Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Khoa học Tự nhiên; ISSN 1859–1388

Tập 126, Số 1A, 2017, Tr. 31–40; http://dx.doi.org/10.26459/hueuni-jns.v126i1A.3982

TÍCH LŨY SINH HỌC ĐỒNG VÀ CHÌ TRONG THỊT NGHÊU (*Meretrix lyrata*): NGHIÊN CỨU TRƯỜNG HỢP ĐỐI VỚI NGHÊU LẤY TỪ VÙNG NUÔI Ở CỬA SÔNG TIỀN, TỈNH TIỀN GIANG

Hoàng Thị Quỳnh Diệu *, Nguyễn Văn Hợp, Nguyễn Hải Phong

Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

Tóm tắt: Nghêu *Meretrix lyrata* được cho phơi nhiễm với các mức khác nhau của đồng (Cu) và chì (Pb) trong nước trong 28 ngày. Để kiểm tra mức tích lũy sinh học Cu và Pb trong thịt nghêu, các mức (hàm lượng) kim loại trong nước bể thí nghiệm (chứa nghêu và nước được lấy từ vùng nuôi nghêu ở cửa sông Tiền, tỉnh Tiền Giang) được chuẩn bị như sau: Mức đối chứng: 2,1 ± 0,4 ppb Cu và < 0,2 – 0,5 ppb Pb), Mức M1: 30 ppb Cu và 50 ppb Pb, ký hiệu là M1–30–50; tương ứng các mức sau là M2–60–150; M3–100–300 và M4–200–600. Ở điều kiện thí nghiệm, đã tìm được tương quan tuyến tính chặt giữa hàm lượng kim loại (Cu, Pb) tích lũy trong thịt nghêu (*y*, ppb khối lượng tươi) và thời gian phơi nhiễm (*x*, ngày) với R = 0,97–0,99 (p < 0,05); giữa hàm lượng kim loại tích lũy trong thịt nghêu (*y*, ppb) và mức kim loại trong nước bể thí nghiệm (*x*, ppb) với R = 0,88–0,90; 0,95–0,99; 0,75–0,87 và 0,99 (tương ứng với sau 7, 14, 21 và 28 ngày phơi nhiễm). Tuy vậy, ở mức ô nhiễm cao của kim loại trong nước bể thí nghiệm (mức M4), từ ngày 14 nghêu bắt đầu đào thải kim loại nhiều hơn là tích lũy; sau 21 ngày phơi nhiễm, nghêu bắt đầu bị chết. Giữa tốc độ tích lũy kim loại (RMA) trong thịt nghêu (ppb/ngày) và mức kim loại trong nước bể thí nghiệm (ppb) trong 21–28 ngày phơi nhiễm cũng có tương quan tuyến tính chặt với R > 0,99 (p < 0,01). Ở điều kiện thí nghiệm, mức tích lũy kim loại cực đại trong thịt nghêu khoảng 1.500 ppb Cu và 25.000 ppb Pb hay Pb có khả năng tích lũy cao hơn 17 lần so với Cu. Các kết quả thu được cho thấy có thể sử dụng nghêu *Meretrix lyrata* làm chỉ thị sinh học cho sự ô nhiễm Cu và Pb trong môi trường nước vùng cửa sông Tiền.

Từ khóa: *Mertrix lyrata*, Cu và Pb, cửa sông Tiền

1 Mở đầu

Các loài nhuyễn thể nói chung và động vật thân mềm hai mảnh vỏ (ĐVHMV) nói riêng là một trong những nguồn thực phẩm được ưa thích và tiêu thụ với khối lượng lớn ở nước ta và trên thế giới. Tuy nhiên, do các kim loại độc có khả năng tích lũy sinh học trong chuỗi thức ăn, nên có thể tích lũy cao trong ĐVHMV và gây độc đối với người tiêu thụ. Các kim loại độc từ môi trường bao quanh (nước, trầm tích, sinh vật) đều có thể đi vào cơ thể ĐVHMV và do vậy, nhiều nghiên cứu cho rằng có thể sử dụng ĐVHMV làm chỉ thị sinh học cho sự ô nhiễm kim loại độc trong môi trường bao quanh (nước, trầm tích). Với lý do đó, sự tích lũy các kim loại độc trong ĐVHMV là một trong những vấn đề đã và đang được quan tâm nghiên cứu trong nhiều năm qua [21]. Trong số các kim loại độc gây lo lắng về môi trường, đồng (Cu) và chì (Pb) là hai

** Liên hệ: hoangqdieu@gmail.com*

Nhận bài: 28–12–2016; Hoàn thành phản biện: 26–01–2017; Ngày nhận đăng: 8–3–2017

kim loại thường bắt gặp nhiều trong các đối tượng môi trường, và do đó, cần được quan tâm nghiên cứu.

Ở hàm lượng rất thấp, Cu có thể là nguyên tố thiết yếu cho quá trình phát triển của sinh vật, nhưng khi hàm lượng tăng lên, nó có thể gây độc đối với người và sinh vật [8]. Phơi nhiễm Cu trong thời gian dài có thể dẫn đến suy giảm khả năng tiêu hóa, suy giảm tốc độ sinh trưởng và khả năng sinh sản của sinh vật [6]... Pb cũng là một kim loại độc, có khả năng tích lũy trong xương và gây độc đối với người và động vật, có thể làm giảm vai trò sinh học của các kim loại thiết yếu (Ca, Fe, Zn…) đối với thủy sinh [5].

