

BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



ĐẶNG NGUYỄN NHÃ KHANH

**NGHIÊN CỨU QUÁ TRÌNH TÍCH LŨY, ĐÀO THẢI VÀ
ẢNH HƯỞNG CỦA CHÌ (Pb), CADIMI (Cd) ĐẾN LƯỢNG
GLYCOGEN, INSULIN, CORTISOL TRONG CÁ RÔ ĐỒNG
(*Anabas testudineus*)**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

TP.HCM - Năm 2025

BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

ĐẶNG NGUYỄN NHÃ KHANH

**NGHIÊN CỨU QUÁ TRÌNH TÍCH LŨY, ĐÀO THẢI VÀ
ẢNH HƯỞNG CỦA CHÌ (Pb), CADIMI (Cd) ĐẾN LƯỢNG
GLYCOGEN, INSULIN, CORTISOL TRONG CÁ RÔ ĐỒNG
(*Anabas testudineus*)**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Ngành: Hóa Vô cơ

Mã số: 9 44 01 13

Xác nhận của Học viện
Khoa học và Công nghệ

**KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC**



Người hướng dẫn
(Ký, ghi rõ họ tên)

PGS.TS. Nguyễn Thị Kim Phượng

Nguyễn Thị Trung
TP.HCM – Năm 2025

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan luận án: "*Nghiên cứu quá trình tích lũy, đào thải và ảnh hưởng của chì (Pb), Cadimi (Cd) đến lượng glycogen, insulin, cortisol trong cá rô đồng (Anabas testudineus)*" là công trình nghiên cứu của chính mình dưới sự hướng dẫn khoa học của tập thể hướng dẫn. Luận án sử dụng thông tin trích dẫn từ nhiều nguồn tham khảo khác nhau và các thông tin trích dẫn được ghi rõ nguồn gốc. Các kết quả nghiên cứu của tôi được công bố chung với các tác giả khác đã được sự nhất trí của đồng tác giả khi đưa vào luận án. Các số liệu, kết quả được trình bày trong luận án là hoàn toàn trung thực và chưa từng được công bố trong bất kỳ một công trình nào khác ngoài các công trình công bố của tác giả. Luận án được hoàn thành trong thời gian tôi làm nghiên cứu sinh tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

TP.HCM, ngày 24 tháng 12 năm 2025

Tác giả luận án



Đặng Nguyễn Nhã Khanh

LỜI CẢM ƠN

Luận án này được thực hiện và hoàn thành tại Viện Địa lý tài nguyên TP.HCM (nay thuộc Viện Khoa học Sự sống), Viện Công nghệ Tiên tiến – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Học viện Khoa học và Công nghệ và trường Đại học Công nghiệp TP.HCM.

Đầu tiên, tác giả đặc biệt gửi lời cảm ơn chân thành và biết ơn sâu sắc đến PGS. TS. Nguyễn Thị Kim Phượng, người đã luôn cho tôi những lời khuyên chân thành, định hướng, hướng dẫn và giúp đỡ tận tình giúp tôi trưởng thành hơn trong kỹ năng nghiên cứu cũng như hoàn thành luận án của mình.

Bên cạnh đó, tôi cũng xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến Ban Lãnh đạo, các anh/chị thuộc phòng Đào tạo của Học viện Khoa học và Công nghệ đã hỗ trợ nhiệt tình giúp tôi hoàn thành khóa học cũng như hoàn thiện luận án này.

Tôi chân thành cảm ơn ThS. Ngô Thị Tường Vy, thành viên trong đơn vị đã hỗ trợ và giúp đỡ cho tôi trong suốt quá trình thực hiện luận án này.

Chân thành cảm ơn các thành viên của phòng Vật liệu Y sinh – Viện Công nghệ Tiên tiến, các anh/chị thuộc Trung tâm Công nghệ Sinh học TP.HCM đã hỗ trợ tôi trong quá trình hoàn thiện luận án.

Cuối cùng, tôi xin chân thành cảm ơn gia đình đã động viên, hỗ trợ và tạo điều kiện tốt nhất để tôi có thể hoàn thành chương trình học và luận án của mình.

TP.HCM, ngày 24 tháng 12 năm 2025

Tác giả luận án



Đặng Nguyễn Nhã Khanh

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN	i
LỜI CẢM ƠN.....	ii
MỤC LỤC	iii
DANH MỤC VIẾT TẮT	vi
DANH MỤC BẢNG BIỂU.....	viii
DANH MỤC HÌNH ẢNH.....	ix
MỞ ĐẦU	xii
Chương 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU	1
1.1. KHOA HỌC VỀ ĐỘC CHẤT HỌC MÔI TRƯỜNG.....	1
1.1.1. Phân loại thử nghiệm độc tính.....	1
1.1.2. Độc tính thủy sinh	2
1.1.3. Tích tụ sinh học và phóng đại sinh học	2
1.1.4. Sự xâm nhập và đường đi của độc tố trong cơ thể cá	3
<i>1.1.4.1. Sự xâm nhập của chất độc</i>	<i>3</i>
<i>1.1.4.2. Đường đi của chất độc trong cá sau khi xâm nhập</i>	<i>5</i>
1.2. TỔNG QUAN VỀ KIM LOẠI NẶNG (CHÌ, CADIMI) VÀ ĐỘC TÍNH	6
1.2.1. Chì (Pb)	7
<i>1.2.1.1. Đặc điểm và nguồn gây ô nhiễm chì</i>	<i>7</i>
<i>1.2.1.2. Tác động độc hại của Pb đối với cá.....</i>	<i>7</i>
<i>1.2.1.3. Tích tụ Pb trong cá.....</i>	<i>8</i>
1.2.2. Cadimi (Cd).....	9
<i>1.2.2.1. Đặc điểm và nguồn gây ô nhiễm Cd</i>	<i>9</i>
<i>1.2.2.2. Tác động độc hại của Cd đối với cá</i>	<i>10</i>
<i>1.2.2.3. Tích tụ Cd trong cá</i>	<i>11</i>
1.3. THÀNH PHẦN SINH HÓA.....	11
1.3.1. Hormone cortisol.....	11
1.3.2. Hormone insulin	13
1.3.3. Glycogen.....	15
1.4. GIỚI THIỆU CHUNG VỀ CÁ RÔ ĐỒNG.....	16

1.5. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU TRONG VÀ NGOÀI NƯỚC	17
1.5.1. Tình hình nghiên cứu về tích lũy kim loại nặng trong nước	17
1.5.2. Tình hình nghiên cứu về tác động độc hại kim loại nặng trên thế giới..	21
1.5.3. Kết luận về những nghiên cứu tác động độc hại về kim loại nặng trong và ngoài nước	26
Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	27
2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU.....	27
2.1.1. Cá rô đồng	27
2.1.2. Cortisol	27
2.1.3. Insulin	27
2.1.4. Glycogen.....	27
2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	28
2.2.1. Nội dung nghiên cứu	28
2.2.2. Thiết kế thí nghiệm.....	28
2.2.2.1. Nghiên cứu độc cấp tính (LC_{50} trong 96 giờ) của Pb^{2+} và Cd^{2+}	28
2.2.2.2. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn (sub-chronic) của Pb^{2+} và Cd^{2+}	29
2.2.3. Phương pháp phân tích hóa học	31
2.2.3.1. Phân tích hàm lượng cortisol.....	31
2.2.3.2. Phân tích hàm lượng insulin	32
2.2.3.3. Phân tích hàm lượng glycogen	33
2.2.3.4. Phân tích tổng hàm lượng Cd, Pb trong các mô cá.....	34
2.2.3.5. Giải phẫu mô học.....	36
2.2.3.6. Thẩm định các phương pháp phân tích	36
2.2.4. Phân tích thống kê	37
2.3. THIẾT BỊ - HÓA CHẤT SỬ DỤNG TRONG NGHIÊN CỨU.....	37
Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	39
3.1. THẨM ĐỊNH CÁC PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH.....	39
3.1.1. Thẩm định phương pháp định lượng cortisol	39
3.1.2. Thẩm định phương pháp định lượng insulin	40

3.1.3. Thẩm định phương pháp định lượng glycogen	42
3.1.4. Thẩm định phương pháp định lượng Pb và Cd tổng số tại mang, gan và thịt cá rô đồng.....	44
3.2. NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA ION CHÌ (Pb^{2+}) ĐẾN CÁ RÔ ĐỒNG (<i>Anabas testudineus</i>)	46
3.2.1. Nghiên cứu ngưỡng độc cấp tính của Pb^{2+}	46
3.2.1.1. Nồng độ Pb^{2+} gây chết cá thí nghiệm trong 96 giờ (LC_{50} trong 96 giờ)	46
3.2.1.2. Ước tính ngưỡng độc cấp tính LC_{50} trong 96 giờ.....	46
3.2.2. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của Pb^{2+} đối với cá rô đồng.....	47
3.2.2.1. Cá rô đồng phơi nhiễm Pb^{2+}	47
3.2.2.2. Cá rô đồng thôi nhiễm Pb^{2+}	66
3.3. NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA ION CADIMI (Cd^{2+}) ĐẾN CÁ RÔ ĐỒNG (<i>Anabas testudineus</i>)	71
3.3.1. Nghiên cứu ngưỡng độc cấp tính của Cd^{2+}	71
3.3.1.1. Nồng độ Cd^{2+} gây chết cá thí nghiệm trong 96 giờ (LC_{50} trong 96 giờ)	71
3.3.1.2. Ước ngưỡng độc cấp tính LC_{50} trong 96 giờ.....	71
3.3.2. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của Cd^{2+} đối với cá rô đồng	72
3.3.2.1. Cá rô đồng phơi nhiễm Cd^{2+}	72
3.3.2.2. Cá rô đồng thôi nhiễm Cd^{2+}	89
3.4. SO SÁNH TÁC ĐỘNG ĐỘC HẠI CỦA Pb VÀ Cd ĐỐI VỚI CÁ RÔ ĐỒNG (<i>Anabas testudineus</i>)	93
Chương 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	95
4.1. KẾT LUẬN.....	95
4.2. KIẾN NGHỊ.....	95
DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN	97
DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	98
PHỤ LỤC	PL1

DANH MỤC VIẾT TẮT

<i>STT</i>	<i>Ký hiệu, từ viết tắt</i>	<i>Từ nguyên</i>	<i>Nghĩa tiếng Việt</i>
1	ACTH	Adrenocorticotropic hormone	Hormone kích thích vỏ thượng thận
2	ATP	Adenosine triphosphatase	
3	BSC	Brain – Sympathetic Chromaffin cell axis	Trục Não – Hệ thần kinh giao cảm – Tế bào ái Crom
4	CAT	Catalase	
5	CO ₂	Carbon dioxide	
6	CRF	Corticotropin-releasing factor	Nhân tố giải phóng Corticotropin
7	CYP	Cytochrome P450	
8	DDT	Dichloro-diphenyl-trichloroethane	
9	DNA	Deoxyribonucleic acid	
10	DO	Dissolved oxygen	Oxy hòa tan
11	EC	Endothelial cells	Tế bào nội mô
12	GOT	Glutamic oxalate transminase	
13	GPT	Glutamic pyruvate transminase	
14	GPx	Glutathione peroxidase	
15	GSH	Glutathione	
16	GST	Glutathione-S-transferase	
17	Hb	Hemoglobin	
18	HPI	Hypothalamic – pituitary – interrenal axis	Trục hạ đồi – tuyến yên – tuyến liên thận
19	Ht	Hematocrit	
20	ICH	International Council for Harmonisation	
21	LC ₅₀	Median lethal concentration	Nồng độ gây chết trung bình
22	LD ₅₀	Median lethal dose	Liều lượng gây chết trung bình

<i>STT</i>	<i>Ký hiệu, từ viết tắt</i>	<i>Từ nguyên</i>	<i>Nghĩa tiếng Việt</i>
23	LOAEL	Lowest Observed Adverse Effect Level	Mức tác động bất lợi thấp nhất được quan sát thấy
24	LOD	Limit of Detection	Giới hạn phát hiện
25	LOQ	Limit of Quantification	Giới hạn định lượng
26	LPO	Lipid peroxidation	Quá trình peroxy hóa lipid
27	MDA	Malondialdehyde	
28	mRNA	Messenger ribonucleic acid	
29	MTs	Metallothioneins	
30	NADH	Nicotiamide adenine dinucleotide	
31	NOAEL	No Observed Adverse Effect Level	Mức không quan sát thấy tác động bất lợi
32	NOEC	No Observed Effect Concentration	Nồng độ không quan sát thấy tác động
33	PCB	Polychlorinated biphenyl	
34	PCO	Protein carbonyl	
35	PELs	Permissible exposure limits	Giới hạn cho phép tiếp xúc
36	PL	Primary gill lamella	Phiến mang chính
37	PP	Polypropylene	
38	ppb	parts per billion	phần tỷ
39	ppm	parts per million	phần triệu
40	RBC	Red blood cell	Tế bào hồng cầu
41	RNA	Ribonucleic acid	
42	ROS	Reactive Oxygen Species	Gốc oxy tự do
43	RSD	Relative Standard Deviation	Độ lệch chuẩn tương đối
44	SL	Secondary gill lamella	Phiến mang thứ cấp
45	SOD	Superoxide dismutase	

DANH MỤC BẢNG BIỂU

Bảng 1.1. Một số nghiên cứu về kim loại nặng trong nước	17
Bảng 1.2. Một số nghiên cứu tiêu biểu về tác động độc hại kim loại nặng đối với cá	21
Bảng 2.1. Trình tự phân tích glycogen bằng thuốc thử IKI	34
Bảng 2.2. Các thông số vận hành phân tích Cd và Pb	35
Bảng 2.3. Dung môi, hóa chất sử dụng trong nghiên cứu.....	37
Bảng 2.4. Thiết bị sử dụng trong nghiên cứu.....	37
Bảng 3.1. Kết quả thẩm định phương pháp phân tích Pb, Cd.....	44
Bảng 3.2. Các thông số của phương pháp phân tích	45
Bảng 3.3. Tỷ lệ về hàm lượng Pb tích lũy tại mang – gan, mang – thịt và gan – thịt	52
Bảng 3.4. Hàm lượng Pb^{2+} đào thải ở các mô của cá rô đồng sau 14 ngày phơi nhiễm	68
Bảng 3.5. Tỷ lệ hàm lượng Cd^{2+} tích lũy tại gan - mang, gan - thịt và mang - thịt ..	77
Bảng 3.6. Hàm lượng Cd^{2+} đào thải ở các mô của cá rô đồng sau 14 ngày phơi nhiễm	91
Bảng 3.7. So sánh tác động độc hại của Pb^{2+} và Cd^{2+} đối với cá rô đồng	93

