

TÁC ĐỘNG DƯỚI NGƯỠNG TỬ VONG CỦA ARSENIC VÀ KẼM LÊN SINH VẬT BIỂN

Lê Lan Hương, Võ Hải Thi, Lê Hoài Hương,
Lê Trần Dũng
Viện Hải dương học, Nha Trang

Tóm tắt Trong giai đoạn 1997-2003 đã tiến hành khoảng 100 lô thí nghiệm nhằm đánh giá độc tính của arsen và kẽm lên các loài sinh vật biển, ở những giai đoạn phát triển khác nhau và có phản ứng khác nhau với 2 loại kim loại nặng độc hại này.

Chỉ số đánh giá mức tác động tối thiểu cho thấy tảo *Chaetoceros mulleri*, tăng trưởng của cá chẽm và giai đoạn thụ tinh của trứng cầu gai nhạy cảm với kẽm hơn là với arsen, theo các giá trị lần lượt là 1,8; 3,2; và 0,18 mg Zn/lít so với 3,2; 5,6; và 3,125 mgAs/lít. Chỉ số EC50 của arsen ở giai đoạn trứng cầu gai thụ tinh đạt tới 62,11 mgAs/lít, nhưng EC50 của kẽm lại chỉ có 0,49 mg Zn/lít. Ở cá Chẽm thì ngược lại, EC50 là 5,73mgAs/lít và 10,57mg Zn/lít. Nồng độ gây ức chế (IC) sinh khối tảo và tăng trưởng của cá không có khác biệt đáng kể giữa 2 kim loại này, nhưng lại cho kết quả IC khác biệt rõ rệt về độ độc với sự tăng trưởng của tôm Sú và tôm Rằn. Chỉ số LC50 của kẽm cao nhất đối với hàu, artemia và cá Chẽm - >10mg Zn/lít, thấp nhất đối với tôm Rằn giai đoạn mysis - 0,42mg Zn/lít, cũng có nghĩa là hàu, artemia và cá Chẽm ít nhạy cảm với độ độc của kẽm. Đối với arsen, hàu, tôm Sú, mysis tôm Rằn và cá Chẽm có giá trị LC50 xấp xỉ nhau, dao động trong khoảng 3,33 đến 5,89mgAs/lít, artemia là loài ít nhạy cảm nhất với Arsen - LC50 đạt 11,49mgAs/lít.

SUBLETHAL EFFECTS OF ARSENIC AND ZINC ON MARINE ORGANISMS

Le Lan Huong, Vo Hai Thi, Le Hoai Huong,
Le Tran Dung
*Institute of Oceanography, 01 Cauda, Vinh Nguyen,
Nhatrang City, Vietnam*

Abstract Approximately 100 experiments were conducted in the period of 1997-2003 to assess the toxicity of arsenic and zinc on different marine organisms. Toxicity effect of these heavy metals indicated their dependence on different test organisms as well life stages. Lowest-Observed-Effect-Concentration (LOEC) endpoint obtained from the tests on *Chaetoceros mulleri*, seabass larval development and fertilization of sea urchin egg indicated that these tested organisms are

more sensitive to zinc than arsenic, according to calculated values as follows: 1.8; 3.2; and 0.18 mg Zn/L compared to 3.2; 5.6; and 3.125 mgAs/L, respectively. EC50 of arsenic on the fertilization of sea urchin egg reached 62.11 mgAs/L, while EC50 of zinc was only 0.49 mg Zn/L. In contrary, EC50 on the stage of seabass larval development was as 5.73mgAs/L and 10.57mg Zn/L. Inhibition concentration (IC) values of both metals on algae and seabass larva were of no significant difference, but showed clear different toxicity between these 2 metals on tiger and green prawn at larval development stage. Lethal effect of zinc - LC50 - was highest for oyster, artemia and seabass larva, and was higher than 10mg Zn/L. The lowest LC50 value was obtained for the mysis stage of green prawn, meaningly oyster, artemia and seabass were less sensitive to zinc toxicity. LC50 of arsenic in oyster, tiger prawn, mysis stage of green prawn and seabass larva was almost the same, fluctuated from 3.33 to 5.89mgAs/L, *Artemia* was less sensitive to arsenic, the LC 50 of which was 11.49mgAs/L.