Ở nước ta, nhiều loài ĐVHMV đang được nuôi với quy mô lớn ở nhiều vùng cửa sông, trong đó có vùng cửa sông Tiền thuộc xã Tân Thành, huyện Gò Công Đông, tỉnh Tiền Giang (gọi tắt là vùng cửa sông Tiền), nơi sông Tiền—một nhánh của sông Mê Kông đổ ra biển. Trong nhiều năm qua, vùng cửa sông đó là một trong những vùng nuôi nghêu (*Meretrix lyrata*, viết tắt là *M. lyrata*) trọng điểm ở miền Nam Việt Nam với năng suất trung bình khoảng 20.000 tấn/năm [12]. Chu kỳ nuôi nghêu *M. lyrata*—một loài ăn lọc sống ở đáy—khoảng 8 đến 10 tháng. Vùng nuôi nghêu này có chế độ bán nhật triều với mực nước dao động trong khoảng 2,9–3,4 m. Cho đến nay, chưa có nghiên cứu nào về sự tích lũy Cu và Pb trong thịt nghêu nuôi ở vùng cửa sông đó.

Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu về phơi nhiễm và tích lũy sinh học các kim loại độc trong các loài ĐVHMV nuôi trong môi trường nước ngọt và nước biển chứa các hàm lượng kim loại hòa tan khác nhau [19], [3], [7], [9]. Đa số các nghiên cứu đó được thực hiện theo hướng dẫn của Hội Kiểm nghiệm và Vật liệu Mỹ (ASTM/American Society for Testing and Materials)–nuôi ĐVHMV trong môi trường nước, khi kiểm tra về khả năng sử dụng ĐVHMV làm chỉ thị sinh học cho ô nhiễm kim loại trong môi trường nước bao quanh [1]. Một số nghiên cứu khác được thực hiện trong môi trường trầm tích–nước, mà trong đó, trầm tích được bão hòa trước bằng kim loại trước khi cho ĐVHMV phơi nhiễm với kim loại đó [17], [11].

Ở Việt Nam đã có một số nghiên cứu về sự tích lũy các kim loại độc trong loài *M. lyrata* như tích lũy As [14], Hg [15] trong môi trường nước chứa các mức kim loại khác nhau. Tuy nhiên, cho đến nay, chưa có nghiên cứu nào về phơi nhiễm và tích lũy Cu và Pb trong ĐVHMV nói chung và loài nghêu *M. lyrata* nói riêng. Nghiên cứu này sẽ đưa ra các kết quả khảo sát sự phơi nhiễm và tích lũy Cu và Pb trong thịt nghêu *M. lyrata*–bố trí thí nghiệm theo hướng dẫn của ASTM [1], nhằm tìm hiểu khả năng sử dụng loài nghêu đó làm chỉ thị sinh học cho sự ô nhiễm Cu và Pb trong môi trường nước.

2 Thực nghiệm

2.1 Thiết bị và hóa chất

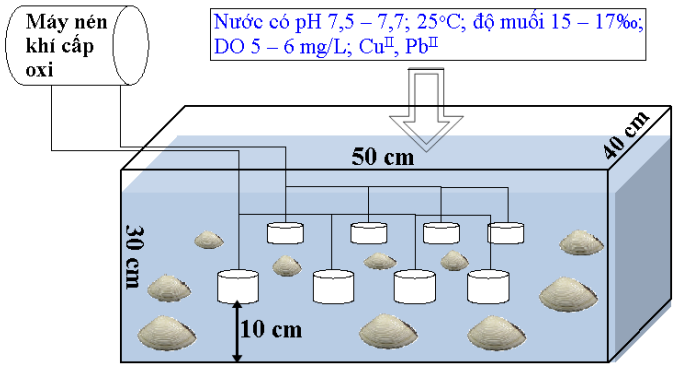
Lò vi sóng Multiwave 3000 (Anton Paar) đi kèm bình phân hủy mẫu chuyên dụng và nắp đậy chịu áp lực bằng nhựa teflon được dùng để phân hủy mẫu thịt nghêu *M. lyrata*. Hệ thống phân tích khối phổ plasma (ICP–MS), model 7700x (Agilent) được dùng để phân tích Cu và Pb tích lũy trong thịt nghêu.

Dung dịch chuẩn Cu^{II}, Pb^{II} (dạng muối nitrat) nồng độ 1000 ppm, loại dùng cho phân tích quang phổ hấp thụ nguyên tử và ICP–MS (Accu Standard); dung dịch HNO_3 65%, HCl 36,5%, H_2O_2 30%... (dùng để vô cơ hóa mẫu) đều là loại tinh khiết phân tích (Merck); nước dùng để pha chế hóa chất và tráng, rửa dụng cụ là nước sạch (Milipore) có độ dẫn điện 18.000 $\Omega.cm^{-1}$ (nước cất 2 lần và được loại ion bằng cách cho qua cột trao đổi ion) (thiết bị Easy Pure, Fisher Scientific).