DANH MỤC HÌNH ẢNH

Hình 1.1. Sự khác nhau giữa tích tụ sinh học và phóng đại sinh học	3
Hình 1.2. Cấu trúc mang cá từ mô đến cấp độ phân tử.....	5
Hình 1.3. Công thức cấu tạo của cortisol	12
Hình 1.4. Kích thích trục BSC và trục HPI để đáp ứng với căng thẳng ở cá	12
Hình 1.5. Cấu trúc của insulin.....	14
Hình 1.6. Cấu trúc phân tử glycogen	15
Hình 1.7. Cá rô đồng (<i>Anabas testudineus</i>) sử dụng trong nghiên cứu	16
Hình 2.1. Sơ đồ bố trí thí nghiệm.....	29
Hình 2.2. Sơ đồ thời gian lấy mẫu để phân tích hóa học	30
Hình 2.3. Quy trình xử lý mẫu máu để phân tích hàm lượng cortisol	31
Hình 2.4. Sơ đồ xử lý mẫu máu để phân tích hàm lượng insulin	32
Hình 2.5. Sơ đồ xử lý mẫu gan cá để phân tích hàm lượng glycogen	33
Hình 2.6. Sơ đồ xử lý mẫu để phân tích tổng lượng Cd và Pb trên thiết bị ICP-OES	35
Hình 3.1. Sắc ký đồ của cortisol trong huyết tương.....	39
Hình 3.2. Đồ thị đường chuẩn cortisol.....	40
Hình 3.3. (a) Phổ hấp thụ của insulin và (b) Sắc ký đồ của insulin trong mẫu dịch chiết từ máu cá	41
Hình 3.4. Đồ thị đường chuẩn insulin	42
Hình 3.5. Bước sóng hấp thụ của glycogen-IKI	43
Hình 3.6. Đồ thị đường chuẩn glycogen	43
Hình 3.7. Tỷ lệ chết của cá rô đồng sau 96 giờ tiếp xúc với Pb^{2+}	46
Hình 3.8. Ngưỡng độc cấp tính của Pb^{2+} (LC_{50} 96 giờ) đối với cá rô đồng	47
Hình 3.9. Ảnh hưởng của Pb^{2+} đến sự thay đổi (a) kích thước và (b) trọng lượng của cá rô đồng.....	48
Hình 3.10. Tích lũy lượng Pb^{2+} ở cá rô đồng tại mang, gan và thịt	50
Hình 3.11. Sự phân bố và tích lũy Pb^{2+} tại mang, gan và thịt cá đối chứng và cá phơi nhiễm.....	54
Hình 3.12. Mang cá rô đồng đối chứng và cá rô đồng sau 28 ngày phơi nhiễm 40Pb	55
Hình 3.13. Ảnh mô học của mang cá rô đồng đối chứng và cá rô đồng sau 28 ngày phơi nhiễm 40Pb	56
Hình 3.14. Gan cá rô đồng đối chứng và cá rô đồng sau 28 ngày phơi nhiễm 40Pb.....	57

Hình 3.15. Ảnh mô học của gan cá rô đồng đối chứng và cá rô đồng sau 28 ngày phơi nhiễm 40Pb.....	57
Hình 3.16. (a) Sự thay đổi nồng độ cortisol trong huyết tương cá rô đồng đối chứng và cá rô đồng phơi nhiễm Pb^{2+} ; (b) Tỷ lệ giảm cortisol trong huyết tương cá rô đồng giữa ngày thứ 28 so với ngày thứ 7 kể từ lúc bắt đầu phơi nhiễm Pb^{2+} và (c) Tỷ lệ tăng cortisol trong huyết tương của cá rô đồng phơi nhiễm Pb^{2+} so với cá đối chứng	58
Hình 3.17. (a) Sự thay đổi nồng độ insulin trong máu cá rô đồng đối chứng và cá rô đồng phơi nhiễm Pb^{2+} ; (b) Tỷ lệ thay đổi insulin trong máu cá rô đồng giữa ngày thứ 28 so với ngày thứ 7 kể từ lúc bắt đầu phơi nhiễm Pb^{2+} và (c) Tỷ lệ giảm insulin trong máu của cá rô đồng phơi nhiễm Pb^{2+} so với cá đối chứng.....	61
Hình 3.18. (a) Sự thay đổi hàm lượng glycogen trong gan cá rô đồng đối chứng và cá rô đồng phơi nhiễm Pb^{2+} ; (b) Tỷ lệ giảm glycogen trong gan cá rô đồng giữa ngày thứ 28 so với ngày thứ 7 kể từ lúc bắt đầu phơi nhiễm Pb^{2+} và (c) Tỷ lệ giảm glycogen trong gan của cá rô đồng phơi nhiễm Pb^{2+} so với cá đối chứng	64
Hình 3.19. Sự thay đổi (a) kích thước và (b) trọng lượng của cá rô đồng tại các thời điểm bắt đầu phơi nhiễm Pb^{2+} , ngày thứ 28 phơi nhiễm và ngày thứ 14 thôi nhiễm	67
Hình 3.20. Hàm lượng Pb^{2+} ở mang, gan và thịt của cá rô đồng (a) Lượng Pb^{2+} được đào thải, (b) Lượng Pb^{2+} tại mang, (c) Lượng Pb^{2+} tại gan và (d) Lượng Pb^{2+} tại thịt ở ngày thứ 28 của giai đoạn phơi nhiễm và ngày thứ 14 của giai đoạn thôi nhiễm .	69
Hình 3.21. Tỷ lệ chết của cá rô đồng sau 96 giờ tiếp xúc với Cd^{2+}	71
Hình 3.22. Ngưỡng độc cấp tính LC_{50} (96 giờ) đối với cá rô đồng.....	72
Hình 3.23. Ảnh hưởng của Cd^{2+} đến sự thay đổi (a) kích thước và (b) trọng lượng của cá rô đồng.....	73
Hình 3.24. Tích lũy Cd^{2+} tại mang, gan và thịt cá rô đồng trong thời gian phơi nhiễm	75
Hình 3.25. Sự phân bố và tích lũy Cd^{2+} trong cá rô đồng đối chứng và phơi nhiễm	80
Hình 3.26. Gan cá đối chứng và gan cá tổn thương sau 28 ngày phơi nhiễm 10Cd.	81
Hình 3.27. Mô học của gan cá đối chứng và gan cá tổn thương sau 28 ngày phơi nhiễm 10Cd	81
Hình 3.28. (a) Sự thay đổi nồng độ cortisol trong huyết tương cá rô đồng đối chứng và cá rô đồng phơi nhiễm Cd^{2+} ; (b) Tỷ lệ thay đổi cortisol trong máu cá rô đồng giữa	

- ngày thứ 28 so với ngày thứ 7 kể từ lúc bắt đầu phơi nhiễm Cd^{2+} và (c) Tỷ lệ tăng cortisol trong máu của cá rô đồng phơi nhiễm Cd^{2+} so với cá đối chứng.....82
- Hình 3.29. (a) Sự thay đổi nồng độ insulin trong máu cá rô đồng đối chứng và cá rô đồng phơi nhiễm Cd^{2+} ; (b) Tỷ lệ thay đổi insulin trong máu cá rô đồng giữa ngày thứ 28 so với ngày thứ 7 kể từ lúc bắt đầu phơi nhiễm Cd^{2+} và (c) Tỷ lệ giảm insulin trong máu của cá rô đồng phơi nhiễm Cd^{2+} so với cá đối chứng85
- Hình 3.30. (a) Sự thay đổi hàm lượng glycogen trong gan cá rô đồng đối chứng và cá rô đồng phơi nhiễm Cd^{2+} ; (b) Tỷ lệ giảm glycogen trong gan cá rô đồng giữa ngày thứ 28 so với ngày thứ 7 kể từ lúc bắt đầu phơi nhiễm Cd^{2+} và (c) Tỷ lệ giảm glycogen trong gan của cá rô đồng phơi nhiễm Cd^{2+} so với cá đối chứng.....87
- Hình 3.31. Sự thay đổi (a) kích thước và (b) trọng lượng của cá rô đồng tại các thời điểm bắt đầu phơi nhiễm và thôi nhiễm Cd^{2+} , ngày thứ 28 phơi nhiễm và ngày thứ 14 thôi nhiễm.....90
- Hình 3.32. Hàm lượng Cd^{2+} ở mang, gan và thịt của cá rô đồng (a) Lượng Cd^{2+} được đào thải, (b) Lượng Cd^{2+} tại mang, (c) Lượng Cd^{2+} tại gan và (d) Lượng Cd^{2+} tại thịt ở ngày thứ 28 của giai đoạn phơi nhiễm và ngày thứ 14 của giai đoạn thôi nhiễm .91

MỞ ĐẦU

Trong quá trình hiện đại hóa, công nghiệp hóa cùng với sự hình thành và phát triển của các khu chế xuất, khu công nghiệp và hàng trăm ngàn cơ sở hóa chất, chế biến trên toàn quốc thì vấn đề ô nhiễm môi trường ngày càng nặng nề hơn, đặc biệt là ô nhiễm kim loại nặng như Chì, Cadimi, Crôm, Niken, ... dẫn đến những hệ lụy về môi trường không mong muốn trong đó không chỉ có đất, nước, trầm tích hay không khí bị tác động mà hiện nay các loài thủy sinh (tôm, cá, các loài nhuyễn thể) không tránh khỏi những tác động này. Những kim loại nặng độc hại khi tồn tại vượt mức cho phép trong nước sẽ xâm nhập và tích tụ trong cơ thể các sinh vật thủy sinh không chỉ gây rối loạn mà có khi còn phá vỡ các chức năng sinh lý bình thường (hô hấp, vận động và điều hòa trao đổi chất), làm suy yếu khả năng sinh sản và sự phát triển của chúng, ảnh hưởng đến sức đề kháng làm chúng dễ bị bệnh và tử vong. Đối với cá việc hấp thụ kim loại nặng từ môi trường sống sẽ thông qua các bộ phận như mang, da, hệ tiêu hóa và kể cả tích lũy các kim loại nặng này ở lại trong các cơ quan như mang, gan, thận và cơ. Việc tiêu thụ các sản phẩm cá bị ô nhiễm kim loại nặng có thể gây nên những nguy hiểm tiềm tàng như ung thư, giảm khả năng đề kháng và nhiều tác động tiêu cực khác đến người tiêu dùng, đặc biệt là đối với trẻ em và phụ nữ có thai.

Chì (Pb) và Cadimi (Cd) được xác định thuộc nhóm các kim loại nặng độc hại gây ra các vấn đề môi trường nghiêm trọng làm phá vỡ sự cân bằng của hệ sinh thái. Các kim loại nặng này không thể bị phân hủy sinh học mà chỉ tích tụ trong cơ thể sống và hầu hết được biết đến như là những chất tiềm ẩn gây ung thư. Do đó sự tích tụ sinh học và sự khuếch đại của các kim loại nặng độc hại này dọc theo chuỗi và lưới thức ăn sẽ gây ra những rủi ro về sức khỏe cho người tiêu thụ thực phẩm. Đối với cá, Pb và Cd có tác động xấu đến sự phát triển, hoạt động chuyển hóa trong gan, thận, cơ và các mô khác. Sự phân bố và tích tụ Pb, Cd giữa các bộ phận của cơ thể khác nhau (mang, đường ruột, gan, thận hay thịt) tùy thuộc vào nguồn ô nhiễm (thức ăn hoặc nước). Mặc dù, đã có nhiều nghiên cứu ghi nhận việc tích tụ Pb và Cd gây bất lợi cho sức khỏe cá, tuy nhiên, các tác động cụ thể của Pb và Cd đối với nhiều chức năng sinh lý vẫn chưa được tìm hiểu và nghiên cứu đầy đủ.

Cá đóng vai trò là chỉ thị sinh học quý giá để theo dõi hệ sinh thái thủy sinh nhờ khả năng chuyển hóa, giải độc và tích tụ kim loại nặng nhanh chóng trong cơ thể, chúng cũng rất nhạy cảm với những thay đổi nhỏ của môi trường, thêm vào đó cá lại là nguồn thức ăn quan trọng đặc biệt là đối với người dân Việt Nam. Do đó việc đánh giá tác động của kim loại nặng nói chung và Pb và Cd nói riêng lên cá là việc làm rất quan trọng. Ngoài ra, kết quả về sự tích tụ sinh học của Pb và Cd trong các mô khác

nhau của cơ thể cá có thể được sử dụng làm chỉ số hiệu quả để đánh giá ô nhiễm Pb và Cd trong nước. Sự thay đổi môi trường sống (ô nhiễm, thay đổi nhiệt độ, ...) sẽ làm gia tăng căng thẳng ở cá, khi bị căng thẳng ở vùng hạ đồi sẽ giải phóng ra những hormone kích thích các tế bào sản xuất cortisol. Khi hàm lượng cortisol tăng cơ thể cá cần sử dụng một lượng glucose nhiều hơn bình thường để đáp ứng những thay đổi này, điều đó dẫn đến việc glycogen ở gan sẽ được huy động và phân giải gây nên thay đổi hàm lượng glycogen ở gan. Mặt khác, khi hàm lượng glucose và glycogen bị rối loạn sẽ gây ảnh hưởng lên hormone insulin ở tuyến tụy. Do đó, việc xác định hàm lượng cortisol trong huyết tương, insulin trong máu và glycogen ở gan được xem như một công cụ quan trọng để đánh giá tác động sinh lý của ô nhiễm môi trường đến sức khỏe của cá. Bên cạnh đó các nghiên cứu về quá trình đào thải Pb và Cd rất quan trọng đối với việc bảo vệ sức khỏe, cho phép xác định khả năng tự làm sạch của cá cũng như các loài thủy sinh khi bị ô nhiễm kim loại.

Cá rô đồng (*Anabas testudineus*) là loài cá vừa có giá trị dinh dưỡng, vừa có giá trị kinh tế cao đối với ngành nuôi trồng thủy sản ở Việt Nam. Tuy nhiên, do chúng thường được nuôi trong ruộng lúa, ao hồ nước đọng (là những nơi dễ bị ô nhiễm kim loại nặng từ phân bón, thuốc trừ sâu, nước thải công nghiệp hay từ quá trình khai thác khoáng sản trong khu vực) nên chúng rất dễ hấp thu kim loại nặng. Mặc dù, cá rô đồng rất quan trọng ở Việt Nam, nhưng những thông tin về tác động của kim loại nặng nói chung và của Pb, Cd nói riêng, đặc biệt các thông tin về sự tích tụ, đào thải và căng thẳng sinh lý lại tương đối ít. Vì vậy, đề tài “**Nghiên cứu quá trình tích lũy, đào thải và ảnh hưởng của Chì (Pb), Cadimi (Cd) đến lượng glycogen, insulin, cortisol trong cá rô đồng (*Anabas testudineus*)**” nhằm mục đích giải quyết các vấn đề sau:

- Tìm ra ngưỡng độc cấp tính (LC_{50} trong 96 giờ) của từng kim loại Pb và Cd đối với cá rô đồng.

- Tìm ra tác động độc hại của Pb và Cd đến sự thay đổi hàm lượng cortisol trong huyết tương, insulin trong máu và glycogen trong gan, đây là những dấu hiệu sinh học quan trọng để đánh giá mức độ căng thẳng sinh lý khi cá phải sống trong môi trường ô nhiễm kim loại nặng.

- Tìm ra quy luật tích tụ Pb và Cd trong các mô (mang, gan, và thịt) của cá rô đồng. Ngoài ra, khả năng tự làm sạch của cá rô đồng đã phơi nhiễm Pb và Cd cũng được theo dõi dựa trên tỷ lệ đào thải của các kim loại này nhằm cung cấp thông tin cho các hoạt động nuôi cá, đảm bảo nguồn thực phẩm an toàn và giảm thiểu rủi ro cho sức khỏe của con người.

Nội dung nghiên cứu của luận án:

1. Nghiên cứu độc cấp tính trong 96 giờ (LC₅₀ 96 giờ) của Pb và Cd đối với cá rô đồng (*Anabas testudineus*).
2. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của Pb, Cd đối với quá trình tích lũy và đào thải Pb, Cd ở mang, gan và thịt của cá rô đồng;
3. Tác động độc tính bán trường diễn của Pb, Cd đến sự thay đổi hàm lượng cortisol trong huyết tương, insulin trong máu và glycogen ở gan của cá rô đồng.

Ý nghĩa khoa học: Kết quả nghiên cứu của luận án sẽ thiết lập một nền tảng cho các nghiên cứu về sinh thái và độc chất môi trường bao gồm tác động của chất ô nhiễm lên cá rô đồng và việc sử dụng các dấu ấn sinh học để đánh giá tác động tiềm ẩn của các chất ô nhiễm đối với sức khỏe con người.

Ý nghĩa thực tiễn: Kết quả nghiên cứu của luận án có thể cung cấp cơ sở khoa học cho nhà quản lý trong việc định hướng sử dụng chuỗi thực phẩm theo hướng an toàn, đồng thời sử dụng các dấu hiệu sinh học như một công cụ hữu ích để giám sát ô nhiễm môi trường và cảnh báo những nguy cơ lan truyền kim loại nặng lên chuỗi thực phẩm.