I. MỞ ĐẦU

Nguyên tố kẽm phân bố rộng khắp trong môi trường: trong đá, khoáng chất...Kẽm giải phóng trong tự nhiên - trong nước thông qua quá trình ăn mòn, trong không khí chủ yếu do nhiệt và cháy rừng. Kẽm là một nguyên tố dinh dưỡng vi lượng quan trọng trong hệ sinh thái biển - một thành phần trong những hệ enzym ở trong cơ thể các sinh vật thủy sinh và trên cạn. Giá trị tự nhiên của kẽm trong nước ngọt <0,1 - 50µg/l, trong nước biển 0,002 - 0,1 µg/l; trong đất : 10 - 300mg/kg trọng lượng khô, trong trầm tích - lên tới 100mg/kg trọng lượng khô và đạt tới 300 ng/m³ không khí. Kẽm sẽ gây hiệu ứng độc nếu tồn tại ở mật độ cao trong môi trường nước. Sự ô nhiễm kẽm trong nước biển chủ yếu cũng do các nguồn nước thải từ đất liền đổ ra, được hấp thụ và tích lũy vào các cá thể sinh vật. Độc tính của kẽm phụ thuộc vào độ pH, nhiệt độ và độ cứng của nước, ở pH 7,0 thì 50% ion kẽm tự do có thể hòa tan trong nước biển. Ở liều lượng quá tiêu chuẩn cho phép về kẽm sẽ làm cho cơ thể bị rối loạn tiêu hóa và một số ảnh hưởng phụ khác liên quan tới sức khỏe (IPCS, 2002). Theo Tiêu chuẩn chất lượng nước của Mỹ hàm lượng kẽm trong nước biển gây độc cấp tính cho sinh vật là 95µg/l và gây độc mãn tính ở mức 86µg/l (US EPA, 1993).

Trong môi trường tự nhiên arsen là một nguyên tố của vỏ trái đất. Arsen kết hợp với các nguyên tố khác như oxy, chlorin và sunfua tạo hợp chất arsen vô cơ. Những khu vực có nguy cơ tiếp xúc với arsen ở nồng độ cao hơn mức trung bình thường là nơi làm việc gần với khu vực rác thải độc hại, hoặc vùng đất, đá và nước có sẵn hàm lượng arsen cao. Việc tiếp xúc với arsen tại nơi làm việc làm con người bị nhiễm arsen thông qua việc hít thở, ăn uống, qua da và mắt. Khi bị tiếp xúc lâu dài với arsen nồng độ cao sẽ gây tử vong. Tiếp xúc với

arsen ở nồng độ thấp nhưng trong thời gian dài có thể làm mất màu của da và gây ra mảng da chai hoặc mụn cóc. Những tác động mãn tính thường là chứng viêm da, co cứng mạch máu, giảm khả năng linh hoạt, gây ung thư phổi. Khi bị ngộ độc cấp tính làm tổn hại phổi và tử vong. Những ngành công nghiệp sử dụng nguyên tố arsen và các hợp chất của chúng, bao gồm ngành bảo quản gỗ, sản xuất đồ thủy tinh, pha lê, nhà máy sản xuất hợp kim không chứa sắt và các loại hàng điện tử bán dẫn. Nguyên tố arsen có thể thấy ở lò luyện kim (www.osha.org).

Bài báo này trình bày một số kết quả nghiên cứu độc tính dưới mức tử vong (sublethal effect) của kẽm và arsen thử nghiệm trên một số loại sinh vật biển, được thực hiện từ 1997-2003.

II. MẪU VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Mẫu sinh vật kiểm định (SVKD)

Lựa chọn SVKD theo nguyên tắc chính là có các loài đại diện cho thực vật (tảo), động vật không xương sống và cá, có nguồn cung cấp ổn định (ACCPMS-II, 1995)...Các loài sinh vật biển được lựa chọn gồm: - Tảo đơn bào - *Chaetoceros mullerii* và tôm Rắn - *P. semicultatus* do phòng Công nghệ nuôi trồng (Viện Hải dương học) cung cấp.; - Cầu gai đen - *Diadema setosum* thu trong vịnh Nha Trang; - Hàu - *Crassostrea* sp. thu tại khu nuôi thử nghiệm của Viện HDH (Nha Phu); - *Artemia* có nguồn gốc từ 'Aquatic Lifeline Inc. U.S. by importing'; - tôm Sú - *Penaeus monodon* do trạm thực nghiệm Cửa Bé, trường Đại học Nha Trang cung cấp; và - cá Chêm - *Lates calcarifer* do Công ty sản xuất giống Lig-Cần Giờ cung cấp.