2.2 Bố trí thí nghiệm phơi nhiễm kim loại trên loài nghêu *M. lyrata*

Để đánh giá mức tích lũy Cu và Pb trong thịt nghêu, tiến hành thí nghiệm phơi nhiễm nghêu với kim loại theo hướng dẫn của ASTM [1]. Các nhóm nghêu thí nghiệm, mỗi nhóm gồm 30 cá thể gần trưởng thành (khoảng 30 ngày nữa là thu hoạch) có kích thước 3–4 cm và khối lượng trung bình khoảng 75–85 cá thể/kg, được lấy từ vùng cửa sông Tiền vào tháng 2/2016. Nước dùng cho thí nghiệm là nước vùng cửa sông Tiền (ở độ sâu 40 cm) được lấy vào cùng thời điểm lấy mẫu nghêu và được xử lý sơ bộ: để lắng qua đêm, rồi rửa gạn để loại các chất rắn lơ lửng. Trước khi cho phơi nhiễm với kim loại, cho nghêu làm quen với nước vùng cửa sông (đã xử lý sơ bộ) trong 2 ngày. Mỗi nhóm 30 cá thể nghêu được cho phơi nhiễm liên tục trong 28 ngày với các hàm lượng kim loại khác nhau trong 30 L nước vùng cửa sông (đã xử lý sơ bộ) có pH 7,5–7,7 và độ muối 15–17‰ ở nhiệt độ 25 °C ± 2 °C ở chế độ sáng : tối 12 giờ : 12 giờ trong các bể nuôi bằng nhựa trong (đã được rửa sạch trước bằng axit HCl và HNO_3 loãng) có kích thước dài × rộng × cao 40 cm × 50 cm × 30 cm. Mật độ nghêu trong bể thí nghiệm là 30 cá thể/0,2 m^2 (mật độ này gần tương tự mật độ nuôi nghêu ở vùng cửa sông Tiền, 130–150 cá thể/m^2). Nước trong bể thí nghiệm được thay định kỳ, 12 giờ 1 lần, và được gây ô nhiễm với các mức kim loại hòa tan như sau: Mức đối chứng/control (2,1 ± 0,4 ppb Cu và < 0,2 – 0,5 ppb Pb; đây là hàm lượng Cu và Pb hòa tan trong nước vùng cửa sông Tiền, thu được từ kết quả phân tích 14 mẫu nước vùng cửa sông đó trong 3 đợt lấy mẫu, tháng 6 đến tháng 10/2015); Mức M1–30 ppb Cu và 50 ppb Pb, ký hiệu là M1–30–50; các mức tiếp theo tương ứng là M2–60–150, M3–100–300 và M4–200–600. Các mức ô nhiễm kim loại này được chọn dựa vào hàm lượng tối đa cho phép của kim loại trong nước biển ven bờ áp dụng cho vùng nuôi trồng thủy sản, bảo tồn thủy sinh (theo QCVN10:2008/BTNMT [2]) bằng và lớn hơn 2–10 lần. Trong các thí nghiệm, cho nghêu ăn hỗn hợp lỏng loài tảo *Nanochloropsis sp.* và *Chaetoceros sp.* (với tỷ lệ 1,5 : 1,5 tỷ tế bào/cá thể nghêu/ngày) với tần suất cho ăn 4 giờ 1 lần [4]; đồng thời, tiến hành sục khí liên tục và nhẹ nhàng (để cấp oxy hòa tan cho nước trong mỗi bể thí nghiệm, duy trì hàm lượng oxy hòa tan trong nước (DO) khoảng 5–6 mg/L) nhờ máy nén khí (công suất 45 lít/phút) thông qua 8 đầu sục khí (có đầu phân phối khí) được đặt cách đáy 10 cm; điều này cũng tạo ra sự đối lưu nước cho bể thí nghiệm (trong vùng nuôi nghêu ở cửa sông Tiền, có sự đối lưu nước dưới tác động của chế độ thủy văn).

Mỗi thí nghiệm phơi nhiễm nghêu *M. lyrata* với một mức (hàm lượng) Cu và Pb (kể cả thí nghiệm đối chứng) được lặp lại 3 lần trong 3 bể thí nghiệm tương tự nhau. Hàm lượng Cu và Pb trong thịt nghêu được phân tích định kỳ sau 7, 14, 21, 28 ngày nghêu tiếp xúc với mỗi mức kim loại trong các bể thí nghiệm. Mỗi lần phân tích, lấy ra 5 cá thể nghêu từ mỗi bể thí nghiệm.



Hình 1. Sơ đồ bố trí thí nghiệm bể nuôi nghêu *M. lyrata*

2.3 Phương pháp phân tích Cu và Pb trong thịt nghêu *M. lyrata*

Tách vỏ và lấy phần thịt nghêu (dùng dao titan để giảm nhiễm bẩn), rồi rửa bằng nước sạch và đồng nhất hóa mẫu trong máy nghiền mẫu chuyên dụng GM–200 (Retsch). Các mẫu thịt nghêu (mỗi mẫu 300–500 mg) được đem phân tích Cu và Pb theo hướng dẫn của phương pháp EAM 4.7 do Cục quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA–EAM) đề xuất: Phân hủy mẫu trong 9 mL hỗn hợp 8 mL HNO_3 65% + 1 mL H_2O_2 30% trong lò vi sóng chuyên dụng, rồi phân tích bằng phương pháp ICP–MS; Định lượng Cu và Pb bằng phương pháp đường chuẩn [18]. Hàm lượng Cu và Pb trong thịt nghêu được tính theo khối lượng tươi. Đối với mỗi mẫu nghêu trong bể thí nghiệm và bể đối chứng, tiến hành phân tích lặp lại 3 lần ($n = 3$).