Đóng góp mới

- Đã tìm được ngưỡng độc tính cấp của Pb và Cd đối với cá rô đồng, LC₅₀ 96 giờ của Pb là 120 mg/L và Cd là 38 mg/L.
- Đã tìm được quy luật tích lũy Pb và Cd đối với cá rô đồng sau 28 ngày phơi nhiễm, trong đó, thứ tự tích lũy Pb là Mang >> Gan > Thịt và thứ tự tích lũy Cd là Gan >> Mang > Thịt.
- Đã tìm được quy luật đào thải Pb và đối với cá rô đồng sau 14 ngày sống trong nước sạch, trong đó, thứ tự đào thải Pb là Mang > Gan > Thịt và thứ tự đào thải Cd là Gan >> Mang > Thịt.
- Thông qua các biểu hiện rối loạn sản xuất cortisol, insulin và phân hủy glycogen gan đã tìm ra tác động của Pb và Cd đến hoạt động của trục hạ đồi – tuyến yên – tuyến liên thận (trục HPI), tuyến tụy và chức năng gan của cá rô đồng phơi nhiễm Pb và Cd.

Chương 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

1.1. KHOA HỌC VỀ ĐỘC CHẤT HỌC MÔI TRƯỜNG

Độc chất học môi trường là một lĩnh vực khoa học đa ngành liên quan đến các nghiên cứu về các đặc tính của độc tố và đánh giá các mối nguy hại của nhiều tác nhân hóa học, sinh học và vật lý lên các sinh vật sống và hệ sinh thái cũng như phát triển các chiến lược để giảm thiểu và làm dịu những tác động này. Các nguồn chính gây ra chất độc trong môi trường thường là các hoạt động công nghiệp, nông nghiệp, giao thông vận tải, ... Tác động của những độc chất lên sinh vật thủy sinh có thể được đánh giá bằng các thử nghiệm độc tính.

1.1.1. Phân loại thử nghiệm độc tính

Thử nghiệm độc tính rất đa dạng bao gồm các thử nghiệm độc cấp tính (acute), độc tính bán trường diễn (subchronic), độc tính trường diễn (chronic). Mục đích của thử nghiệm độc tính là để xác định các tác động có hại tiềm ẩn của một hóa chất hoặc sản phẩm đối với các chức năng sinh học trong cơ thể sinh vật, bao gồm các tác động gây chết và dưới mức gây chết [1-3].

Thử nghiệm độc cấp tính: Thời gian tiếp xúc ngắn, thường kéo dài từ 24 đến 96 giờ, chủ yếu tập trung vào các tác động tức thời và nghiêm trọng như tử vong (được đo bằng liều gây chết 50 % ký hiệu: LD₅₀ hoặc LC₅₀) và các dấu hiệu ngộ độc có thể quan sát được. Thử nghiệm này nhằm cung cấp thông tin ban đầu về mối nguy tiềm ẩn của một chất từ các lần tiếp xúc đơn lẻ hoặc ngắn.

Thử nghiệm độc tính bán trường diễn: Tiếp xúc lặp đi lặp lại trong thời gian trung hạn, thường là từ 28 đến 90 ngày. Đây là giai đoạn nằm giữa độc cấp tính và độc trường diễn, được thiết kế để nhằm xác định các tác động độc hại tiềm ẩn có thể không rõ ràng trong các xét nghiệm cấp tính nhưng có thể trở nên đáng kể khi tiếp xúc nhiều lần. Nó điều tra các tác động độc hại phụ thuộc vào liều lượng, độc tính đối với cơ quan đích và khả năng đảo ngược của các tác dụng phụ.

Thử nghiệm độc tính trường diễn: Tập trung vào việc tiếp xúc kéo dài, thường kéo dài 12 tháng trở lên. Được thiết kế để đánh giá các tác động lâu dài và tích lũy của một chất bao gồm ung thư, độc tính sinh sản và độc tính phát triển. Nó cũng đánh giá các tác động không gây tử vong như giảm tăng trưởng hoặc sinh sản.

Điểm khác biệt chính giữa các loại thử nghiệm độc tính này nằm ở thời gian tiếp xúc. Các thử nghiệm độc cấp tính đánh giá các tác động tức thời, trong khi các thử nghiệm độc tính bán trường diễn và độc tính trường diễn cung cấp thông tin ngày càng toàn diện về các hậu quả tiềm ẩn lâu dài của việc tiếp xúc với chất độc hại.

1.1.2. Độc tính thủy sinh

Độc tính đối với thủy sinh được định nghĩa là nghiên cứu về tác động của một chất hóa học đối với các loài thủy sinh, thường được xác định trên các sinh vật đại diện cho ba bậc dinh dưỡng, tức là động vật có xương sống (cá), động vật không xương sống (giáp xác như Daphnia, tôm, cua, ...) và thực vật (tảo, thực vật thủy sinh,...) [4, 5].

Đối với cá, thử nghiệm *độc cấp tính* của một chất là xác định nồng độ gây chết 50 % cá thí nghiệm (LC₅₀) trong 96 giờ, đây là phép đo tác động có hại tức thời của chất đó đối với cá. Các thử nghiệm này thường liên quan đến việc cho cá tiếp xúc với một loạt nồng độ chất và quan sát tỷ lệ tử vong của chúng trong khoảng thời gian 96 giờ. Giá trị LC₅₀ càng thấp cho biết chất đó càng độc đối với cá, vì chỉ cần nồng độ nhỏ để giết chết 50 % quần thể thử nghiệm. Giá trị LC₅₀ rất quan trọng trong đánh giá rủi ro môi trường đối với các loài thủy sinh và được sử dụng trong các quy định liên quan đến chất gây ô nhiễm nước mặt.

Các thử nghiệm *độc tính trường diễn* hay *độc tính bán trường diễn* (28 ngày) đối với cá là đo lường tác động của việc tiếp xúc lâu dài với nồng độ hóa chất thấp hơn so với nồng độ thử nghiệm cấp tính. Các thử nghiệm này tập trung vào các tác động dưới ngưỡng gây chết như sinh sản và tăng trưởng, ngoài mức độ gây chết. Phơi nhiễm lâu dài với các hóa chất có thể dẫn đến tác động bất lợi hoặc không bất lợi. Một số thuật ngữ được sử dụng trong thử nghiệm độc tính trường diễn:

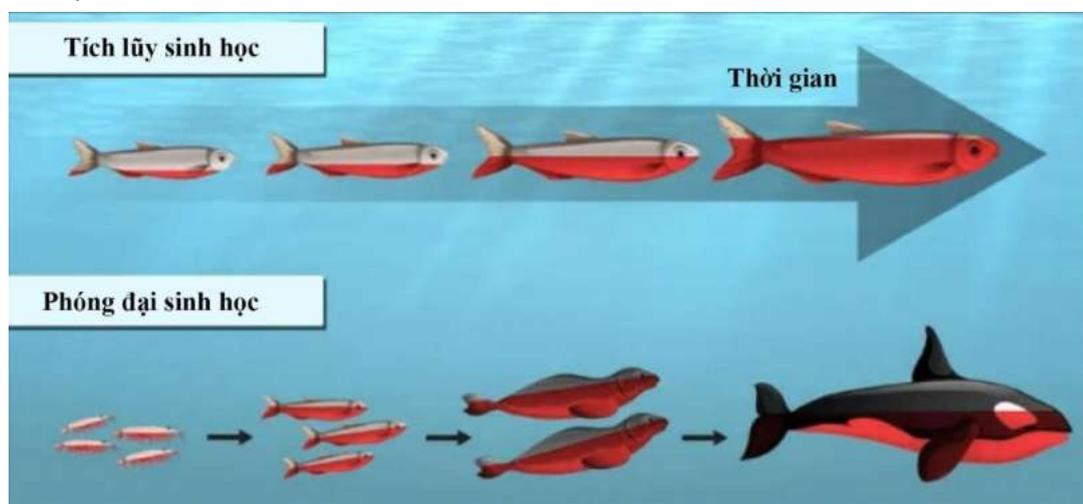
- NOEC (Nồng độ không quan sát thấy tác động): Nồng độ cao nhất của một chất trong thử nghiệm độc tính không cho thấy tác động có ý nghĩa thống kê nào đối với các sinh vật tiếp xúc so với nhóm đối chứng.
- NOAEL (Mức không quan sát thấy tác động bất lợi): Mức cao nhất của một chất hoặc tác nhân gây căng thẳng được đánh giá trong thử nghiệm không gây ra tác động bất lợi có ý nghĩa thống kê.
- LOAEL (Mức tác động bất lợi thấp nhất được quan sát thấy): Mức thấp nhất của một chất hoặc tác nhân gây căng thẳng được đánh giá trong thử nghiệm gây ra tác động bất lợi có ý nghĩa thống kê.

1.1.3. Tích tụ sinh học và phóng đại sinh học

Tích tụ sinh học (bioaccumulation) và phóng đại sinh học (biomagnification) đều là những quá trình mà độc tố tăng nồng độ trong cơ thể sinh vật, nhưng chúng khác nhau về phạm vi. Tích tụ sinh học đề cập đến sự tích tụ của một chất trong một cơ thể duy nhất theo thời gian, trong khi phóng đại sinh học là sự gia tăng nồng độ của một chất khi nó di chuyển lên chuỗi thức ăn thông qua các bậc dinh dưỡng khác nhau. Hình 1.1 trình bày sự khác nhau giữa tích tụ sinh học và phóng đại sinh học.

- Tích tụ sinh học xảy ra trong cơ thể sinh vật, trong đó nồng độ của một chất (chẳng hạn như độc tố) tích tụ trong các mô của cơ thể sinh vật theo thời gian. Sinh vật hấp thụ độc tố từ môi trường bên ngoài (nước, không khí, ...) nhanh hơn tốc độ chúng có thể đào thải, dẫn đến nồng độ trong cơ thể chúng tăng dần.

- Phóng đại sinh học xảy ra khi nồng độ của một chất ngày càng tăng trong các mô của các sinh vật ở các bậc dinh dưỡng cao hơn trong chuỗi thức ăn. Khi động vật ăn thịt tiêu thụ con mồi, nó không chỉ ăn vào các mô của con mồi mà còn ăn cả chất độc đã tích tụ trong các mô đó. Điều này thường xảy ra nếu chất độc dai dẳng, không dễ chuyển hóa hoặc bài tiết, nghĩa là nó không thể hoặc rất chậm bị phân hủy bởi các quá trình tự nhiên. Những chất độc dai dẳng này trở nên cô đặc hơn trong cơ thể động vật ăn thịt bởi vì chúng được chuyển lên chuỗi thức ăn nhanh hơn tốc độ chúng bị phân hủy hoặc bài tiết [6].



Hình 1.1. Sự khác nhau giữa tích tụ sinh học và phóng đại sinh học [6]

1.1.4. Sự xâm nhập và đường đi của độc tố trong cơ thể cá

1.1.4.1. Sự xâm nhập của chất độc

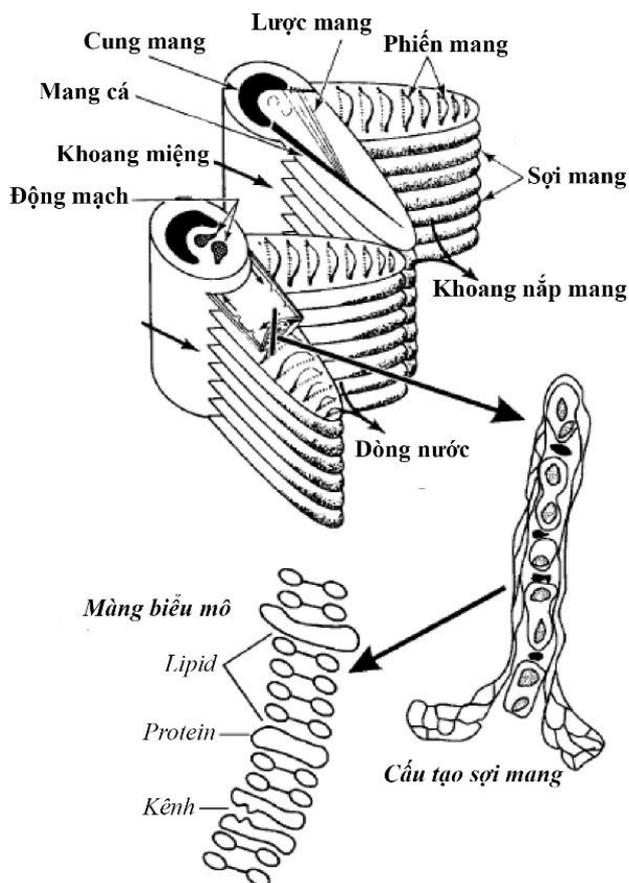
Các chất độc hại phổ biến có trong cá bao gồm kim loại nặng (Thủy ngân - Hg, Chì - Pb, Cadimi - Cd, Arsen - As, ...), chất ô nhiễm hữu cơ khó phân hủy (PCB, dioxin, thuốc trừ sâu có clo, các vi nhựa, ...). Nguồn gốc của các chất độc này là từ chất thải công nghiệp và đô thị (chất thải từ các nhà máy, nhà máy xử lý nước thải, ...), nước thải nông nghiệp (phân bón và thuốc trừ sâu), lắng đọng trong khí quyển (đốt nhiên liệu hóa thạch), tai nạn hoặc xử lý các chất độc hại không đúng cách. Đáng chú ý là mức độ độc của các loại độc tố trong cá có thể thay đổi tùy thuộc vào các yếu tố như loại độc tố, loài cá, độ tuổi của cá và vị trí mà độc tố đó tích tụ. Các chất độc có thể xâm nhập vào cá qua nhiều con đường khác nhau như xâm nhập qua mang, da và chuỗi thức ăn.

Xâm nhập qua mang: Trong quá trình cá hô hấp nước được đưa qua mang, nhờ sở hữu diện tích bề mặt lớn và màng mỏng nên mang cá có chức năng trao đổi khí giúp cá hấp thụ oxy từ nước và thải ra CO₂. Do đó, trong quá trình hô hấp không những cá hấp thụ oxy hòa tan cần thiết cho hoạt động sống của cơ thể mà còn hấp thụ cả các hóa chất độc hại có trong nước, gồm kim loại nặng và các chất ô nhiễm khác.

Mang là bộ phận quan trọng của cá chịu trách nhiệm hô hấp để duy trì sự sống và điều chỉnh chất điện giải để các chất hòa tan đi vào thông qua con đường khuếch tán hoặc điều chỉnh ion. Mang cá hấp thụ oxy hiệu quả là do sở hữu cấu trúc chuyên biệt và cơ chế dòng chảy song song và ngược chiều. Cơ chế dòng chảy ngược là quá trình máu chảy qua các phiến mang theo hướng ngược lại so với dòng nước chảy qua mang. Cấu tạo mang cá được Hughes và Shelton mô tả như trên Hình 1.2.

Các bộ phận quan trọng của mang cá bao gồm cung mang, sợi mang và phiến mang. Cung mang giống như một khung xương hỗ trợ cấu trúc cho mang. Sợi mang là những cấu trúc mỏng, giống như sợi chỉ giúp tăng diện tích bề mặt trao đổi khí và mỗi sợi mang chứa một mạng lưới mao mạch. Phiến mang là những tấm dẹt nằm trên các sợi mang, giúp tối đa hóa diện tích bề mặt trao đổi khí. Các phiến mang là nơi trao đổi khí chính, nơi máu và nước tương tác. Sự kết hợp giữa diện tích bề mặt lớn (nhờ cấu trúc phức tạp của các sợi và phiến mang) và cơ chế dòng chảy ngược hiệu quả cho phép cá chiết xuất một tỷ lệ lớn oxy hòa tan từ nước và loại bỏ CO₂, điều này đặc biệt quan trọng vì nước có nồng độ oxy thấp hơn so với không khí.