2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp kiểm định độc tố được áp dụng theo quy phạm bố trí thí nghiệm kiểm định độc tố cấp tính với cá và động vật không xương sống nhiệt đới (CPMS-II, 1993); quy phạm bố trí thí nghiệm kiểm định độc tố tác động lên sinh vật biển dưới mức tử vong (CPMS-II, 1995); và các phương pháp chuẩn ASTM (1997).

Thí nghiệm kiểm định độc tố được thực hiện trên:

- Sự phát triển tảo đơn bào: mật độ ban đầu là $1,0 \times 10^4$ tế bào/ml, thực hiện trong 96 h (Bảng 1), cố định bằng formon 10% và đếm mật độ tảo bằng buồng đếm hồng cầu;

- Ảnh hưởng quá trình thụ tinh: đưa trứng và tinh trùng vào dung dịch kiểm định, cố định bằng formon sau 1h. Đếm tỷ lệ trứng thụ tinh/không thụ tinh bằng buồng đếm Sedgewick-Rafter;
- Sự phát triển của tôm và cá: thực hiện 2 dạng kiểm định – tính toán độ độc cấp tính (LC50) từ các lô kiểm định 96 h. Tính toán các giá trị EC, IC và LOEC từ các lô kiểm định 7 ngày, tính trên tốc độ phát triển của sinh vật kiểm định (Lê Lan Huong, 2004).

Dung dịch kiểm định là muối arsenic (As_2O_3) (Le Lan Huong, 2000) và muối $ZnCl_2$ (Lê Lan Huong, 2004) để pha dung dịch gốc đạt 1.000 mg/l. Dãy nồng độ dùng cho lô kiểm định trên dao động từ 0,1 đến 100 mg/l, tùy thuộc vào lô *tìm khoảng nồng độ thí nghiệm (rang-finder test)* đối với mỗi loài sinh vật kiểm định.

Các dạng kiểm định, các giai đoạn sinh trưởng của sinh vật được kiểm định và thời lượng được trình bày trong bảng 1.

3. Xử lý số liệu

Để đánh giá độc tính của chất kiểm định và tính toán các chỉ số LC50, EC, ICp, NOEC chúng tôi đã sử dụng phần mềm chuyên dụng như TOXCALC (Tidepool Scientific, 1995); EFFL, TOXSTAT (Gulley và *cs.* 1990) và ICPIN (Norberg-King, 1993).

Bảng 1. Các dạng kiểm định với các giai đoạn sinh trưởng khác nhau theo loài

Sinh vật kiểm định	Dạng kiểm định	Giai đoạn sinh trưởng	Thời lượng tiếp xúc
Tảo đơn bào	Mẫn tính	Sinh trưởng	96 h
Cầu Gai Đen	Mẫn tính	Thụ tinh	1 h
Hai mảnh vỏ	Cấp tính	2-3cm	96 h
Artemia	Cấp tính	Nauplii	48h
Tôm Sú	Cấp tính, mẫn tính	PL15-43, 1-2cm	96 h, 7 ngày
Tôm Rắn	Cấp tính, mẫn tính	PL15-43	7 ngày
Cá Chêm	Cấp tính, mẫn tính	12 - 35 ngày tuổi	96 h, 7 ngày

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Giá trị LOEC (*Lowest Observed Effect Concentration- Nồng độ ảnh hưởng tối thiểu*) tính toán được (Bảng 2) của Zn thấp nhất ở giai đoạn thụ tinh của cầu gai – 0,18mg/l, cao nhất ở cá Chêm – 3,2mg/l; và của As(III) thấp nhất ở tôm Rằn – 1,0mg/l và cao nhất ở cá Chêm – 5,6mg/l. Tảo, cá Chêm và đặc biệt là giai đoạn thụ tinh của trứng cầu gai nhạy cảm với kẽm hơn là với arsen. Điều này cũng cho thấy phản ứng của mỗi sinh vật với độ độc của kim loại khác nhau, tùy theo đặc điểm sinh học của chúng.