2.4 Xử lý số liệu thực nghiệm và đánh giá mức tích lũy Cu và Pb trong thịt nghêu *M. lyrata*

Xử lý các số liệu thực nghiệm bằng công cụ Data Analysis của phần mềm Microsoft Office–Excel 2010: Tính trung bình số học, độ lệch chuẩn (S), độ lệch chuẩn tương đối (RSD); Hồi quy tuyến tính…

Xác định *Tốc độ tích lũy kim loại* (rate of metal accumulation/*RMA*) trong thịt nghêu theo công thức (1) [20]

$$RMA = (C_{28\ ngày} - C_{đối\ chứng})/D, \quad (1)$$

trong đó, *RMA* (ppb/ngày) là tốc độ tích lũy kim loại trong thịt nghêu; $C_{28\ ngày}$ (ppb khối lượng tươi) là hàm lượng kim loại trong thịt nghêu sau 28 ngày tiếp xúc; $C_{đối\ chứng}$ (ppb khối lượng tươi) là hàm lượng kim loại trong thịt nghêu của thí nghiệm đối chứng; *D* (ngày) là số ngày nghêu phơi nhiễm kim loại. Hàm lượng kim loại trong thịt nghêu ở thí nghiệm đối chứng (trung bình số học ± độ lệch chuẩn) là 600 ± 72 ppb Cu và 27 ± 3 ppb Pb (khối lượng tươi) ($n = 4$).

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Kiểm soát chất lượng phương pháp phân tích

Để kiểm soát chất lượng phương pháp phân tích (thông qua độ lặp lại và độ đúng), tiến hành phân tích Cu và Pb trong Mẫu vật liệu so sánh được cấp chứng chỉ (hay mẫu chuẩn) SRM–2976 (mẫu thịt sò đông khô dạng bột của Viện Tiêu chuẩn và Công nghệ Quốc gia Mỹ/ National Institute of Standards and Technology/NIST). Đánh giá độ lặp lại qua độ lệch chuẩn tương đối (RSD) và độ đúng qua độ thu hồi (recovery/Rev). Các kết quả ở Bảng 1. cho thấy phương pháp phân tích Cu và Pb đạt được độ lặp lại tốt và độ đúng tốt, và như vậy, hoàn toàn có thể áp dụng phương pháp để phân tích các mẫu thịt nghêu trong thí nghiệm.

Bảng 1. Kết quả kiểm soát chất lượng phương pháp phân tích[(a)]

Kim loại	Hàm lượng kim loại ghi trong chứng chỉ của mẫu SRM–2976 ± biên giới tin cậy 95% (ppb)	Hàm lượng kim loại xác định được (ppb)	RSD (%)[(b)]
Cu	4020 ± 330	4129 (RSD = 5%; n = 3)	6,5
Pb	1190 ± 180	1182 (RSD = 5%; n = 3)	7,8

[(a)] Giới hạn phát hiện (LOD) của phương pháp phân tích đối với Cu và Pb đều khoảng 0,2–0,3 ppb.

[(b)] RSD ở đây là ½ RSD tính theo hàm Horwitz [16]. Trong nội bộ một phòng thí nghiệm, khi phân tích hàm lượng (hay nồng độ) bất kỳ, nếu đạt được RSD nhỏ hơn ½ RSD tính theo hàm Horwitz là đạt yêu cầu [16].

3.2 Tích lũy sinh học Cu và Pb trong thịt nghêu *M. lyrata*

Tích lũy theo thời gian phơi nhiễm

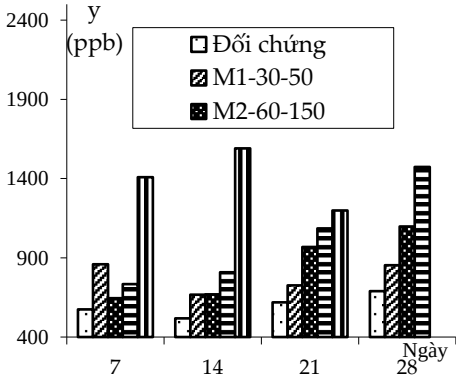
Kết quả ở Hình 2 và Hình 3 cho thấy:

Đối với các mức kim loại (Cu, Pb) M1, M2 và M3 trong bể thí nghiệm: Hàm lượng kim loại tích lũy trong thịt nghêu (y) tăng dần theo thời gian phơi nhiễm (x). Kết quả xét tương quan tuyến tính cho thấy giữa y và x có tương quan tuyến tính chặt với hệ số tương quan R = 0,97–0,99 (với mức ý nghĩa thống kê $p < 0,05$) theo các phương trình hồi quy tuyến tính tương ứng nêu ở Bảng 2.