Bề mặt mang cá bao gồm tế bào biểu mô và lớp kép lipid. Tế bào biểu mô bao phủ bề mặt mang, kiểm soát chuyển động của các chất thông qua con đường gian bào (giữa các tế bào), các tế bào này được nối với nhau bằng các mối nối chặt, có thể điều chỉnh chuyển động này. Mức độ viêm có thể ảnh hưởng đến tính toàn vẹn của các mối nối chặt này, làm tăng tính thấm gian bào, có nhiều loại tế bào biểu mô khác nhau, bao gồm các tế bào lát chịu trách nhiệm trao đổi khí, các tế bào clorua tham gia vào quá trình điều hòa thẩm thấu và tế bào nhầy [7]. Màng ngoài của các tế bào biểu mô được cấu tạo từ một lớp kép lipid, lớp kép này cung cấp một rào cản có tính thẩm chọn lọc, kiểm soát sự di chuyển của các chất vào và ra khỏi tế bào. Thành phần của lớp kép lipid là phospholipid, glycolipid và cholesterol, đầu ngoài ưa nước của các lipid này chứa các nitrogen bases. Các nitrogen bases này ở đầu ưa nước của lipid hoạt động như các phối tử có thể liên kết các cation, đặc biệt là các kim loại vết. Các nghiên cứu về lớp kép lipid đã chỉ ra rằng các nitrogen bases, như adenine và guanine, có thể tương tác với lõi kỵ nước của phospholipid và tạo điều kiện liên kết các cation. Cụ thể, các nguyên tử N7 và O6 của guanine là các vị trí liên kết cation đặc biệt hiệu quả [7].



Hình 1.2. Cấu trúc mang cá từ mô đến cấp độ phân tử
(Hughes và Shelton, 1962 [8])

Chất nhầy được tiết ra từ mang cá có hàm lượng glycoprotein phong phú và tạo thành một polyanionic có khả năng liên kết với một số kim loại vết. Ion hydrogen (H^+) và một số kim loại đã được chứng minh là cạnh tranh với ion Calci (Ca^{2+}) để giành các phối tử ở bề mặt mang. Do Calci có chức năng duy trì tính toàn vẹn của các mối nối tế bào trong biểu mô mang, và sự suy giảm của nó có thể làm tăng tính thấm với nước và chất điện giải.

Xâm nhập qua da: Mặc dù tầm quan trọng của con đường này khác nhau giữa các loài cá, tuy nhiên một số độc tố cũng có thể được hấp thụ trực tiếp qua da của cá sống trong nước bị ô nhiễm.

Xâm nhập qua chuỗi thức ăn: Cá có thể ăn phải chất độc bằng cách tiêu thụ các sinh vật nhỏ hơn đã tích tụ các chất độc đó. Sinh vật nhỏ hơn bao gồm vi khuẩn chuyển hóa thủy ngân, sinh vật phù du tiêu thụ vi khuẩn bị ô nhiễm, sinh vật sống ở đáy trong trầm tích bị ô nhiễm hay cá nhỏ hơn đã tiêu thụ con mồi bị ô nhiễm.

1.1.4.2. Đường đi của chất độc trong cá sau khi xâm nhập

Sau khi xâm nhập vào cơ thể, độc tố trong cá đi theo một con đường bao gồm phân phối, chuyển hóa sinh học và đào thải, với sự tích tụ đáng kể trong các mô và

cơ quan cụ thể. Sự thành công của quá trình giải độc phụ thuộc vào khả năng chuyên hóa và bài tiết độc tố hiệu quả của cá.

a. Vận chuyển, phân phối và tích tụ: Qua hệ thống máu và bạch huyết, các độc tố được vận chuyển khắp cơ thể đến các cơ quan khác nhau như gan, thận và cơ. Các độc tố như PCB, DDT, dioxin và kim loại nặng là những chất tồn tại dai dẳng và không dễ đào thải sẽ tích tụ sinh học trong các mô như cơ, mỡ và các cơ quan nội tạng. Các nghiên cứu cho thấy Hg tích tụ trong mang, ruột và não trong khi As vô cơ tích tụ nhiều trong gan [9]. Pb ưu tiên liên kết với các mô giàu Calci như xương và mang trong khi Cadimi tích tụ chủ yếu ở gan và thận [10]. Kim loại nặng có thể tích tụ trong mô cá ở mức cao hơn nồng độ trong môi trường. Tích tụ kim loại nặng có thể dẫn đến nhiều tác động tiêu cực khác nhau đến sức khỏe của cá, bao gồm tổn thương nội tạng, suy giảm khả năng sinh sản và thay đổi hành vi.

b. Giải độc và đào thải: Ở cá, quá trình giải độc và quá trình đào thải là những quá trình quan trọng liên quan đến nhiều cơ quan hoạt động cùng nhau để loại bỏ các độc tố và chất thải. Các cơ quan chính tham gia vào quá trình giải độc và đào thải là mang, thận và gan.

- Gan của cá là cơ quan giải độc chính của cá, cơ chế giải độc ở gan chủ yếu liên quan đến chuyển hóa sinh học. Trong quá trình chuyển hóa sinh học một số độc tố có thể được chuyển đổi thành các chất trung gian ít độc hại hơn, dễ hòa tan trong nước hơn và có thể dễ dàng bài tiết hơn. Quá trình chuyển hóa sinh học của As vô cơ thành Arsenobetaine được coi là một cách để loại bỏ độc tính của As trong gan cá [11]. Ngoài ra, cá có thể tổng hợp MTs, một loại protein liên kết kim loại có thể cô lập các kim loại nặng như Cadimi, làm giảm độc tính của chúng. Được biết, nhiều loại enzyme trong gan có thể chuyển hóa độc tố thông qua các quá trình như oxy hóa, khử, thủy phân và liên hợp. Đầu tiên, các enzyme như CYP thực hiện các phản ứng oxy hóa, khử và thủy phân để đưa các nhóm chức năng vào các độc tố từ đó tăng độ hòa tan trong nước [12]. Tiếp theo, các chất chuyển hóa ở giai đoạn đầu hoặc độc tố ban đầu được liên hợp với các phân tử nội sinh như acid glucuronic, glutathione hoặc sulfat. Sự liên hợp này làm tăng thêm độ hòa tan trong nước của các độc tố, giúp dễ bài tiết hơn [13].

- Cá có thể đào thải các độc tố đã chuyển hóa thông qua mang hoặc thận. Tuy nhiên, hiệu quả đào thải qua mang hoặc thận có thể khác nhau tùy thuộc vào tính chất của độc tố và loài cá.

1.2. TỔNG QUAN VỀ KIM LOẠI NẶNG (CHÌ, CADIMI) VÀ ĐỘC TÍNH

Các loại kim loại nặng phổ biến hoặc được biết đến nhiều nhất bao gồm Chì (Pb), Cadimi (Cd), Arsen (As), Đồng (Cu), Kẽm (Zn), Niken (Ni), Crom (Cr) và

Nhôm (Al). Tất cả các loại này đều gây ra những rủi ro nhất định đối với sức khỏe các sinh vật sống và môi trường. Bởi vì không thể phân hủy sinh học và sở hữu đặc tính tích tụ sinh học do đó nồng độ của kim loại nặng trong môi trường tăng đều đặn và tích tụ trong cơ thể sinh vật [14]. Cá là loài đứng đầu chuỗi thức ăn dưới nước phù hợp cho các nghiên cứu về độc tính và độc tố di truyền. Chúng cực kỳ nhạy cảm với sự thay đổi về môi trường, điều này khiến chúng trở thành các chỉ thị sinh học phù hợp để theo dõi các hệ sinh thái dưới nước, vì chúng chuyển hóa, giải độc và tích tụ hiệu quả các kim loại độc hại trong cơ thể. Khi kim loại độc có thể xâm nhập vào cơ thể cá thông qua quá trình ăn uống, hấp thụ nước để hô hấp hoặc trao đổi ion qua màng bán thấm tại mang, dẫn đến sự tích tụ của chúng trong nhiều mô khác nhau trên khắp cơ thể [15]. Các tác động độc hại của kim loại nặng đối với cá là đa hướng và biểu hiện bằng nhiều thay đổi trong các quá trình sinh lý và hóa học của hệ thống cơ thể chúng [14, 16]. Kim loại được phân loại thành các nguyên tố vi lượng thiết yếu và không thiết yếu dựa trên vai trò của chúng trong quá trình trao đổi chất của sinh vật. Chì và Cadimi là hai trong bốn kim loại không thiết yếu và độc hại nhất đối với môi trường ngay cả ở nồng độ thấp [17].

1.2.1. Chì (Pb)

1.2.1.1. Đặc điểm và nguồn gây ô nhiễm chì

Pb là kim loại thuộc nhóm IVB của bảng tuần hoàn, rất nặng, mềm, dễ uốn và có màu xám xanh. Kim loại này có khối lượng nguyên tử là 207, điểm nóng chảy là 327°C và điểm sôi là 620°C [8]. Pb là một thành phần tự nhiên của lớp vỏ trái đất và thường được tìm thấy ở dạng vết, trong nước mặt hàm lượng Pb được ước tính là 0,02 µg/L và hiếm khi vượt quá vài µg/L. Mặc dù Pb có mặt ở khắp mọi nơi trong môi trường nước nhưng mức độ ô nhiễm Pb cao chủ yếu đến từ các hoạt động của con người [14, 18].

Nhờ có sự kết hợp giữa các tính chất vật lý và hóa học nên Pb cực kỳ hữu ích trong công nghiệp [14]. Các nguồn gây ô nhiễm Pb bao gồm công nghiệp khai thác Pb, nhà máy mạ và luyện kim, nhà máy sản xuất pin, sản xuất vũ khí, sản xuất sơn, hoạt động đánh bắt cá, hóa chất nông nghiệp và cơ sở hạ tầng Pb cũ như hệ thống ống nước và sơn cũ [14, 19].

1.2.1.2. Tác động độc hại của Pb đối với cá

Pb là nguyên tố không thiết yếu và không có vai trò trao đổi chất trong các cộng đồng sinh vật của chu trình sinh thái. Pb được tìm thấy trong mô cơ của cá ở những khu vực có nhiều hoạt động nông nghiệp, công nghiệp và nước thải đô thị chưa qua xử lý [19]. Nhiều nghiên cứu cho thấy, nồng độ Pb gây chết cá là 10 – 100 mg/L và cá sẽ có những thay đổi về hành vi, chậm phát triển khi tiếp xúc với Pb ở nồng độ

dưới ngưỡng gây chết [16]. Tác động độc hại của Pb đối với cá là rất đa dạng như biến đổi mô học bao gồm dấu hiệu hoại tử tế bào nhu mô, xẹp mạch máu, xơ hóa dây gan và mô liên kết, mất khả năng tăng trưởng và trọng lượng cơ thể cũng được tìm thấy ở cá tiếp xúc với Pb [16]. Pb gây tổn thương hệ thần kinh trung ương, hệ thần kinh ngoại biên, hệ thống tạo máu, hệ thống tim mạch và các cơ quan như gan, thận. Ion Pb^{2+} kích thích Calmodulin để giải phóng các chất dẫn truyền thần kinh trong tế bào thần kinh [20]. Calmodulin là một protein liên kết Calci phổ biến được tìm thấy trong tất cả các tế bào nhân chuẩn. Calci một ion quan trọng để giải phóng và điều hòa chất dẫn truyền thần kinh, Pb cạnh tranh với Calci bằng cách liên kết với hệ thống vận chuyển Calci của hệ thần kinh, từ đó gây ra ảnh hưởng đến quá trình dẫn truyền thần kinh [18]. Hành vi tăng động nghiêm trọng kèm theo thở gấp ở cá cũng được báo cáo là do tổn thương thần kinh bởi Pb và tiếp xúc lâu dài với Pb gây độc cho hệ thần kinh trung ương, cũng gây tổn thương não, dẫn đến rối loạn chức năng nhận thức và hành vi. Rice và cộng sự (2011) đã báo cáo rằng vận tốc quay đầu và thời gian bơi ở cá ngựa vẫn tiếp xúc với Pb giảm khi nồng độ Pb tăng và số lượng cá ngựa vẫn không có phản ứng giật mình cũng tăng [21]. Pb cũng gây ra tình trạng hạ Calci máu bằng cách can thiệp vào hoạt động của các tế bào ion trong biểu mô mang cá. Ái lực cao của Pb với Ca^{2+} ATP, chất trao đổi Na^+/Ca^{2+} và Na^+/K^+ ATP cao đã gây phá vỡ gradient điện hóa và điều hòa ion, phơi nhiễm Pb lâu dài cũng gây ra rối loạn điều hòa ion ảnh hưởng đến cân bằng Ca^{2+} , K^+ và Na^+ [18].

Ngoài ra, Pb cũng làm mất cân bằng giữa các chất oxy hóa và chất chống oxy hóa, gây ra căng thẳng oxy hóa và ngộ độc Pb [18]. Căng thẳng oxy hóa xảy ra là do sự mất cân bằng giữa quá trình tạo ra chất oxy hóa và chất chống oxy hóa. Nhiều nghiên cứu *in vivo* đã chỉ ra rằng việc tiếp xúc với Pb có thể gây ra sự gia tăng các gốc oxy tự do (ROS) như hydrogen peroxide, gốc superoxide và gốc hydroxyl. Hydrogen peroxide được chuyển đổi thành gốc hydroxyl thông qua phản ứng Fenton gây tổn thương protein, tổn thương DNA/RNA và peroxy hóa lipid [18].

1.2.1.3. Tích tụ Pb trong cá

Pb không chỉ tác động đến khả năng vận động ở cá mà còn tích tụ sinh học, chủ yếu ảnh hưởng đến gan, lá lách, thận và mang. Pb là một trong những kim loại độc tích tụ nhiều nhất do đặc tính dễ liên kết với các nguyên tử oxy và lưu huỳnh trong protein để tạo thành một phức hợp ổn định [18]. Nhiều nghiên cứu đã ghi nhận thức ăn chứa Pb gây ra sự tích tụ đáng kể trong các mô cụ thể như thận, gan, lá lách, ruột và mang cá mú đá non (*Sebastes schlegelii*) và cá bơn sao (*Platichthys stellatus*). Ở cá bơn sao ngoại trừ não và cơ ít bị ảnh hưởng, còn lại các mô khác đều có sự tích lũy Pb (60 mg/kg) sau 04 tuần phơi nhiễm lần lượt là ruột > thận > gan > lách = mang

> cơ > não. Sau 02 tuần thôi nhiễm, hàm lượng glucose ở nhóm cá đã từng phơi nhiễm Pb 60 mg/kg và lượng protein tổng số ở nhóm cá đã từng phơi nhiễm Pb 120 mg/kg phục hồi về mức ban đầu. Tỷ lệ hồi phục cao nhất được ghi nhận ở não (85,0 %) và thấp nhất ở mang (49,1 %). Với cá mú đá non sau 04 tuần phơi nhiễm Pb qua khẩu phần ăn thì sự tích lũy Pb ở các mô lần lượt là thận > gan > lách > ruột > mang > cơ. Khi hàm lượng Pb từ 60 mg/kg thì số lượng RBC, giá trị Ht, Hb, protein tổng số đều giảm trong khi hàm lượng glucose, cholesterol, GOT và GPT lại tăng [22, 23]. Theo Kim và Kang (2014), kim loại tích tụ tương đối cao tại mang cá nước ngọt, điều này là do cá nước ngọt chủ động vận chuyển các ion kim loại qua các tế bào ion trong mang để duy trì các ion trong cơ thể [24]. Gan và thận cũng là các mô mục tiêu của Pb và việc tiếp xúc lâu dài với Pb gây ra sự tích tụ cao trong các mô này. Sự tích tụ Pb cao nhất trong gan và thận đối với cá tiếp xúc với lâu dài với Pb có thể là do chức năng giải độc và loại bỏ các chất độc của các cơ quan này [18]. Sự tích tụ Pb trong cơ được báo cáo là rất thấp so với các mô khác. Sự tích tụ trong các mô cơ (thịt) của cá là một chỉ số rất quan trọng về an toàn thực phẩm, vì đây là mô mà con người thường xuyên ăn vào nhất. Sự tích tụ Pb trong cơ được báo cáo là rất thấp so với các mô khác. Nhìn chung, sự tích tụ Pb cao hơn đã được quan sát thấy ở các cơ quan hoạt động trao đổi chất nhiều hơn [18].

