ngao phân tích trong quá trình nghiên cứu tại Bảng 2. Số lượng vi nhựa tăng theo số năm của tuổi ngao tương ứng. Qua phân tích cho thấy, số lượng vi nhựa có khác biệt giữa các mẫu ngao, cụ thể ND2 cho thấy sự không đồng đều lớn nhất ($\pm 4,09$). Tuy vậy, cùng địa điểm, nhưng ngao ND1 lại có sự đồng nhất cao nhất khi sự khác biệt vi nhựa giữa các mẫu ngao nhỏ nhất ($\pm 1,44$)

Tỷ lệ vi nhựa so với khối lượng mẫu ngao

Tỷ lệ vi nhựa so với khối lượng mẫu ngao được thể hiện trong Bảng 3 dưới đây:

Bảng 3. Tỷ lệ vi nhựa so với mẫu ngao phân tích

TT	Tuổi ngao	Mật độ vi nhựa/con	Vi nhựa/khối lượng tổng thể (g)	Vi nhựa/khối lượng mô mềm (g)
1	Quảng Ninh năm 1 (QN1)	0,33±0,5	0,88±0,429	0,28±0,13
2	Quảng Ninh năm 2 (QN2)	0,67±2,98	0,92±0,59	0,25±0,16

3	Nam Định năm 1 (NĐ1)	$0,25 \pm 0,16$	$0,11 \pm 0,07$	$0,02 \pm 0,12$
4	Nam Định năm 2 (NĐ2)	$0,54 \pm 0,40$	$0,21 \pm 0,13$	$0,04 \pm 0,02$

Trong phân tích tỷ lệ vi nhựa với mật độ, khối lượng tổng thể và khối lượng mô mềm của mẫu ngao cho thấy tỷ lệ vi nhựa trong ngao tại Quảng Ninh cao hơn so với Nam Định tương ứng theo năm (mật độ vi nhựa/con). Đối với tỷ lệ vi nhựa/khối lượng tổng thể (g) thì ngao Quảng Ninh cho số lượng nhiều hơn. Ngao Quảng Ninh và Nam Định tương ứng các năm (QN1: $0,88 \pm 0,429$; QN2: $0,92 \pm 0,59$; NĐ1: $0,11 \pm 0,07$; NĐ2: $0,21 \pm 0,13$). Tuy vậy, mức độ phát hiện lại cho thấy điều ngược lại, đó là khả năng đồng nhất trong tỷ lệ vi nhựa/khối lượng tổng thể thì ngao Quảng Ninh thấp hơn so với ngao Nam Định. Đặc biệt, đối với tỷ lệ vi nhựa/khối lượng mô mềm (g) cho thấy ngao Quảng Ninh cao hơn rất nhiều so với ngao Nam Định (QN1: $0,28 \pm 0,13$; QN2: $0,25 \pm 0,16$; NĐ1: $0,02 \pm 0,12$; NĐ2: $0,04 \pm 0,02$).

Hình dạng vi nhựa trong phân tích

Hình dạng vi nhựa trong phân tích được thể hiện trong Bảng 4 dưới đây:

Bảng 4. Dạng vi nhựa tìm thấy trong phân tích

TT	Tuổi ngao	Dạng sợi	Dạng mảnh
1	Quảng Ninh năm 1 (QN1)	$2,56 \pm 2,24$	$1,89 \pm 1,05$
2	Quảng Ninh năm 2 (QN2)	$3,44 \pm 2,24$	$4,00 \pm 3,22$
3	Nam Định năm 1 (NĐ1)	$2,10 \pm 1,29$	$1,00 \pm 0,00$
4	Nam Định năm 2 (NĐ2)	$4,70 \pm 4,32$	$1,17 \pm 0,41$

Dưới kính hiển vi xác định vi nhựa có 3 loại sợi, mảnh và hạt. Tuy vậy chủ yếu tập trung ở dạng sợi và mảnh. Trong đó, đối với số lượng vi nhựa dạng sợi, tại Nam Định, ngao năm 2 được tìm thấy NĐ2 là ($4,70 \pm 4,32$), nhưng vẫn là ít, NĐ1 ($2,10 \pm 1,29$). Ngược lại đối với vi nhựa dạng mảnh, tại Quảng Ninh đều có số lượng

lớn hơn theo năm QN1: $(1,89 \pm 1,05)$; QN2: $(4,00 \pm 3,22)$ so với địa điểm tại Nam Định. Số lượng vi nhựa loại hạt chỉ có 2 mẫu được tìm thấy tại Quảng Ninh tại mỗi năm tuổi.