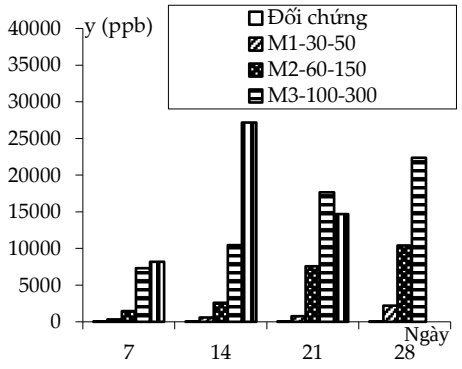
Đối với mức kim loại M4 trong bể thí nghiệm: Trong 14 ngày đầu phơi nhiễm, hàm lượng Cu, Pb tích lũy trong thịt nghêu tăng theo thời gian, nhưng sau đó, để thích ứng với môi trường nước bị ô nhiễm ở mức cao–mức M4 (200 ppb Cu và 600 ppb Pb), nghêu bắt đầu đào thải kim loại ra khỏi cơ thể nhiều hơn so với tích lũy kim loại, dẫn đến hàm lượng kim loại tích lũy trong thịt nghêu sau 21 ngày phơi nhiễm (1.198 ppb Cu và 14.678 ppb Pb) thấp hơn so với 14 ngày phơi nhiễm (1.591 ppb Cu và 27.189 ppb Pb). Trong những ngày phơi nhiễm tiếp theo (từ ngày thứ 22), nghêu bắt đầu bị chết và chết hoàn toàn sau 28 ngày phơi nhiễm.

Mặc dù ở mức đối chứng, hàm lượng Cu trong thịt nghêu (600 ± 72 ppb) cao hơn so với Pb (27 ± 3 ppb), nhưng khi phơi nhiễm với mức kim loại tăng dần (M1–M4) trong nước các bể

thí nghiệm, nghêu tích lũy Pb khá nhiều, chẳng hạn, sau 14 ngày phơi nhiễm với mức M4, hàm lượng Pb trong thịt nghêu cao hơn 17 lần so với hàm lượng Cu. Khi nghiên cứu tích lũy Pb trong loài ĐVHMV *Perna vinridis* (vẹm xanh)—một loài sống trong cột nước, Chan cho rằng, loài ĐVHMV đó cũng có khả năng tích lũy một lượng lớn Pb và có thể giải thích cơ chế tích lũy Pb theo Baldes như sau: trước hết Pb được tiếp nhận vào mang và nội tạng của ĐVHMV, sau đó Pb sẽ đi vào máu và cuối cùng tích lũy ở dạng các hợp chất sunfua hoặc photpho trong các trung tâm lưu giữ nội bào nằm trong các tế bào bài tiết của thận và do vậy ĐVHMV có khả năng cố định và khử độc Pb [3]. Khi nghiên cứu tích lũy các kim loại nặng trong loài *Perna viridis*, Lakshmanan và Nambisan [10] cũng cho rằng, sau 6 ngày phơi nhiễm, loài ĐVHMV đó cũng tích lũy một lượng lớn Pb, lớn hơn 73 lần so với tích lũy Cu. Mặt khác, Fowler và cộng sự cho rằng cơ chế tích lũy Pb nói trên có thể được xem là một quá trình sinh học tổng quát để lý giải về sự tích lũy Pb trong các loài ĐVHMV [3].



Hình 2. Hàm lượng Cu trung bình tích lũy trong thịt nghêu *M. lyrata* (y, ppb) theo thời gian phơi nhiễm *(n* = 3; 3 bể nuôi lặp lại)



Hình 3. Hàm lượng Pb trung bình tích lũy trong thịt nghêu *M. lyrata* theo thời gian phơi nhiễm *(n* = 3; 3 bể nuôi lặp lại). (Do hàm lượng Pb trong thịt nghêu ở mức đối chứng rất nhỏ, nên không thấy được trên hình)

Tích lũy theo mức kim loại phơi nhiễm trên loài nghêu *M. lyrata* trong các bể thí nghiệm

Kết quả xét tương quan tuyến tính giữa hàm lượng kim loại (Cu, Pb) tích lũy trong thịt nghêu (*y*, ppb) và mức kim loại trong nước bể thí nghiệm (*x*, ppb) ở Bảng 2 cho thấy:

Trong thời gian phơi nhiễm 7 ngày: Trong thời gian này, nghêu phải thích nghi dần với các mức kim loại trong nước bể thí nghiệm, nên đối với cả 4 mức (M1–M4), giữa *y* và *x* tuy có tương quan tuyến tính, nhưng không chặt (R = 0,88–0,90 với $p \geq 0,10$).

Trong thời gian phơi nhiễm 14 ngày: Lúc này nghêu đã thích nghi với môi trường bị ô nhiễm kim loại ở các mức khác nhau, nên giữa *y* và *x* có tương quan tuyến tính chặt với R = 0,95–0,99 ($p \leq 0,05$).

Trong thời gian phơi nhiễm 21 ngày: Do ở mức ô nhiễm kim loại cao trong nước (mức M4), nghêu phải đào thải kim loại nhiều hơn so với tích lũy (như đề cập ở trên), nên giữa *y* và *x* tuy có có tương quan tuyến tính, nhưng không chặt với R = 0,75–0,87 ($p \geq 0,10$).

Trong thời gian phơi nhiễm 28 ngày: Ở mức ô nhiễm kim loại cao trong nước (mức M4), nghêu bị chết từ ngày 22 trở đi; nhưng đối với 3 mức kim loại trong nước (M1, M2 và M3), giữa y và x vẫn có tương quan tuyến tính chặt với $R = 0,99$ ($p < 0,05$).