1.2.2. Cadimi (Cd)

1.2.2.1. Đặc điểm và nguồn gây ô nhiễm Cd

Cd là một nguyên tố độc sinh học và không thiết yếu, thuộc nhóm IIB của bảng tuần hoàn với khối lượng nguyên tử là 112, nhiệt độ nóng chảy là 321°C và nhiệt độ sôi là 767°C. Cd là một nguyên tố tinh khiết mềm có hoạt động vừa phải. Các hợp chất của Cd nhìn chung là rất độc hại, trong đó Cadmium oxide độc hại hơn Cadmium sulfua [19].

Vỏ Trái Đất rất giàu Cd, thường được tìm thấy kết hợp với quặng đồng, kẽm và chì [25]. Nồng độ Cd trong nước biển vào khoảng 0,001 µg/L và các vùng ven bờ là 0,1 – 1,0 µg/L [26], còn với nước mặt và nước ngầm, nồng độ Cd rất thấp < 1,0 µg/L, tuy nhiên ở vùng nước mặt bị ô nhiễm nồng độ Cd có thể tăng lên tới từ 2,0 đến 3,0 µg/L hoặc cao hơn [17]. Nguồn gây ô nhiễm Cd bao gồm mạ điện, khai thác, ổn định nhựa, hợp kim, xi măng, chất tạo màu, sản xuất pin, việc đốt nhiên liệu hóa thạch, phân bón có hàm lượng phosphate cao, bùn thải đô thị và nước thải [25]. Một số quá trình tự nhiên bao gồm phong hóa đá, phun trào núi lửa, bụi gió, cháy rừng và xói mòn là những yếu tố chính góp phần gây ô nhiễm Cd môi trường. Theo báo cáo của Chương trình Môi trường Liên hợp quốc (UNEP), lượng Cd thải ra môi trường hàng năm là từ 150 đến 2600 tấn [25].

1.2.2.2. Tác động độc hại của Cd đối với cá

Tác động độc hại của Cd đối với cá có thể xuất hiện theo nhiều cách khác nhau bao gồm sự phát triển phôi cá, điều hòa cân bằng ion, chuyển hóa năng lượng, tăng trưởng, phản ứng với căng thẳng và khả năng miễn dịch.

Cd đã gây rối loạn chức năng của một số cơ quan quan trọng (mang, gan và thận), ảnh hưởng đến sinh lý và cản trở sự phát triển của cá [15]. Ngoài ra, Cd làm thay đổi các chỉ số huyết học bằng cách làm rối loạn quá trình chuyển hóa sắt và tạo ra tình trạng thiếu máu. Cd gây ức chế các enzyme chống oxy hóa, gây ra quá trình peroxy hóa lipid ở động vật. Tác động gây hại của Cd lên khả năng sinh sản của cá cũng đã được báo cáo [16]. Cá gặp khó khăn trong quá trình sinh sản do hình dạng trứng bất thường, nang trứng không đầy, co rút, ngưng tụ tế bào chất, và chỉ số sinh dục thấp hơn. Ngoài ra các tác động xấu khác của Cd như co thắt các tiểu thùy tinh trong tinh hoàn, gây xơ hóa ở tinh hoàn, giảm khả năng vận động và sức sống của tinh trùng, ... [15, 16].

Ở nồng độ thấp, Cd làm suy yếu các chức năng sinh hóa, sinh lý, rối loạn điều hòa thẩm thấu và ion, tổn thương tế bào và thay đổi hoạt động của enzyme ở cá. Tiếp xúc lâu dài với Cd, chức năng của thận và gan có thể bị rối loạn, dẫn đến ức chế tăng trưởng, căng thẳng oxy hóa, tổn thương miễn dịch và thậm chí tử vong [27]. Mặt khác, Cd có thể ảnh hưởng đến các tín hiệu trục hạ đồi – tuyến yên – liên thận (trục HPI) ở cá, dẫn đến rối loạn nội tiết [17]. Phơi nhiễm với Cd có thể gây rối loạn thẩm thấu đối với cá nước mặn, do cá liên tục tiêu thụ nước biển để duy trì cân bằng nội môi ở độ thẩm thấu cao trong môi trường. Đối với cá nước ngọt, phơi nhiễm Cd có thể gây ra ức chế sự hấp thụ Calci tại mang [28].

Ngoài ra, Cd cũng liên kết với MTs để tạo thành phức Cd-MTs. Phức này tồn tại một thời gian dài trong cơ thể dẫn đến tổn thương và rối loạn chức năng của các bộ phận trong cơ thể [26]. Là một kim loại không có tính oxy hóa khử, Cd có thể trực tiếp tạo ra ROS hoặc gián tiếp bằng cách tăng tính khả dụng của Fe tự do (một kim loại có hoạt tính oxy hóa khử), gây ra căng thẳng oxy hóa thông qua phản ứng Fenton [26]. Ngoài ra, Cd cũng gây dịch chuyển Cu khỏi vị trí liên kết, làm tăng khả năng phân ly H₂O₂ qua phản ứng Fenton. Cd có thể cản trở các enzyme sulfhydryl và tương tác với các phối tử tế bào khác, do đó phá vỡ các con đường phosphoryl hóa oxy hóa. Mặt khác, Cd có thể gây suy yếu chức năng tế bào và cân bằng nội môi bằng cách can thiệp vào các quá trình vận chuyển qua màng tế bào và biểu mô. Cd cũng có thể gây ra biểu hiện gen mục tiêu bằng cách kích hoạt protein kinase tế bào và phosphoryl hóa nhiều yếu tố phiên mã [26].

1.2.2.3. Tích tụ Cd trong cá

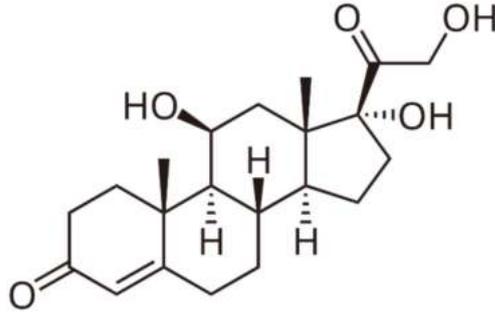
Sự tích tụ sinh học của Cd trong cá bị ảnh hưởng bởi dạng hóa học của Cd trong nước như phức hợp hoặc các ion vô cơ hòa tan. Cd trong nước khuếch tán thụ động vào cơ thể cá và đến các tế bào bên trong mang thông qua chất vận chuyển kim loại hóa trị hai và kênh Ca^{2+} biểu mô nằm trong biểu mô mang. Bởi vì Cd có kích thước và điện tích tương tự như Calci (Ca^{2+}) nên Cd có thể bắt chước Calci và sử dụng các kênh này để đi vào trong tế bào mang. Tích tụ sinh học của các ion Cd tại mang cao là do liên kết không đặc hiệu giữa Cd với mucopolysaccharides (một loại glycoprotein) thành phần của mucoprotein có bên ngoài mang [17]. Cd ra khỏi tế bào mang qua kênh Ca^{2+} -ATP ái lực cao và kênh trao đổi $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$. Trong máu, Cd liên kết với các protein vận chuyển như albumin và MTs (một loại protein giàu cysteine có ái lực cao với kim loại nặng) đến các mô khác như gan, xương hoặc thận để lưu trữ và giải độc kim loại. Cd tích tụ sinh học trong ruột nhờ liên hợp với cysteine hoặc oligopeptide chứa cysteine. Sự tích tụ Cd trong ruột có thể thấy rõ hơn đối với các sống trong môi trường có độ mặn cao (nước lợ và nước biển) [17]. Tiếp xúc với Cd liều thấp cũng kích hoạt sự gia tăng quá trình tổng hợp MTs trong gan, điều này xảy ra vì Cd khởi tạo sự gia tăng hàm lượng mRNA MTs trong tế bào gan. Sự liên kết giữa MTs với các ion Cd đã cô lập hiệu quả Cd, ngăn không cho nó tương tác với các thành phần thiết yếu khác của tế bào [29]. Tích tụ Cd trong lá lách tương đối thấp điều này có thể là do khả năng loại bỏ kim loại của lá lách. Cá có xu hướng tích tụ Cd trong các mô hoạt động trao đổi chất chính như gan, thận, lá lách và mang [17]. Tích tụ Cd trong cơ (thịt) thấp hơn nhiều so với các bộ phận khác, điều này có ý nghĩa quan trọng vì con người chủ yếu ăn thịt cá chứ không phải các cơ quan.

1.3. THÀNH PHẦN SINH HÓA

Cortisol, insulin và glycogen là những tác nhân chính trong sinh hóa, liên quan cụ thể đến cách các sinh vật sống quản lý và sử dụng năng lượng.

1.3.1. Hormone cortisol

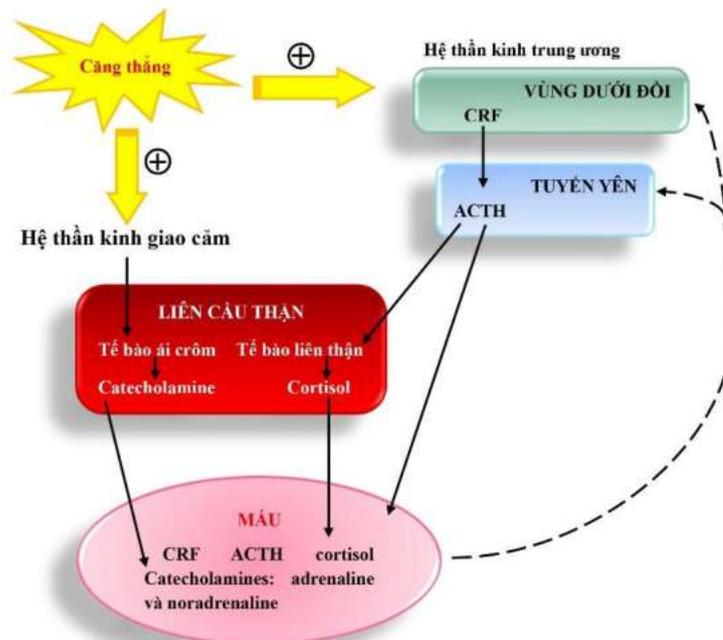
Cortisol là một loại hormone steroid đóng vai trò quan trọng trong việc điều chỉnh quá trình trao đổi chất, bao gồm phản ứng với những căng thẳng và khả năng cung cấp glucose. Công thức phân tử của cortisol là $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_5$, phân tử lượng 362,465 và công thức cấu tạo của cortisol được trình bày trên Hình 1.3.



Hình 1.3. Công thức cấu tạo của cortisol

Mặc dù phản ứng căng thẳng của động vật có xương sống bao gồm cả phản ứng sinh lý và hành vi, nhưng phản ứng sinh lý được nghiên cứu rộng rãi nhất. Ba giai đoạn phản ứng căng thẳng sinh lý ở cá bao gồm thành phần phản ứng chính, thứ cấp và bậc ba [30, 31]:

1. Phản ứng chính (phản ứng thần kinh nội tiết) đối với tác nhân gây căng thẳng bao gồm giải phóng nhanh các hormone căng thẳng, catecholamine và corticosteroid vào hệ tuần hoàn. Phản ứng sinh lý này đối với căng thẳng cấp tính bao gồm kích hoạt trục não – hệ thần kinh giao cảm – tế bào ái Crom (trục BSC) và trục hạ đồi – tuyến yên – liên thận (trục HPI). Khác với động vật có vú, do cá thiếu vỏ thượng thận nên corticosteroid được sản xuất từ tuyến liên thận của đầu thận. Hình 1.4 mô tả quá trình kích thích trục BSC và trục HPI ở cá để đáp ứng với căng thẳng.



Hình 1.4. Kích thích trục BSC và trục HPI để đáp ứng với căng thẳng ở cá [30]

+ Ở quá trình kích hoạt trục BSC, các tế bào ái Crom của đầu thận giải phóng catecholamine (adrenaline và noradrenaline). Catecholamine được kiểm soát

bởi các yếu tố được giải phóng từ các đầu mút thần kinh giao cảm, chủ yếu là acetylcholine và angiotensin. Tác dụng của catecholamine bao gồm tăng ái lực oxy của hemoglobin, huyết áp động mạch và huy động glucose từ gan và cơ.

+ Sự kích hoạt trục HPI bao gồm giải phóng các nhân tố CRF từ vùng dưới đồi, từ đó kích thích các tế bào corticotropic ở thùy trước tuyến yên sản xuất hormone vỏ thượng thận (ACTH). Sau đó, các tế bào liên thận của đầu thận tổng hợp và giải phóng cortisol vào hệ tuần hoàn. Đối với cá, đầu thận là một mô nội tiết, tạo máu và bạch huyết chính, tương đương với tuyến thượng thận ở động vật có vú.

2. Phản ứng thứ cấp bao gồm nhiều tác động sinh hóa và sinh lý khác nhau như những thay đổi về chuyển hóa (tăng glucose và lactate trong máu và giảm glycogen mô, tăng quá trình chuyển hóa protein, điều hòa chuyển hóa amino acid, đầu ra ammonia và tăng phân giải lipid), rối loạn điều hòa thẩm thấu (cân bằng nước/ion), những thay đổi về các đặc điểm huyết học (hematocrit, leukocrit và hemoglobin), những thay đổi về tế bào (phản ứng protein sốc nhiệt) và điều hòa phản ứng miễn dịch (hoạt động lysozyme và sản xuất kháng thể).

3. Tuy nhiên, nếu cá tiếp xúc với tác nhân gây căng thẳng kéo dài (bán trường diễn hay trường diễn) thì có thể xảy ra phản ứng căng thẳng bậc ba có hại [31]. Phản ứng bậc ba biểu thị những thay đổi về đặc điểm hiệu suất của toàn bộ động vật (giảm tốc độ tăng trưởng, giảm khả năng bơi lội, giảm chức năng miễn dịch và tăng nguy cơ tử vong) và các kiểu hành vi đã thay đổi (ăn uống, hung hăng và sinh sản). Phản ứng căng thẳng bậc ba được cho là kết quả của mức cortisol tăng cao kéo dài không trở lại bình thường do cơ chế phản hồi tiêu cực cạn kiệt.

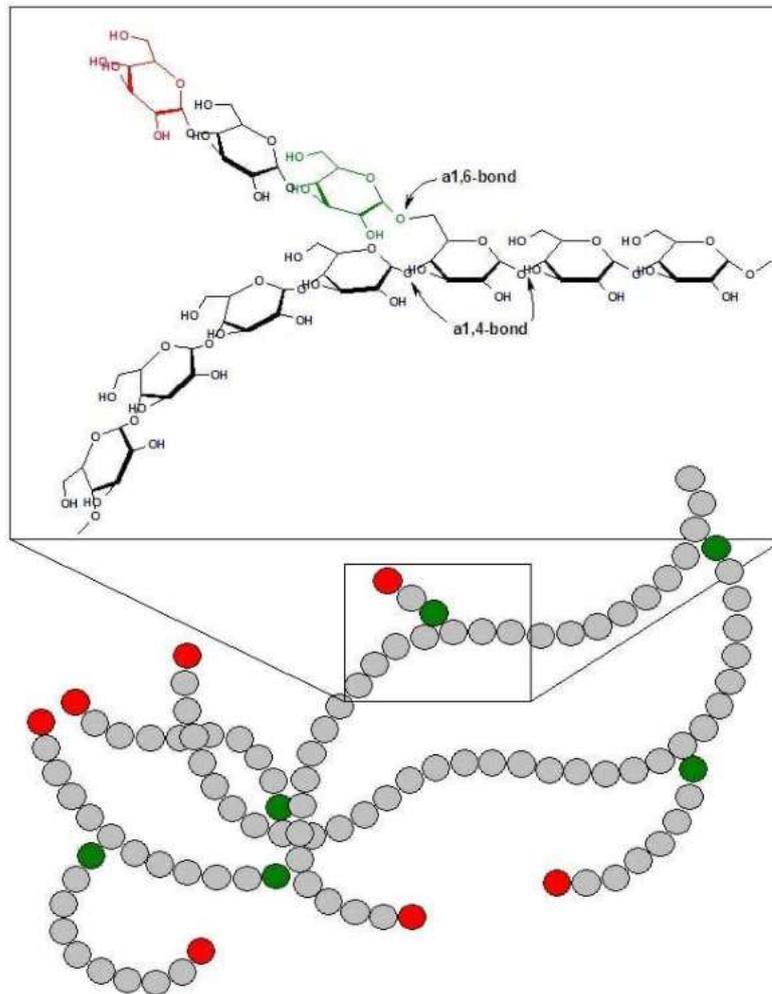
Để đáp ứng với căng thẳng cấp tính, một số loài cá biểu hiện nồng độ cortisol cao ($10^{-7} - 10^{-6}$ M) trong khi một số loài khác biểu hiện mức cortisol thấp ($10^{-9} - 10^{-8}$ M). Hầu hết các loài cá cho thấy sự gia tăng cortisol trong huyết tương của chúng vào khoảng 0,5 – 1,0 giờ sau khi bị xáo trộn căng thẳng nhưng cũng có những trường hợp ngoại lệ [30]. Vai trò trung tâm của cortisol đối với phản ứng căng thẳng cấp tính và mãn tính ở cá được sử dụng rộng rãi như một biện pháp sinh lý để đo lường mức độ căng thẳng [31].