Bảng 2. Giá trị LOEC của các sinh vật kiểm định với Zn và As(III)

Sinh vật kiểm định	Tảo	Cầu gai	Tôm Sú	Tôm Rằn	Cá Chêm
Thời lượng tiếp xúc	96 h	1 h	7 ngày		
LOEC của Zn (mg/lít)	1,8	0,18	1,8	1,0	3,2
LOEC của As(III) (mg/lít)	3,2	3,125	1,8	1,0	5,6

Bảng 3 tập hợp kết quả tính giá trị EC50 (*Effective Concentration – nồng độ gây hiệu ứng 50%*) của Zn và As(III) đối với các giai đoạn sinh trưởng của các sinh vật kiểm định. Đối với quá trình thụ tinh của trứng cầu gai, độc tính của As(III) dường như không thể hiện rõ, chỉ có thể ức chế thụ tinh 50% lượng trứng kiểm định ở nồng độ 62,11 mgAs/l, trong khi đó chúng lại rất nhạy cảm với độc tính của Zn, cho giá trị EC50 là 0,49mgZn/l. Ngược lại, cá Chêm lại bị As(III) ức chế sự phát triển mạnh hơn với các giá trị EC50 lần lượt là 5,73 mgAs/l và 10,57 mgZn/l. Sự phát triển của tôm Sú bị ức chế bởi As(III) ít hơn bởi Zn, tôm Sú cũng có xu thế tương tự cầu gai – nhạy cảm với độc tính của Zn nhiều hơn của As(III), đồng thời nhạy cảm độc tính Zn và As(III) hơn cá.

Kết quả xác định chỉ số ICp (*Inhibiting Concentration percentage – nồng độ ức chế tính theo phần trăm - %*) cho thấy sự ức chế sinh khối tảo và tăng trưởng của cá Chêm không có khác biệt đáng kể giữa 2 kim loại này. Ở tảo, giá trị IC25 của Zn và As(III) lần lượt là 4,05 và 3,42mg/l, còn IC50 là 7,05 và 7,35 mg/l. Tuy nhiên, với sự thụ tinh của trứng cầu gai, tăng trưởng của tôm Sú

và tôm Rắn lại cho kết quả IC khác biệt rõ rệt về độ độc giữa 2 kim loại này (Bảng 4). Đáng chú ý nhất là trong khi IC25 và IC50 ở cầu gai là 0,21 và 0,28 mgZn/l thì với As(III) lên tới 16,13 và 49,27mgAs/l.

Bảng 3. Kết quả tính giá trị EC50 của các sinh vật kiểm định với Zn và As(III)

Sinh vật kiểm định	Cầu gai	Ấu trùng tôm Sú (7 ngày)	Cá Chêm (7 ngày)
Zn (mg/lít)	0,49	2,46	10,57
As(III)(mg/lít)	62,11	4,48	5,73

Bảng 4. Giá trị IC25 và IC50 của các sinh vật kiểm định với Zn và As(III)

Chất kiểm định	Chỉ số	Tảo	Cầu gai	Tôm Sú	Tôm Rắn	Cá Chêm
		(7 ngày)				
Zn (mg/lít)	IC25%	4,05	0,21	0,53	0,33	4,80
	IC50%	7,05	0,28	1,03	0,62	6,77
As(III) (mg/lít)	IC25%	3,42	16,13	4,04	4,14	5,22
	IC50%	7,35	49,27	6,97	9,49	6,90

Bảng 5. Kết quả tính giá trị LC50 của các sinh vật kiểm định với Zn và As(III)

Chất kiểm định	Hàu (96 h)	Vẹm (96 h)	Tôm Sú (96h)	Cá Chêm (96h)	Mysis tôm Rắn (72h)	Artemia (48h)
Zinc	13,41	3,97	3,97	12,3	0,42	12,3
Arsenic	3,33	-	5,89	4,5	4,18	11,49