Các kết quả nghiên cứu ở trên cho thấy hàm lượng Cu, Pb tích lũy trong thịt nghêu *M. lyrata* tăng lên khi tăng mức kim loại trong nước bể thí nghiệm và tăng thời gian phơi nhiễm. Điều này cho phép nhận định rằng có thể sử dụng nghêu *M. lyrata* làm chỉ thị sinh học (bio-indicator) cho sự ô nhiễm Cu và Pb trong môi trường nước bao quanh. Khi môi trường nước bị ô nhiễm Cu và Pb ở mức cao (200 ppb Cu và 600 ppb Pb), nghêu sẽ không chống chịu được và bị chết.

Bảng 2. Kết quả xét tương quan tuyến tính giữa hàm lượng Cu, Pb trong thịt nghêu (y) và mức kim loại (KL) trong nước bể thí nghiệm, và thời gian phơi nhiễm(*)

Yếu tố		Cu			Pb		
		Phương trình	***R***	***p***	**Phương trình**	***R***	***p***
Tương quan giữa hàm lượng KL trong thịt nghêu (y, ppb) và thời gian phơi nhiễm (x) (x = 7, 14, 21, 28 ngày) ở cùng mức KL trong nước.	M1–30–50	$y = 12x + 501$	0,985	0,02	$y = 89x - 484$	0,967	0,03
	M2–60–100	$y = 16x + 632$	0,999	0,01	$y = 454x - 2430$	0,976	0,02
	M3–100–300	$y = 41x + 271$	0,990	0,01	$y = 748x + 1365$	0,990	0,01
	M4–200–600(*)	–	–	–	–	–	–
Tương quan giữa hàm lượng KL trong thịt nghêu (y, ppb) và mức KL trong nước (x, ppb) sau thời gian phơi nhiễm xác định.	7 ngày	$y = 2,9x + 485$	0,880	0,12	$y = 15x + 209$	0,898	0,10
	14 ngày	$y = 5,3x + 466$	0,952	0,05	$y = 50x - 3572$	0,993	0,01
	21 ngày	$y = 2,4x + 756$	0,896	0,10	$y = 23x + 3921$	0,752	0,25
	28 ngày(**)	$y = 8,9x + 578$	0,999	0,03	$y = 81x - 1772$	0,999	0,01

(*) Ở mức M4–200–600, sau 21 ngày phơi nhiễm, nghêu bắt đầu chết, nên không xét tương quan ở đây.

(**) Ở đây, chỉ xét tương quan đối với 3 mức kim loại (M1, M2 và M3), vì ở mức M4, sau 28 ngày phơi nhiễm, nghêu bị chết hoàn toàn.

3.3 Tốc độ tích lũy Cu và Pb trên loài nghêu *M. lyrata*

Kết quả xác định tốc độ tích lũy kim loại (RMA) trên loài nghêu ở Bảng 3 cho thấy:

Tốc độ tích lũy Pb trên loài nghêu lớn hơn 13–35 lần so với tích lũy Cu trong 21–28 ngày phơi nhiễm với cả 4 mức kim loại trong nước bể thí nghiệm, mặc dù hàm lượng Pb trong nước bể thí nghiệm chỉ cao hơn 1,7–3 lần so với hàm lượng Cu. Tuy nhiên, để chống chịu được với mức ô nhiễm cao Cu và Pb trong nước (mức M4), từ ngày 14 đến ngày 21, nghêu phải đào thải kim loại nhiều hơn là tích lũy chúng và do vậy, giá trị RMA đối với mức M4 (15 ppb Cu/ngày và 523 ppb Pb/ngày) thấp hơn so với mức M3 (28 ppb Cu/ngày và 797 ppb Pb/ngày). Điều này cũng phù hợp với nhận xét trong ASTM E1022–94 [1]: Sau một khoảng thời gian phơi nhiễm xác định, quá trình tích lũy kim loại của ĐVHMV sẽ dừng lại và hàm lượng kim loại trong ĐVHMV đạt tới ngưỡng bão hòa (hay đạt cực đại), tức là khi đó, tốc độ tích lũy và đào thải kim loại của ĐVHMV là bằng nhau; nếu phải tiếp tục phơi nhiễm với kim loại, ĐVHMV sẽ đào thải kim loại

để tự bảo vệ (hay duy trì sự sống). Như vậy, các kết quả ở trên cho thấy mức tích lũy kim loại cao nhất trong thịt nghêu khoảng 1.475 ppb–1.591 ppb Cu và 22.353–27.189 ppb Pb (sau 28 ngày phơi nhiễm với mức kim loại M3–100 ppb Cu + 300 ppb Pb và 14 ngày phơi nhiễm với mức kim loại M4–200 ppb Cu + 600 ppb Pb). Tuy nhiên, khi tích lũy đến 1591 ppb Cu và 27.189 ppb Pb, thì ngay sau đó, để chống chịu được với môi trường, nghêu phải đào thải kim loại nhiều hơn là tích lũy. Ở mức ô nhiễm cao (mức kim loại M4), sau 21 ngày phơi nhiễm, nghêu không chống chịu được, nên bị chết. Một cách gần đúng, có thể cho rằng, mức tích lũy cực đại trong thịt nghêu ở điều kiện thí nghiệm khoảng 1500 ppb Cu và 25.000 ppb Pb.