Kết quả phân tích vi nhựa dưới dạng kính hiển vi

Sau khi phân tách bỏ các vi nhựa ra mô mềm từ ngao, kết quả thu được 66 mẫu với 3 dạng đó là hạt, mảnh và sợi. Trong đó số lượng dạng sợi chiếm đa số với 37 vi nhựa (chiếm 56%), trong khi dạng hạt với số lượng không đáng kể chỉ có tìm thấy 2 vi nhựa (chiếm 3%).

Tiến hành phân tích nhìn trên kính hiển vi, xác định các màu sắc đối với vi nhựa cụ thể bao gồm các dạng như sau: hạt sợi đen, dạng mảnh trắng đục, dạng sợi đỏ.

Phân tích thành phần vi nhựa qua máy quang phổ

Qua phân tích vi nhựa cho thấy chủ yếu tập trung vào 6 màu phổ biến đó là trắng trong, trắng đục, xanh dương, xanh đen, đỏ và đen. Trong đó số lượng vi nhựa tập trung chủ yếu và lớn nhất là màu đen với tổng cộng 37 vi nhựa, ngược lại nhỏ nhất là vi nhựa màu xanh dương chỉ xác định được 1 vi nhựa.

Kết quả phân tích phổ một số nhựa được tìm thấy trong ngao ở Quảng Ninh và Nam Định được minh họa trên Hình 1 và Hình 2, trong đó trục hoành biểu thị bước sóng (wavenumber (cm^{-1})) và trục tung biểu thị cường độ hấp thụ qua độ truyền ngang (%T). Như được thể hiện trên Hình 1, kết quả phân tích phổ xác định thành phần EVA trong ngao Quảng Ninh được thể hiện trong đó biểu đồ 1 tương ứng với vi nhựa dạng sợi đỏ và biểu đồ 2 tương ứng với vi nhựa dạng mảnh xanh. Như được thể hiện trên Hình 2, kết quả phân tích phổ xác định thành phần nylon trong ngao Nam Định được thể hiện trong đó biểu đồ 1 tương ứng với vi nhựa dạng mảnh trong suốt thứ nhất và biểu đồ 2 tương ứng với vi nhựa dạng mảnh trong suốt thứ hai. Qua phân tích phổ các mẫu vi nhựa tìm thấy có xuất hiện 4 thành phần chính là PE, PET, Nylon và EVA. Trong đó thành phần EVA chiếm số lượng là chủ yếu với tổng cộng 14 vi nhựa, trong khi PET trong vi nhựa là 2. Số lượng vi nhựa trong PE và PP bằng nhau và chỉ tìm thấy có 1 trong các mẫu ngao tại 2 tỉnh Quảng Ninh và Nam Định.

Xác định kích thước vi nhựa tại các mẫu ngao được thu mẫu tại 2 tỉnh Quảng Ninh và Nam Định cho thấy ngao năm thứ nhất có kích thước vi nhựa cao hơn năm

thứ 2 tại cả hai điểm lấy mẫu như QN1 ($2,04 \pm 2,51$) và ND1 ($1,49 \pm 0,78$). Kích thước vi nhựa trong mẫu ngao được thể hiện trong Bảng 5 dưới đây:

Bảng 5. Kích thước vi nhựa trong mẫu ngao

TT	Tuổi ngao	Kích thước vi nhựa
1	Quảng Ninh năm 1	$2,04 \pm 2,51$
2	Quảng Ninh năm 2	$1,50 \pm 1,80$
3	Nam Định năm 1	$1,49 \pm 0,78$
4	Nam Định năm 2	$1,61 \pm 1,05$