Giá trị LC50 (*Lethal Concentration - Nồng độ gây tử vong 50%*) thu được cho thấy giá trị LC50 (Bảng 5) của Zn cao nhất ở hàu và *Artemia*, 13,41 và 12,3 mgZn/l. Trong khi đó với As(III) giá trị LC50 cao nhất ở artemia – 11,49mgAs/l. Có thể thấy artemia có khả năng chịu đựng cao độ độc của 2 kim loại này. Giá trị LC50 thấp nhất của Zn được xác định ở mysis tôm Rắn – 0,42mg/l và của As(III) là ở Hàu – 3,33mg/l. Hàu và cá chêm kém nhạy cảm với Zn, nhưng lại nhạy cảm với As(III) rõ rệt nhất so với các loài sinh vật đã được kiểm định.

IV. KẾT LUẬN

Hiệu ứng sinh học (Bioavailability) của kẽm và arsen đối với các loài sinh vật biển khác nhau, ở những giai đoạn phát triển khác nhau có phản ứng khác nhau. Đối với arsen, hàu, tôm Sú, mysis tôm Rằn và cá Chẽm có giá trị LC50 xấp xỉ nhau, dao động trong khoảng 3,33 đến 5,89mgAs/lít, artemia là loài ít nhạy cảm nhất với arsen. Giá trị LC50 của kẽm cho thấy mysis tôm Rằn nhạy cảm nhất với Zn so với các sinh vật còn lại, hàu, *Artemia* và cá Chẽm cho giá trị LC50 tương tự nhau và đều ít nhạy cảm, LC50 của Zn ở vẹm và tôm Sú có giá trị như nhau.

Độ độc (Toxicity) của kẽm cao hơn arsen đối với hầu hết các loài sinh vật được kiểm định: tảo đơn bào (IC25, 50% 96h), cầu gai đen (EC50-1h), tôm Sú, và tôm Rằn (EC, LC50 – 96h). Ngược lại, đối với hàu (LC50-96h), cá Chẽm (EC50-7d) độ độc của arsen thể hiện mạnh hơn kẽm, cũng có nghĩa là hàu, *Artemia* và cá Chẽm ít nhạy cảm với độ độc của kẽm.

LỜI CẢM ƠN

Các tác giả xin chân thành cảm ơn: Quỹ CIDA và đề tài cấp Nhà nước KC.09-07, đã hỗ trợ kinh phí và tạo điều kiện thuận lợi để nghiên cứu này được thực hiện. Chúng tôi cũng không quên cảm ơn Phòng Công nghệ nuôi trồng (Viện Hải dương học), Khoa Thủy sản (trường Đại học Nha Trang) và Công ty sản xuất giống Lig-Cần Giờ đã cung cấp vật mẫu sinh vật cần cho kiểm định.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Annual book of ASTM Standards, Section 11, 1997. Volume 11.05: Biological Effects and Environmental Fate; Biotechnology; Pesticides. ASTM 100 Barr Harbor Drive, West Conshohocken, PA 19428. p. 538-549; 767-787; 961-979.
- ACCPMS-II (ASEAN Canada Cooperative Program on Marine Science phase II), 1993. A generic protocol for conducting tropical acute toxicity tests with fish and invertebrates
- ACCPMS-II, 1995. Draft protocol for sublethal toxicity tests using tropical marine organisms. Workbook.
- IPCS, 2002. Environmental Health Criteria, No. 220, Zinc (tháng 6/2002).
- Le Lan Hương, 2000. Application of toxicity testing technique: determination of LC50 of Arsenic on some marine organisms. Collection of Marine Research works, Vol. X: 217-220.

Le Lan Huong *et al.*, 187-194

Proceedings of National Conference 'Bien Dong – 2007', Sept. 12-14, 2007, Nhatrang

Lê Lan Hương, 2004. Xác định giới hạn sinh thái cho một số sinh vật đại diện đối với một số chất ô nhiễm phổ biến trong điều kiện môi trường sinh thái biển Việt Nam. Báo cáo tổng kết đề tài nhánh thuộc đề tài cấp nhà nước KC.09-07 (2001-2004).

U.S Environmental Protection Agency, 1993. Water quality criteria 1993. p. 235.

www.osha.gov