1.3.2. Hormone insulin

Insulin là một loại hormone peptide do tế bào β của đảo tụy Langerhans sản xuất, có tác dụng duy trì lượng đường trong máu bình thường bằng cách tạo điều kiện cho tế bào hấp thụ glucose, điều chỉnh quá trình chuyển hóa carbohydrate, lipid và protein, đồng thời thúc đẩy sự phân chia và phát triển của tế bào thông qua tác dụng phân bào [32].

1.3.3. Glycogen

Glycogen là một polymer phân nhánh của glucose, các gốc glucose được liên kết tuyến tính bởi các liên kết glycoside (1→4)- α và cứ khoảng mười gốc này thì có một chuỗi các gốc glucose phân nhánh qua các liên kết glycoside (1→6)- α – được gọi là hạt β . Các liên kết glycoside này tạo ra cấu trúc polymer xoắn ốc có đường kính trung bình khoảng 20 nm với protein glycogenin nằm ở lõi của mỗi hạt glycogen và tham gia vào quá trình tổng hợp glycogen [34, 35]. Cấu trúc của một glycogen được biểu diễn như Hình 1.6.



Hình 1.6. Cấu trúc phân tử glycogen

Các vòng tròn màu xanh lá cây biểu thị các liên kết α -1,6 tại các điểm phân nhánh và các vòng tròn màu đỏ biểu thị các đầu không khí của chuỗi

(Nguồn: <https://biologydictionary.net/glycogen/> [35])

Glycogen là nguồn năng lượng quan trọng sẵn có được dự trữ chủ yếu ở gan và cơ của cá. Glycogen gan để duy trì lượng đường trong máu, trong khi glycogen cơ để tạo năng lượng tức thời trong thời gian nhin ăn hoặc căng thẳng. Đây là nguồn năng lượng chính, đặc biệt là khi thức ăn khan hiếm. Glycogen chiếm 6 - 10 % trọng lượng

gan. Sự gia tăng kéo dài của glucose trong máu đã kích thích tuyến tụy giải phóng insulin thúc đẩy lưu trữ glucose dự thừa vào các tế bào gan và cơ. Insulin cũng kích hoạt các enzyme tham gia vào quá trình tổng hợp glycogen. Khi lượng glucose và insulin đủ cao sẽ xảy ra quá trình tổng hợp glycogen (các chuỗi glycogen được kéo dài do các phân tử glucose được thêm vào). Khi lượng glucose và insulin giảm, quá trình tổng hợp glycogen ngừng lại. Khi lượng glucose trong máu giảm xuống dưới một mức nhất định, glucagon được giải phóng từ tuyến tụy sẽ báo hiệu cho các tế bào gan phân hủy glycogen. Glycogen trong gan bị phân giải thành glucose-1-phosphate, rồi chuyển thành glucose và giải phóng vào máu nhằm đáp ứng nhu cầu năng lượng của cơ thể. Do đó, glycogen trong gan đóng vai trò là chất đệm chính của lượng glucose trong máu. Ngoài glucagon, cortisol, epinephrine và norepinephrine cũng kích thích sự phân hủy glycogen. Cá huyết động glycogen gan trong thời gian căng thẳng (môi trường nước bị ô nhiễm, thiếu thức ăn trong thời gian dài, lượng đường huyết giảm, bị mắc lưới, ...).

1.4. GIỚI THIỆU CHUNG VỀ CÁ RÔ ĐỒNG

Cá rô đồng tên tiếng Anh là Climbing perch và tên khoa học là *Anabas testudineus*. Cá rô đồng là loài cá nước ngọt lưỡng cư thuộc họ Anabantidae của bộ Perciformes, phân bố khắp Châu Á bao gồm miền nam Trung Quốc, Việt Nam, Lào, Campuchia, Thái Lan, Myanmar, Philippines, Pakistan, Ấn Độ, Bangladesh, Sri Lanka.

Cá rô đồng có thân thon dài, phần sau của thân dẹp ngang, phần đầu và phía trước thân thì rộng và dẹt dần về phía sau (Hình 1.7). Cá rô đồng hoang dã thường có màu xám hoặc xanh xám đậm trong khi cá rô đồng nuôi thường có màu sắc nhạt hơn, tùy thuộc vào thức ăn, môi trường sống, độ tuổi và giới tính của cá.



Hình 1.7. Cá rô đồng (*Anabas testudineus*) sử dụng trong nghiên cứu

Cá rô đồng sinh sống ở hồ chứa, cánh đồng ngập nước, kênh rạch chảy chậm, đầm lầy và cửa sông. Cá rô đồng có thể chịu được điều kiện môi trường nước khắc nghiệt (nước bị ô nhiễm và thiếu oxy), vì có cơ quan hô hấp không khí phụ trợ gọi là

mang phụ [36]. Cá rô đồng giàu protein chất lượng giúp hỗ trợ các mô của cơ thể, chất béo trong cá rô đồng chủ yếu là chất béo không bão hòa tốt cho sức khỏe tim mạch. Bên cạnh đó trong cá còn chứa nhiều vitamin và khoáng chất thiết yếu như vitamin A, B1, B2, C, D, phosphor, Calci, sắt, ... Thêm vào đó trong cá rô đồng chứa hàm lượng Omega-3, hàm lượng Calci cao giúp giảm nguy cơ mắc các bệnh tim mạch, cải thiện trí nhớ và hỗ trợ, duy trì, cải thiện hệ xương khớp. Tuy nhiên hàm lượng calo trong cá thấp (khoảng 100 calo/100g thịt cá) giúp ích rất nhiều cho người ăn kiêng [37]. Tuy có nhiều giá trị dinh dưỡng và là một trong những loại cá có tầm quan trọng về mặt thương mại ở Việt Nam cũng như các nước Đông Nam Á khác nhưng hiện nay chưa có những thống kê cụ thể về sản lượng như cá tra hay cá rô phi, mặc dù vậy cá rô đồng vẫn mang đến hiệu quả kinh tế khá cao với lợi nhuận có thể đạt từ 500 đến 600 triệu đồng/năm từ các mô hình nuôi hiệu quả ở cấp độ hộ gia đình hoặc trang trại. Tuy nhiên do đặc tính ăn tạp và khả năng thích nghi tốt trong môi trường nước kém chất lượng, thiếu oxy và chứa nhiều chất độc hại, cá rô đồng có nguy cơ cao tích tụ các chất ô nhiễm trong cơ thể, bao gồm kim loại nặng, thuốc trừ sâu, và các chất độc hại khác.

1.5. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU TRONG VÀ NGOÀI NƯỚC

Tình trạng nước ô nhiễm kim loại nặng ngày càng phổ biến và đáng báo động trong những năm gần đây. Đây là một vấn đề nghiêm trọng do tính chất độc hại, dai dẳng, tích tụ sinh học và phóng đại sinh học của chúng. Ở cá khi sống trong môi trường nước ô nhiễm, quá trình tích tụ sinh học và sự khuếch đại sinh học là những con đường chính để kim loại nặng từ môi trường nước xâm nhập và ảnh hưởng trực tiếp đến chuỗi thức ăn. Việc tiếp xúc với kim loại nặng có thể dẫn đến một loạt các tác động xấu đến sức khỏe bao gồm tổn thương thần kinh, rối loạn phát triển, tổn thương thận, ...

1.5.1. Tình hình nghiên cứu về tích lũy kim loại nặng trong nước

Các nghiên cứu trong nước chủ yếu là đánh giá mức độ tích lũy kim loại nặng trong trầm tích sông, điều tra hàm lượng kim loại nặng trong cá phổ biến. Một số nghiên cứu về tích lũy kim loại nặng tiêu biểu được trình bày trong Bảng 1.1.

Bảng 1.1. Một số nghiên cứu về kim loại nặng trong nước

Kim loại nặng	Đối tượng nghiên cứu	Kết quả nghiên cứu	Năm thực hiện	Nguồn
Hg, Cd, Pb, Cr	Các loài hên (<i>Corbicula subsulcata</i>), ngao dầu	- Hàm lượng Hg trong các loài hên và hào tại khu vực cửa	2014	[38]

Kim loại nặng	Đối tượng nghiên cứu	Kết quả nghiên cứu	Năm thực hiện	Nguồn
	(<i>Meretrix meretrix</i>), vẹm xanh (<i>Perna viridis</i>) và hào (<i>Saccostrea</i> sp.) tại các khu vực cửa Thuận An, Sông Hàn, Cửa Đại, Sa Càn, Sông Kôn - đầm Thị Nại	<p>Thuận An cao hơn giới hạn tối đa cho phép của Bộ Y tế (QCVN 8-2:2011/BYT).</p> <ul style="list-style-type: none"> - Hàm lượng Cd vượt quá giới hạn cho phép (QCVN 8-2:2011/BYT) tại một số địa điểm ở cửa Đại và cửa Sa Càn. - Hàm lượng Pb trung bình trong hầu hết các loài hai mảnh vỏ tại tất cả các cửa sông đã vượt giới hạn cho phép (QCVN 8-2:2011/BYT), trong đó khoảng 65% số mẫu vượt giới hạn tối đa cho phép từ 1,5 đến 2,8 lần. - Hàm lượng Cr trong ngao đầu, vẹm xanh, hào tại cửa Sông Hàn và trong hào, hến tại cửa Sa Càn vượt quá giới hạn tối đa cho phép. 		
Cu, Pb, Zn, Cd	Nguồn nước tầng đáy, bùn	<ul style="list-style-type: none"> - Nồng độ trung bình của nhóm kim loại nặng trong bùn thấp hơn giới hạn cho phép (QCVN 43:2012/BTNMT) và tiêu chuẩn PEL (1999), trong nước thấp hơn giới hạn cho phép theo QCVN 38:2011/BTNMT. 	2014	[39]
Cu, Pb, Zn, Cd	Tích lũy trong cơ, gan, ruột và mang cá chép <i>Cyprinus carpio</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Đối với cá, kim loại nặng tập trung chủ yếu trong gan, ruột, mang và ít nhất trong cơ. 	2014	[39]

Kim loại nặng	Đối tượng nghiên cứu	Kết quả nghiên cứu	Năm thực hiện	Nguồn
		<p>- Thứ tự tích tụ kim loại trong cá chép: Zn > Cu > Pb > Cd. Nồng độ Cu, Zn, Pb, Cd trong cơ lần lượt là 1,32; 30,96; 0,09; 0,01mg/kg; trong gan lần lượt là 2,36; 75,43; 0,08; 0,08 mg/kg; trong ruột lần lượt là 12,18; 137,33; 0,36; 0,03 mg/kg và trong mang lần lượt là 2,23; 140,92; 1,78; 0,09 mg/kg (tính theo khối lượng ướt).</p>		
As, Cd, Hg, và Pb	<p>Loài động vật hai mảnh vỏ ngao trắng (<i>Meretrix lyrata</i>) and loài hào (<i>Saccostrea glomerata</i>) ở Vân Đồn - Quảng Ninh</p>	<p>- Thứ tự nồng độ kim loại nặng là As > Hg > Cd > Pb đối với loài ngao. - Đối với loài hào là As > Cd > Hg > Pb. - Nồng độ As trung bình (3 vị trí lấy mẫu) là $3,72 \pm 1,89$ mg/kg đối với hào và $1,56 \pm 0,41$ mg/kg đối với ngao nuôi tại Vân Đồn - Quảng Ninh (tính theo khối lượng ướt).</p>	2020	[40]
Cd, Pb, Cu, Zn, Fe, Hg	<p>Cá Dìa tro (<i>Siganus fuscescens</i> Houttuyn, 1782) ở tỉnh Quảng Bình</p>	<p>- Cd, Pb, Cu, Zn, Fe, Hg trong gan, mang và cơ của các mẫu cá Dìa tro đều nhỏ hơn giới hạn quy định của Bộ Y tế Việt Nam. - Hàm lượng kim loại tiêu thụ hàng ngày đều dưới ngưỡng lượng ăn vào hàng ngày có thể chấp nhận được quy định bởi</p>	2020	[41]

Kim loại nặng	Đối tượng nghiên cứu	Kết quả nghiên cứu	Năm thực hiện	Nguồn
		<p>Bộ Y tế, đồng thời tất cả các giá trị của chỉ số nguy hại và chỉ số nguy hiểm ở nam và nữ giới đều không vượt quá 1</p> <p>- Không có nguy cơ rủi ro đến sức khỏe khi tiêu thụ cá Địa tro tại ven biển Quảng Bình.</p>		
Pb, Cd, As, Cu, Zn	Trầm tích mặt tại một số cửa sông ven biển tỉnh Thái Bình	<p>- Hàm lượng Pb, Cd, As, Cu, Zn trong các mẫu trầm tích tại ba cửa sông: Thái Bình, Diêm Hộ và Trà Lý dao động trong khoảng 0,043 - 145,833 mg/kg.</p> <p>- Hàm lượng trung bình của các kim loại giảm dần theo thứ tự Zn > Pb > Cu > As > Cd.</p>	2024	[42]
Pb, Cd	Mẫu nước và trầm tích ở các cửa sông Hàn, sông Cu Đê (Đà Nẵng) và sông Vu Gia - Thu Bồn (Quảng Nam)	<p>- Hàm lượng Pb, Cr, Cd trong các mẫu trầm tích tại khu vực cửa sông Hàn, sông Cu Đê và sông Vu Gia - Thu Bồn khá thấp khi đều nằm trong giới hạn cho phép theo quy định về chất lượng trầm tích (QCVN 43:2017/BTNMT).</p> <p>- Hàm lượng Cd²⁺ trong nước tương đối thấp ở tất cả các vùng cửa sông với giá trị đều nằm trong giới hạn cho phép về chất lượng nước mặt (QCVN 08:2023/ BTNMT).</p> <p>- Hàm lượng Cr⁶⁺ và Pb²⁺ trong một số mẫu nước vượt</p>	2024	[43]

Kim loại nặng	Đối tượng nghiên cứu	Kết quả nghiên cứu	Năm thực hiện	Nguồn
		giới hạn cho phép của QVCN 08:2023/BTNMT.		

1.5.2. Tình hình nghiên cứu về tác động độc hại kim loại nặng trên thế giới

Gần đây, các nghiên cứu về tác động độc hại của kim loại nặng đối với cá chủ yếu tập trung vào tích tụ sinh học, căng thẳng oxy hóa và tổn thương mô. Bảng 1.2 trình bày một số nghiên cứu tiêu biểu liên quan đến tác động độc hại kim loại nặng đối với cá.