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Quy trình xác định vi nhựa trên ngao sẽ đóng vai trò quan trọng trong ngành sản xuất nuôi trồng thủy sản. Đặc biệt, trong thời gian tới sản phẩm ngao sẽ xuất khẩu sang các nước Mỹ và liên minh Châu Âu. Tuy vậy, để đạt được tiêu chuẩn xuất khẩu ngao, cần phải đảm bảo yêu cầu chất lượng thực phẩm. Như vậy, quy trình theo giải pháp hữu ích sẽ là giải pháp nhanh trong việc xác định vi nhựa đối với từng vùng nuôi, từ đó đề ra các giải pháp phát triển vùng ngao phù hợp.

Hơn nữa, quy trình phân tích theo giải pháp hữu ích có thể được ứng dụng giảng dạy trong các trường đại học có chuyên ngành phù hợp, các viện nghiên cứu. Quy trình phân tích vi nhựa trong ngao được đề xuất theo giải pháp hữu ích là một quy trình hết sức cần thiết trong giai đoạn hiện nay khi mà cả thế giới và Việt Nam đang nỗ lực để phân tích vi nhựa trong các loài thủy hải sản.

Ngoài ra, quy trình theo giải pháp hữu ích còn giúp định hướng trong kiểm định chất lượng sản phẩm ngao để giảm thiểu ảnh hưởng đến sức khỏe con người khi có hàm lượng vi nhựa trong ngao.

Yêu cầu bảo hộ

1. Quy trình xác định thành phần vi nhựa trong ngao, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

bước lựa chọn mẫu ngao;

bước bảo quản mẫu trong đó mẫu được bảo quản ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -20°C đến -18°C ;

bước xử lý mẫu trước khi đưa mẫu vào thử nghiệm;

bước tách vi nhựa trong ngao trong đó bước này gồm các công đoạn:

công đoạn tách mô mềm của ngao;

công đoạn xử lý mẫu ngao trong dung dịch trong đó sử dụng dung dịch KOH 10% theo tỷ lệ 3:1 để phân hủy mẫu ngao;

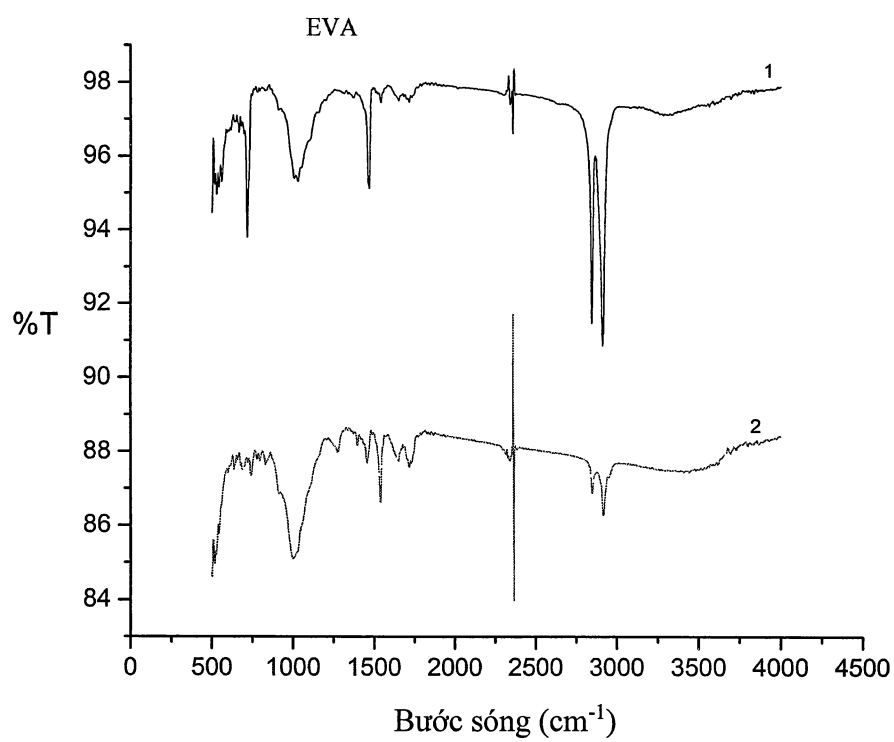
công đoạn lọc vi nhựa trong dung dịch trong đó hỗn hợp NaCl và ZnCl_2 theo tỷ lệ 1:4 theo khối lượng rắn (NaCl (1,2g/ml) và ZnCl_2 (1,8g/ml)) được sử dụng để tuyển nổi các loại vi nhựa, bước tuyển nổi được thực hiện gồm việc đưa mẫu qua rây có đường kính $53\mu\text{m}$ để rửa sạch KOH bằng nước cất một lần, phần cặn thu được trên rây có kích thước lớn hơn $53\mu\text{m}$ được cho vào ống thủy tinh và đưa hỗn hợp NaCl và ZnCl_2 vào, sau đó khuấy đều và ngâm, dung dịch đã ngâm được gạn qua giấy lọc đặt trong máy bơm hút chân không để gạn dung dịch để thu được vi nhựa;