Giữa RMA (y) và mức kim loại trong nước bể thí nghiệm (x) có tương quan tuyến tính chặt với $R > 0,99$ ($p < 0,01$), tức là khi mức ô nhiễm kim loại trong nước càng tăng, tốc độ tích lũy kim loại cũng càng tăng. Điều này, một lần nữa, cho phép khẳng định rằng có thể sử dụng nghêu *M. lyrata* làm chỉ thị sinh học cho sự ô nhiễm Cu và Pb trong môi trường nước. Cũng cần thấy rằng do dạng tồn tại của Cu và Pb trong nước bể thí nghiệm chủ yếu là dạng di động (mobile) hay dễ tích lũy sinh học (bioavailable), nên chúng dễ được nghêu hấp thu hay dễ tích lũy trong thịt nghêu [13].

Bảng 3. Tốc độ tích lũy Cu và Pb trong thịt nghêu (*)

STT	Mức kim loại (Cu–Pb) trong bể thí nghiệm (ppb)	Cu		Pb	
		RMA(*) (ppb/ngày)	Phương trình(**)	RMA(*) (ppb/ngày)	Phương trình(**)
1	M1–30–50	6 ± 5	$y = 0,41x - 9,2$	77 ± 7	$y = 3,4x - 139$
2	M2–60–100	15 ± 3	$R = 0,996$	371 ± 35	$R = 0,997$
3	M3–100–300	28 ± 11	$p = 0,004$	797 ± 80	$p = 0,002$
4	M4–200–600	15 ± 9		523 ± 127	

(*) Đối với RMA, kết quả ở Bảng là trung bình số học ± độ lệch chuẩn với $n = 3$ (3 bể nuôi lặp lại); các giá trị RMA đối với 3 mức M1, M2 và M3 được tính cho 28 ngày phơi nhiễm; giá trị RMA đối với mức M4 chỉ được tính cho 21 ngày phơi nhiễm, vì từ ngày 22 trở đi, nghêu bắt đầu bị chết.

(**) Phương trình hồi quy tuyến tính giữa y (RMA) và x (mức kim loại trong nước bể thí nghiệm–mức M1, M2, M3 và M4) được thiết lập cho 21 ngày phơi nhiễm.

4 Kết luận

Khi hàm lượng kim loại (Cu, Pb) trong môi trường nước và thời gian phơi nhiễm với kim loại bởi nghêu *M. lyrata* tăng lên, hàm lượng kim loại tích lũy trong thịt nghêu *M. lyrata* cũng tăng lên và tốc độ tích lũy kim loại bởi nghêu cũng tăng lên. Ở điều kiện thí nghiệm, mức tích lũy Cu và Pb trong thịt nghêu đạt đến ngưỡng bão hòa, khoảng 1500 ppb Cu và 25.000 ppb Pb, và khi hàm lượng Cu và Pb trong nước vẫn duy trì ở mức cao (200 ppb Cu và 600 ppb Pb), thì sau 21 ngày phơi nhiễm, nghêu không có khả năng chống chịu nữa và bị chết. Tương quan tuyến tính giữa hàm lượng kim loại tích lũy trong thịt nghêu hoặc tốc độ tích lũy kim loại trong thịt nghêu (y) và hàm lượng kim loại trong môi trường nước (x), thời gian phơi nhiễm (x) đã cho phép khẳng định rằng, có thể sử dụng loài nghêu *M. lyrata* làm chỉ thị sinh học cho sự ô nhiễm Cu và Pb trong môi trường nước vùng cửa sông Tiền.

Tài liệu tham khảo

1. American Society for Testing and Materials (2003), Method E1022 – Standard Guide for Conducting Bioconcentration Tests with Fishes and Saltwater Bivalve Mollusks, pp. 1–18.
2. Bộ Tài Nguyên Môi Trường (2008), QCVN 10 : 2008/BTNMT – Quy Chuẩn Kỹ Thuật Quốc Gia Về Chất Lượng Nước Biển Ven Bờ, pp. 1–7.
3. Chan, H. M. (1988), Accumulation and tolerance to cadmium, copper, lead and zinc by the green mussel Perna viridis, *Marine Ecology*, 48, pp. 295–303.
4. Chu Chí Thiết (2008), *Kỹ thuật sản xuất giống ngao Bến Tre*, Phân viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thuỷ sản Bắc Trung Bộ.
5. Company, R., Serafim, A., Lopes, B., Cravo, A., Kalman, J., Riba, I., DelValls, T. A., Blasco, J., Delgado, J., Sarmiento, A. M., Nieto, J. M., Shepherd, T. J., Nowell, G., Bebianno, M. J. (2011), Source and impact of lead contamination on δ-aminolevulinic acid dehydratase activity in several marine bivalve species along the Gulf of Cadiz, *Aquatic Toxicology*, 101(1), pp. 146–154.
6. Fitzpatrick, J. L., Nadella, S., Bucking, C., Balshine, S., Wood, C. M. (2008), The relative sensitivity of sperm, eggs and embryos to copper in the blue mussel (Mytilus trossulus), *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 147(4), pp. 441–449.
7. Fukunaga, A., Anderson, M. J. (2011), Bioaccumulation of copper, lead and zinc by the bivalves Macomona liliana and Austrovenus stutchburyi, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 396(2), pp. 244–252.
8. Gaetke, L. M., Chow, C. K. (2003), Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients, *Toxicology*, 189(1–2), pp. 147–163.
9. I. M., C. (1995), Comparison of the effect of copper on respiration and its accumulation in tissue in the hard clam Meretrix lusoria, *Zoological Studies*, 34(4), pp. 235–240.
10. Lakshmanan, P. T., Nambisan, P. N. K. (1989), Bioaccumulation and depuration of some trace metals in the mussel,Perna viridis (Linnaeus), *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 43(1), pp. 131–138.
11. Marasinghe Wadige, C. P., Taylor, A. M., Maher, W. A., Krikowa, F. (2014), Bioavailability and toxicity of zinc from contaminated freshwater sediments: Linking exposure-dose-response relationships of the freshwater bivalve Hyridella australis to zinc-spiked sediments, *Aquat Toxicol*, 156pp. 179–90.
12. Nguyễn Tấn Quốc (2016), *Xây dựng vùng quản lý khai thác nghêu (Meretrix lyrata) tại Gò Công, Tiền Giang theo tiêu chuẩn Hội đồng quản lý biển* (*MSC–Marine Stewardship Council*). Đề tài nghiên cứu khoa học cấptỉnh mã số: KNĐT 02/11, Chi cục Quản lý Nông Lâm Sản và Thủy Sản – Sở Nông Nghiệp và Phát Triển Nông Thôn tỉnh Tiền Giang, Tiền Giang, Việt Nam.
13. Patel, B. (1991), Uptake of cadmium in tropical marine lamellibranchs, and effects on physiological behaviour, *Marine Biology*, 108, pp. 457–470.
14. Phạm Kim Phương (2008), Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ kim loại nặng (Cd, Pb, As) lên sự tích luỹ và đào thải của nghêu, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 46(2), pp. 89–95.
15. Sinh, L. X. (2016), Determination of Mercury Accumulation Factor in Hard Clam (*Meretrix lyrata*) at Bach Dang Estuary, Viet Nam, *Environment and Natural Resources Research*, 6(3), pp. 18–24.
16. Taverniers, I., De Loose, M., Van Bockstaele, E. (2004), Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance, *Trends in Analytical Chemistry*, 23(8), pp. 535–552.