Bảng 1.2. Một số nghiên cứu tiêu biểu về tác động độc hại kim loại nặng đối với cá

Kim loại nặng	Đối tượng nghiên cứu	Kết quả nghiên cứu	Năm thực hiện	Nguồn
As, Pb	Lượng glycogen và một số enzyme tham gia vào quá trình chuyển hóa carbohydrate trong các mô gan và cơ của cá da trơn nước ngọt (<i>Heteropneustes fossilis</i>)	<ul style="list-style-type: none"> - Độc cấp tính (LC₅₀ 96 giờ) của As₂O₃ và PbCl₂ đối với <i>H. fossilis</i> lần lượt là 35,09 mg/L và 66,20 mg/L. - Tiếp xúc lâu dài (20 ngày) As₂O₃ và PbCl₂ (20 mg/L), mức glycogen trong gan và cơ của <i>H. fossilis</i> bị cạn kiệt - Lượng glycogen trong gan và cơ được phục hồi sau 30 ngày. - Hoạt động của các enzyme chuyển hóa glycogen (glycogen phosphorylase và glycogen synthase) và một số enzyme glycolytic (hexokinase, phosphofructokinase và pyruvate kinase) cũng bị thay đổi ở <i>H. fossilis</i>. - As và Pb gây ra căng thẳng độc tính đối với <i>H. fossilis</i>, từ 	2019	[44]

Kim loại nặng	Đối tượng nghiên cứu	Kết quả nghiên cứu	Năm thực hiện	Nguồn
		đó thay đổi quá trình chuyển hóa carbohydrate.		
Cu	Sự phát triển, stress oxy hóa, phản ứng miễn dịch và sinh hóa ở cá rô phi sông Nin (<i>Oreochromis niloticus</i>)	<ul style="list-style-type: none"> - Tiếp xúc lâu dài với Cu (40 và 400 µg/L) không gây tử vong ở cá nhưng sự phát triển của cá bị ảnh hưởng và tích tụ Cu trong gan > mang. - Hoạt động của các enzyme chống oxy hóa như SOD, CAT, GPx và GST trong mang và gan cá có tiếp xúc với Cu giảm đáng kể. - Các chất chống oxy hóa không phải enzyme như GSH và MTs tăng đáng kể. - Các chỉ số căng thẳng oxy hóa như MDA và PCO trong mang và gan của cá tiếp xúc với Cu tăng đáng kể. - Những thay đổi trong các enzyme chống oxy hóa và căng thẳng oxy hóa là các dấu hiệu sinh học của độc tính kim loại trong hệ sinh thái dưới nước. 	2019	[45]
Cu, Ni, Fe, Cd, Pb, Zn và Hg	<p>Năm loài cá như cá mòi (<i>Sardinella aurita</i>)</p> <p>Cá cơm (<i>Engraulis encrasicolus</i>)</p> <p>Cá thu (<i>Scomber colias</i>)</p>	- Trên cơ sở trọng lượng khô, nồng độ Cd và Pb trong tất cả các loài cá được phân tích đều thấp hơn giới hạn phát hiện (0,01 mg/kg cho Cd và 0,05 mg/kg cho Pb), do đó gây ra rủi ro cho sức khỏe rất thấp.	2021	[46]

Kim loại nặng	Đối tượng nghiên cứu	Kết quả nghiên cứu	Năm thực hiện	Nguồn
	Hai loài cá tráp (<i>Brachydeuterus auritus</i> và <i>Pagellus bellottii</i>) từ Vịnh Guinea	<p>- Trên cơ sở trọng lượng ướt, nồng độ kim loại trung bình trong thịt cá là:</p> <p>+ 0,04 - 0,31 mg/kg đối với Cu,</p> <p>+ 1,23 - 3,87 mg/kg đối với Fe,</p> <p>+ 0,20 - 0,39 mg/kg đối với Ni,</p> <p>+ 0,17 - 0,42 mg/kg đối với Zn,</p> <p>+ 0 - 0,05 mg/kg đối với Hg.</p>		
Cu, Pb, Zn, Cr, Fe, Mn	Sự tích tụ sinh học của kim loại nặng và tác động của chúng lên các dấu ấn sinh học (huyết học và sinh học) đối với cá anh vũ vàng (<i>Tor putitora</i>) sống trong nước thải của dự án thủy điện sông Panjkora	<p>- Nồng độ kim loại nặng được tích lũy cao nhất trong gan tiếp theo là thận.</p> <p>- Fe được tích lũy nhiều nhất, tiếp theo là Zn.</p> <p>- Các ROS và LPO trong các mô của cá sống trong nước ô nhiễm cao hơn nhiều so với cá tham chiếu. Ngoài ra, các mức ROS và LPO trong gan cao hơn so với các bộ phận khác (mang, thịt, thận).</p> <p>- Tổng hàm lượng protein trong các mô của cá sống trong nước ô nhiễm giảm đáng kể so với cá đối chứng.</p> <p>- Mức độ cortisol và hoạt động của các enzyme chống oxy hóa ở cá sống trong nước ô nhiễm</p>	2021	[47]

Kim loại nặng	Đối tượng nghiên cứu	Kết quả nghiên cứu	Năm thực hiện	Nguồn
		<p>tăng cao hơn đáng kể so với cá đối chứng.</p> <p>- Mức độ cortisol tăng cao có thể là do sự hợp tác tích cực giữa hệ miễn dịch với trục liên thận tuyến yên để loại bỏ kim loại nặng.</p>		
Cr	<p>Các mô (da, cơ, gan, bong bóng bơi, ruột và mang) của cá trắm cỏ nước ngọt (<i>Ctenopharyngodon idella</i>)</p>	<p>- Cá trắm cỏ phơi nhiễm Cr⁶⁺ (120, 40 và 10 mg/L) trong 7, 25 và 60 ngày, kết quả Cr tích tụ ở nồng độ cao nhất trong ruột > mang > gan > túi mật > da > cơ</p> <p>- Mức độ tích tụ Cr⁶⁺ (nồng độ 20 mg/L trong 40 ngày) là ruột > gan > mang > da > cơ > túi mật.</p>	2022	[48]
Sự kết hợp của CuSO ₄ và Trichlorfon	Gan của cá ngựa vằn (<i>Zebrafish</i>)	<p>- Các tổn thương tế bào gan đã được tìm thấy ở cá ngựa vằn tiếp xúc với Cu (0,5 mg/L) và trichlorfon (0,5 mg/L) riêng lẻ và kết hợp trong 21 ngày.</p> <p>- Hoạt động của enzyme chống oxy hóa và miễn dịch trong gan cá ngựa vằn được kích hoạt đáng kể vào ngày thứ 7 và ngày thứ 21.</p> <p>- Cu và trichlorfon riêng lẻ và kết hợp đã tác động đến quá trình trao đổi chất, tăng trưởng và miễn dịch.</p>	2023	[49]
Pb	Sự tích tụ mô, hành vi, thay đổi về hình thái và	- Cá chép (115 ± 5,23 g) tiếp xúc với nhiều nồng độ	2024	[50]

Kim loại nặng	Đối tượng nghiên cứu	Kết quả nghiên cứu	Năm thực hiện	Nguồn
	sinh hóa máu ở cá chép (<i>Cyprinus carpio</i>)	<p>Pb(NO₃)₂: 19,33; 38,66 và 58,0 mg/L trong 10 và 20 ngày.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Sự tích tụ Pb trong mang và gan cá tăng đáng kể sau 10 và 20 ngày tiếp xúc trong khi cơ tích tụ ít hơn so với mang và gan. - Các thông số huyết học (lượng hồng cầu, lượng bạch cầu, hemoglobin và hematocrit) giảm khi mức Pb(NO₃)₂ tăng cao. - Hành vi và hình thái của cá chép tiếp xúc với Pb(NO₃)₂ cũng thay đổi đáng kể. - Hoạt động của enzyme gan (Alanine aminotransferase và aspartate aminotransferase), glucose và mức lipid tăng lên, trong khi tổng lượng protein giảm. 		
Cu, Zn, Cd, Pb, As và Se	Cá hồi masu (<i>Oncorhynchus masou</i> , Salmonidae) sống trong nước bị ô nhiễm bởi công nghiệp khai thác mỏ	<p>Tích tụ kim loại nặng trong cơ của cá hồi masu sống trong nước ô nhiễm cao hơn nhiều lần so với cá sống trong nước sông tham chiếu (không bị ô nhiễm), cụ thể:</p> <ul style="list-style-type: none"> + Cu: 1,4 – 2,5 lần + Zn: 1,5 – 1,9 lần + Cd: 188 – 520 lần + Pb: 4,6 – 68,0 lần + As: 1,1 – 3,9 lần 	2025	[51]

Kim loại nặng	Đối tượng nghiên cứu	Kết quả nghiên cứu	Năm thực hiện	Nguồn
		+ Se: 2,8 – 3,5 lần		

1.5.3. Kết luận về những nghiên cứu tác động độc hại về kim loại nặng trong và ngoài nước

- Đối với các nghiên cứu trong nước, các kết quả chủ yếu dừng lại ở việc điều tra mức độ tích lũy kim loại nặng trong các động vật thủy sinh (hàu, cá, ngao, ...) sống vùng trầm tích, cửa biển nhằm cảnh báo nguy cơ phơi nhiễm kim loại nặng vào chuỗi thức ăn.

- Còn với các nghiên cứu ngoài nước đã (i) nhấn mạnh tầm quan trọng của việc theo dõi và giảm thiểu ô nhiễm kim loại nặng trong môi trường nước để bảo vệ các sinh vật và hệ sinh thái nước ngọt; (ii) nêu bật sự tích tụ sinh học, phóng đại sinh học và các tác động độc hại của kim loại nặng (thông số huyết học, căng thẳng oxy hóa, độc tính thần kinh, hoạt động của các enzyme tham gia vào quá trình chuyển hóa, ...) đối với cá và sinh vật thủy sinh.

Mặc dù nghiên cứu hiện tại đã cung cấp những hiểu biết có giá trị về tác động độc hại của kim loại nặng, tuy nhiên để tìm được những nghiên cứu một cách hệ thống về tác động cũng như ảnh hưởng đến các chỉ tiêu sinh hóa và khả năng đào thải của các kim loại nặng này trên một loài nhất định để có cái nhìn tổng quan và sự hiểu biết đầy đủ về khả năng tương tác phức tạp giữa kim loại nặng và hệ sinh thái nước ngọt còn nhiều hạn chế. Vì vậy, một nghiên cứu có hệ thống về độc tính của kim loại nặng trong các hệ sinh thái nước ngọt là rất quan trọng để nâng cao hiểu biết về các mối đe dọa do các chất ô nhiễm gây ra và phát triển các chiến lược hiệu quả để bảo vệ môi trường nước và sức khỏe con người.

Nhiệm vụ đặt ra: Nghiên cứu một cách có hệ thống từ việc xác định ngưỡng độc cấp tính đến tác động độc tính bán trường diễn của Pb và Cd lên cơ thể của cá rô đồng (một loại cá phổ biến và có giá trị thương mại ở Việt Nam) thông qua việc tìm kiếm quy luật tích lũy, đào thải của các kim loại nặng này trên mang, gan và thịt cá và ảnh hưởng của các kim loại này đến hoạt động của các hormone cortisol, hormone insulin và glycogen gan. Việc hiểu được ảnh hưởng của các kim loại này lên các chỉ tiêu sinh hóa ở cá là chìa khóa để phát triển các chỉ thị sinh học và chiến lược nhằm bảo vệ hệ sinh thái dưới nước.

Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

2.1.1. Cá rô đồng

Cá rô đồng có tên khoa học là *Anabas testudineus*, sống ở môi trường nước ngọt và nước lợ như ruộng, ao, đầm, mương. Đây là loài động vật ăn tạp nhưng rất quen thuộc trong bữa ăn của người Việt Nam nên được chọn làm đối tượng nghiên cứu của luận án này.

Cá rô đồng là loài cá có kích thước nhỏ, cá khai thác thông thường nặng 50 – 100 g. Cá được chọn trong nghiên cứu là loại cá có kích thước khoảng $9 \pm 0,5$ cm và trọng lượng khoảng $13,0 \pm 1,5$ g được mua tại trại cá giống Tâm Sạch (địa chỉ: 27 đường số 1, p. Hiệp Bình Chánh, TP. Thủ Đức, TP.HCM). Cá được thuần dưỡng trong bể composite bằng vật liệu PP trong 12 ngày để làm quen với môi trường trước khi bắt đầu cho tiếp xúc với kim loại nặng [52], kích thước mỗi bể là $1,0 \text{ m} \times 0,8 \text{ m} \times 0,62 \text{ m}$ (chiều dài \times chiều rộng \times chiều cao), tổng diện tích bề mặt là $0,8 \text{ m}^2$ [53]. Cá được nuôi trong bể có sục không khí có lượng oxy hòa tan (DO) là $6,5 \pm 0,7$ mg/L, nhiệt độ nước trong bể là khoảng $28 \pm 4^\circ\text{C}$ với pH là 6,3 và được chiếu sáng 10 giờ/ngày. Phòng nuôi cá được duy trì nhiệt độ khoảng $30 \pm 1^\circ\text{C}$. Cá được cho ăn bằng thức ăn hỗn hợp dạng viên có hàm lượng đạm 30 % và hàm lượng béo lớn hơn 6 %. Lượng thức ăn cho mỗi lần ăn của cá ước tính khoảng 4 % tổng trọng lượng cá. Nước trong bể được lọc tuần hoàn và thay mới 02 ngày/lần, mỗi lần 25 % thể tích nước trong bể.

2.1.2. Cortisol

Cortisol là một loại hormone glucocorticoid được sản sinh bởi bộ phận liên thận. Cortisol là thành phần rất quan trọng của hệ thống phản ứng căng thẳng của cơ thể. Nó ảnh hưởng đến chuyển hóa carbohydrate, protein và lipid.

2.1.3. Insulin

Insulin là một protein hormone quan trọng trong cơ thể được sản xuất bởi tuyến tụy. Chức năng chính của insulin là điều hòa lượng glucose trong máu nhằm đảm bảo các tế bào có đủ năng lượng để hoạt động. Ngoài ra, insulin cũng điều chỉnh (gây ức chế hoặc tăng cường) hoạt tính của enzyme cho quá trình biến đổi glucose tổng hợp glycogen.

2.1.4. Glycogen

Glycogen là một đại phân tử polysaccharide đa nhánh của glucose có vai trò quan trọng trong việc dự trữ năng lượng của sinh vật. Glycogen thường trải qua hai quá trình chuyển hóa chính đó là tổng hợp glycogen (quá trình chuyển đổi glucose

thành glycogen dự trữ) và phân giải glycogen (quá trình phân hủy glycogen thành glucose khi cơ thể cần năng lượng). Gan và thịt là hai bộ phận lưu trữ glycogen chính trong cơ thể.

2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.2.1. Nội dung nghiên cứu

- Nghiên cứu độc cấp tính (LC_{50}) của từng kim loại nặng (Pb, Cd) đối với cá rô đồng;
- Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của Pb, Cd lên quy luật tích lũy và đào thải Pb, Cd trong mang, gan và thịt của cá rô đồng;
- Tác động độc tính bán trường diễn của Pb, Cd đến sự thay đổi nồng độ cortisol trong huyết tương, insulin trong máu và glycogen trong gan của cá rô đồng.

2.2.2. Thiết kế thí nghiệm

Các thí nghiệm được lập theo tài liệu hướng dẫn sử dụng cá trong nghiên cứu [52]. Ion Cadimi (Cd^{2+}) và ion chì (Pb^{2+}) được thêm vào nước nuôi cá dưới dạng muối $Pb(CH_3COO)_2$ và $CdCl_2$ để đánh giá độc cấp tính và độc tính bán trường diễn của chúng đối với cá rô đồng.