bước phân tích vi nhựa bao gồm các công đoạn:

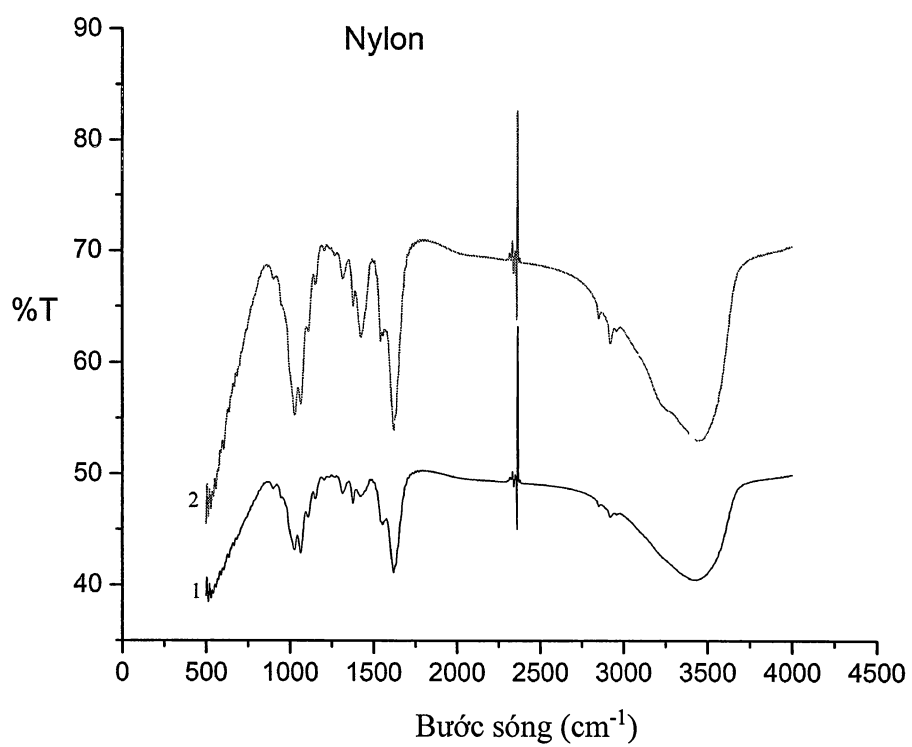
công đoạn xác định thành phần vật lý của vi nhựa sử dụng kính soi nổi để xác định chiều dài, hình dạng, màu sắc, kích thước của vi nhựa;

công đoạn xác định thành phần hóa học của vi nhựa sử dụng máy quang phổ hồng ngoại phản xạ dựa trên việc so sánh phổ đo được với phổ chuẩn trong việc định danh các loại vi nhựa; và

bước tổng hợp số liệu phân tích để xác định thành phần vi nhựa trong ngao.



Hình 1



Hình 2