17. Taylor, A. M., Maher, W. A. (2014), Exposure–dose–response of Tellina deltoidalis to metal contaminated estuarine sediments 2. Lead spiked sediments, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 159(0), pp. 52–61.
18. U.S Food and Drug Administration (2015), *Method EAM 4.7 – Inductively Coupled Plasma–Mass Spectrometric Determination of Arsenic, Cadmium, Chromium, Lead, Mercury, and Other Elements in Food Using Microwave Assisted Digestion*, pp. 1–40.
19. United States Environmental Protection Agency (1985), *Technical report D–85–2 Bioaccumulation Of Contaminants From Black Rock Harbor Dredged Material By Mussels And Polychaetes*, pp. 1–155.
20. Yap, C. K., Ismail, A., Tan, S. G., Omar, H. (2003), Accumulation, depuration and distribution of cadmium and zinc in the green-lipped mussel Perna viridis (Linnaeus) under laboratory conditions, *Hydrobiologia*, 498(1), pp. 151–160.
21. Zuykov, M., Pelletier, E., Harper, D. A. T. (2013), Bivalve mollusks in metal pollution studies: From bioaccumulation to biomonitoring, *Chemosphere*, 93(2), pp. 201–208.

BIOACCUMULATION OF COPPER AND LEAD BY *Meretrix lyrata*: CASE STUDY FOR *Meretrix lyrata* COLLECTED FROM FARMING AREA AT TIEN ESTUARY, TIEN GIANG PROVINCE

Hoang Thi Quynh Dieu *, Nguyen Van Hop, Nguyen Hai Phong

HU – University of Sciences

Abstract: The bivalve *Meretrix lyrata* was exposed to various dissolved levels of copper (Cu) and lead (Pb) for 28 days. For the examination of the metal bioaccumulation in body tissues of the bivalve, a number of the metal concentrations in experimental tanks (containing the bivalve and water collected from farming area at the Tien estuary, Tien Giang province) were prepared: Control level (2.1 ± 0.4 ppb Cu and < 0.2 – 0.5 ppb Pb); level M1: 30 ppb Cu and 50 ppb Pb marked as M1–30–50; the other levels are as follows M2–60–150, M3–100–300 and M4–200–600. Under experimental conditions, strong linear correlations between the metal contents in the bivalve body tissues (y, ppb wet weight) and exposure times (x, day) were found with R = 0.97–0.99 ($p < 0.05$). There were also linear correlations between y and the metal concentrations in the experimental tank water (x, ppb) with R = 0.88–0.90; 0.95–0.99; 0.75–0.87 and 0.99 after 7, 14, 21 and 28 days of exposure, respectively. However, for a high pollution level of the metal in the tank water (level M4), from the 14th day of exposure, the bivalve started excreting more metal than accumulating it and died after 21 days of exposure. Strong linear correlations between the rate of metal accumulation (RMA) in the bivalve (ppb/day) and the metal level in the tank water for 21–28 exposure days were found with $R > 0.99$ ($p < 0.01$). The maximum accumulation level of the metals in the bivalve was approximately 1500 ppb Cu and 25000 ppb Pb, or Pb accumulated in the bivalve was 17 times higher than Cu. The obtained results indicated that the *Meretrix lyrata* could be used as a bio-indicator for the metal pollution in aquatic environment at the Tien estuary area.

Keywords: *Mertrix lyrata*, Cu and Pb, Tien estuary