2.2.2.1. Nghiên cứu độc cấp tính (LC_{50} trong 96 giờ) của Pb^{2+} và Cd^{2+}

- Thí nghiệm được thực hiện với chế độ nước tĩnh và không thay nước trong vòng 96 giờ và được sục không khí để đảm bảo lượng oxy hòa tan cần thiết cho cá.
- Nước đối chứng là nước sạch được chứa trong bể để giảm nồng độ clo, hàm lượng các ion Pb^{2+} và ion Cd^{2+} (được phân tích theo TCVN 13092:2020) trong nước đối chứng lần lượt là 0,01 mg/L và 0,005 mg/L (hàm lượng này trong giới hạn cho phép của Quy chuẩn Kỹ thuật Quốc gia về chất lượng nước mặt – QCVN 08-MT:2015/BTNMT) và không bổ sung muối Pb^{2+} , Cd^{2+} .
- Nước ô nhiễm là nước sạch được thêm vào các ion Pb, Cd dưới dạng muối $Pb(CH_3COO)_2$ và $CdCl_2$.
 - + Nồng độ Pb^{2+} : 30; 75; 90; 100; 150; 175 và 200 mg/L;
 - + Nồng độ Cd^{2+} : 3; 5; 10; 20; 30; 40; 50 và 75 mg/L.
- Mỗi nồng độ được nuôi lặp lại 4 lần.
- Khoảng 60 cá thể cá được lựa chọn ngẫu nhiên cho mỗi nồng độ Pb^{2+} hay Cd^{2+} , mỗi nồng độ ion Pb hay ion Cd gồm 4 bể nuôi, mỗi bể nuôi 15 cá. Giai đoạn này không cho cá ăn. Số cá chết được vớt ra để tránh ảnh hưởng đến chất lượng nước thí nghiệm do xác chết thối rữa. Theo dõi số lượng cá chết trong 24, 48, 72 và 96 giờ. Xây dựng đồ thị tương quan giữa nồng độ ion Pb hay ion Cd trong nước với tỷ lệ cá chết (dose-mortality), ước lượng LC_{50} của từng kim loại nặng.

2.2.2.2. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn (sub-chronic) của Pb^{2+} và Cd^{2+}

a. Điều kiện nuôi cá giai đoạn phơi nhiễm Pb^{2+} và Cd^{2+}

Với độc tính bán trường diễn nồng độ chọn nghiên cứu là nồng độ thấp hơn ngưỡng độc cấp tính mà vẫn đảm bảo sự sống cho cá.

- Cá được nuôi trong các bể PP được đặt trong phòng ổn định nhiệt ($30 \pm 1^\circ C$), chiếu sáng 10 giờ/ngày.

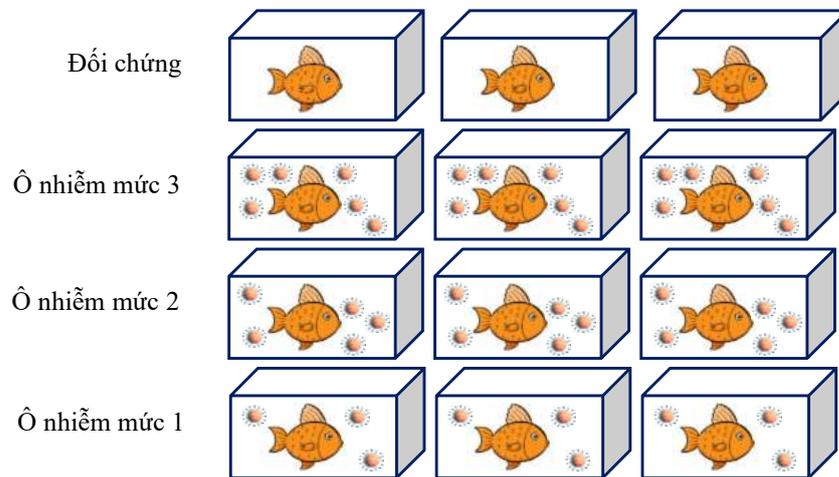
- Nước đối chứng là nước sạch không bổ sung ion Pb, ion Cd.

- Nước ô nhiễm là nước sạch được bổ sung các kim loại ion Pb, ion Cd dưới dạng muối $Pb(CH_3COO)_2$ và $CdCl_2$.

+ Nồng độ Pb^{2+} : 20; 30 và 40 mg/L;

+ Nồng độ Cd^{2+} : 3; 5 và 10 mg/L.

- Độ lặp lại của các thí nghiệm là 03 lần ($n = 3$).



Hình 2.1. Sơ đồ bố trí thí nghiệm

- Cá dùng để nghiên cứu có chiều dài $9,0 \pm 0,5$ cm, cân nặng $13,0 \pm 1,5$ g, được nuôi trong các bể PP với số lượng 25 cá thể cá/bể (mật độ $0,032$ m²/cá) và được sục không khí để đảm bảo lượng oxy hòa tan cho sự sống của cá. Cá được cho ăn bằng thức ăn hỗn hợp dạng viên có hàm lượng đạm 30 % và hàm lượng béo lớn hơn 6 %. Lượng thức ăn cho mỗi lần ăn của cá ước tính khoảng 4 % tổng trọng lượng cá và được nuôi làm quen với môi trường trong vòng 12 ngày trước khi gây nhiễm Pb^{2+} hay Cd^{2+} . Đối với cá đối chứng cũng được nuôi cùng điều kiện nhưng không gây nhiễm kim loại nặng.

- Nước sử dụng là nguồn nước thủy cục được chứa trong bể để giảm nồng độ clo và hàm lượng các ion Pb và Cd (được phân tích theo TCVN 13092:2020) trong nước đối chứng lần lượt là 0,01 mg/L và 0,005 mg/L (hàm lượng này trong giới hạn cho phép của Quy chuẩn Kỹ thuật Quốc gia về chất lượng nước mặt – QCVN 08-MT:2015/BTNMT), nhiệt độ của nước duy trì khoảng $28 \pm 4^\circ C$ và pH khoảng 6,3.

Nước được thay mới 02 ngày/lần. Sau mỗi lần thay nước, nồng độ ion Pb và ion Cd sẽ được phân tích nhằm đảm bảo không có sự khác biệt với nồng độ ion Pb và ion Cd ban đầu.

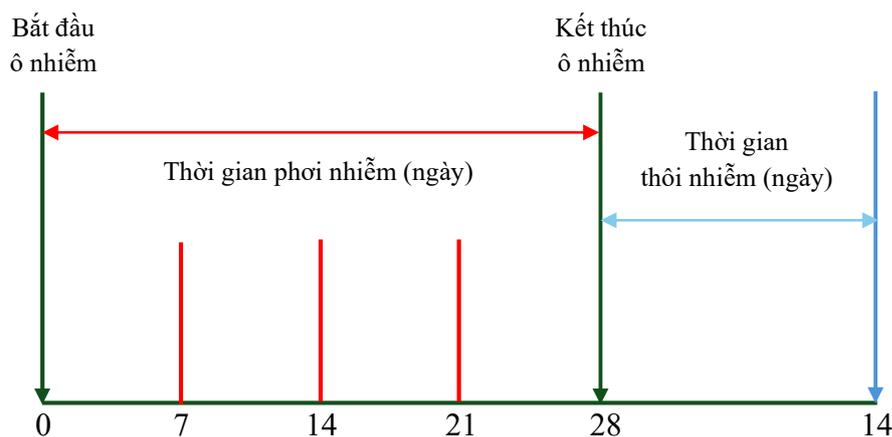
- Thí nghiệm xác định tăng trưởng của cá rô đồng trong giai đoạn phơi nhiễm và thời gian được thực hiện bằng cách nuôi 05 cá thể cá với số nghiệm thức, mật độ và chế độ nuôi tương tự như nuôi cá phơi nhiễm và thời gian, và tại ngày thứ 7, 14, 21, 28 của quá trình phơi nhiễm, ngày thứ 14 của quá trình thời gian cá sẽ được mang đi cân trọng lượng, đo kích thước và trả lại trong bể tiếp tục nuôi cho các lần đo tiếp theo.

b. Điều kiện nuôi cá giai đoạn thời gian phơi nhiễm Pb^{2+} và Cd^{2+}

Cá được nuôi trong các bể PP bằng nước sạch. Các bể này được đặt trong phòng ổn định nhiệt ($30 \pm 1^\circ C$), chiếu sáng 10 giờ/ngày. Độ lặp lại của các thí nghiệm là 03 lần ($n = 3$). Nhiệt độ của nước duy trì khoảng $28 \pm 4^\circ C$ và pH khoảng 6,3. Nước được thay mới 02 ngày/lần.

c. Lấy mẫu phân tích

Mẫu được lấy vào lúc 8:00 - 9:00 sáng của các ngày thứ 7, 14, 21 và 28 kể từ khi cá bắt đầu sống trong nước ô nhiễm ion Pb, ion Cd để nghiên cứu sự tích lũy và ảnh hưởng của các kim loại này đến sự thay đổi cortisol, insulin, glycogen. Mẫu cũng được lấy vào lúc 8:00 - 9:00 sáng của ngày thứ 14 kể từ khi cá ô nhiễm được sống trong nước sạch để nghiên cứu sự đào thải ion Pb và ion Cd. Trên Hình 2.2 trình bày sơ đồ thời gian lấy mẫu để phân tích hóa học.



Hình 2.2. Sơ đồ thời gian lấy mẫu để phân tích hóa học

Mỗi bể thí nghiệm, lấy ngẫu nhiên 05 cá thể cá và rửa bằng nước sạch dưới vòi, sau đó rửa lại bằng nước cất hai lần trước khi lấy mẫu máu và các mô (mang, gan, thịt) để phân tích hóa học. Máu được lấy từ mạch máu dọc theo cột sống của cá rô đồng bằng kim tiêm và được xử lý theo phương pháp thích hợp để phân tích cortisol và insulin. Mang, gan và thịt cá được xử lý theo phương pháp thích hợp để phân tích

hàm lượng kim loại Pb, Cd và glycogen trong gan. Các mẫu dùng phân tích cortisol, insulin hay glycogen được phân tích trong ngày, còn các mẫu mô mang, gan, thịt phân tích Pb và Cd được trữ trong túi zip và đông lạnh ngay sau khi mổ.

Lượng Pb và Cd đào thải trong quá trình thôi nhiễm được tính theo công thức:

$$\% \text{ đào thải} = \frac{|[M]_{\text{thôi ô nhiễm}} - [M]_{\text{ô nhiễm}}|}{[M]_{\text{ô nhiễm}}} \times 100$$

Trong đó:

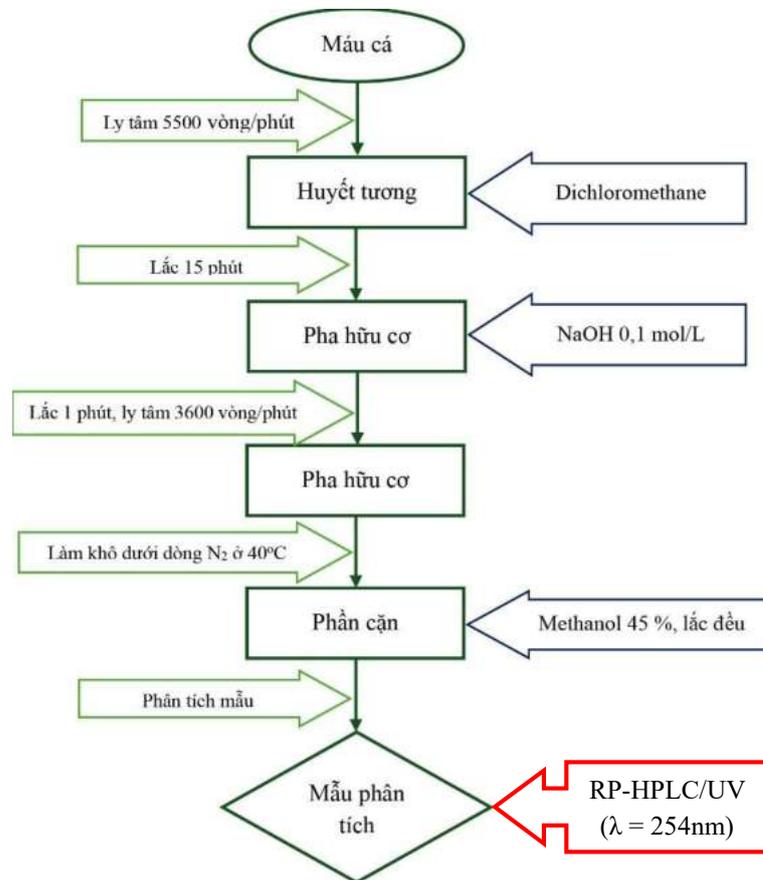
$[M]_{\text{ô nhiễm}}$: hàm lượng kim loại nặng trong cá sau 28 ngày ô nhiễm;

$[M]_{\text{thôi ô nhiễm}}$: hàm lượng kim loại nặng trong cá sau 14 ngày thôi ô nhiễm.

2.2.3. Phương pháp phân tích hóa học

2.2.3.1. Phân tích hàm lượng cortisol

Sơ đồ xử lý mẫu máu để phân tích cortisol được trình bày trên Hình 2.3.



Hình 2.3. Quy trình xử lý mẫu máu để phân tích hàm lượng cortisol

a. Xử lý mẫu

Máu cá được ly tâm tốc độ 5500 vòng/phút trong 5 phút, tách lấy huyết tương cá. Dùng miropipet lấy 500 μ L huyết tương cho vào ống ly tâm polypropylen (16 \times 125 mm), thêm vào đó 5000 μ L dichloromethan. Đậy nắp cẩn thận rồi lắc mạnh trong 15 phút để chiết cortisol sang pha hữu cơ. Sau đó ly tâm ở tốc độ 3600 vòng/phút trong

15 phút. Chuyển pha hữu cơ sang ống ly tâm mới (16×125 mm) và rửa bằng 500 μL NaOH 0,1 M, lắc trong 1 phút. Tiếp tục ly tâm ở tốc độ 3600 vòng/phút trong 5 phút. Hút bỏ dung dịch rửa, phần dung môi hữu cơ được đặt vào bể điều nhiệt để làm khô dưới dòng khí nitơ ở 40°C . Phần cặn được hòa tan bằng 500 μL 45 % methanol trong nước, lắc trộn 20 giây, lọc qua màng lọc 0,22 μm [54].

b. Điều kiện phân tích sắc ký

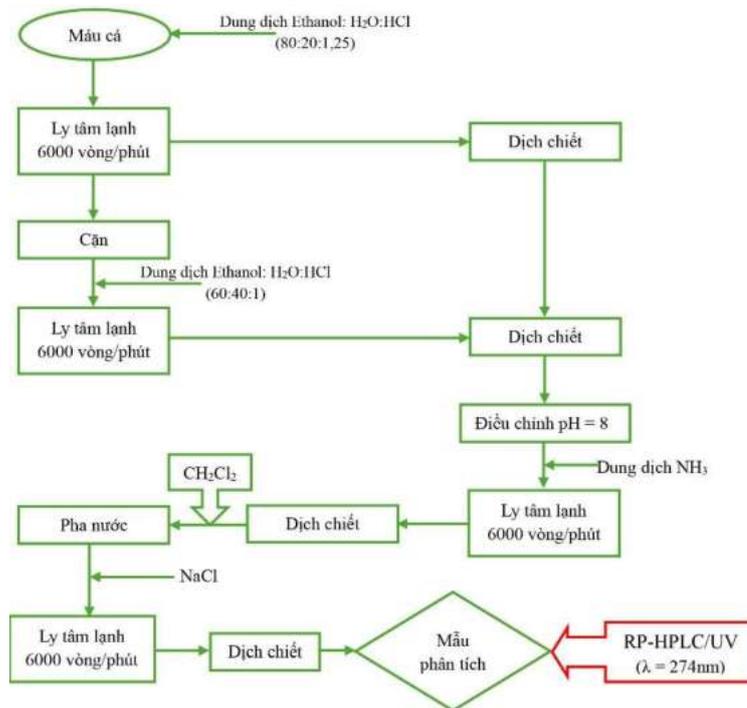
Cột sắc ký được sử dụng là hypersil BDS-C18, $125 \times 4,0\text{mm}$ I.D., kích thước hạt 5 μm . Nhiệt độ trong cột là 36°C . Pha động được chọn là methanol:nước theo tỷ lệ tương ứng 45:55 (theo thể tích, v/v), tốc độ dòng 0,8 mL/phút, thể tích tiêm mẫu là 50 μL . Đầu dò DAD lấy sắc đồ cortisol tại bước sóng 254 nm.

c. Chuẩn bị dung dịch cortisol cho đường chuẩn

Chất gốc cortisol 1000 ng/mL được pha loãng bằng dung môi methanol:nước với tỷ lệ 45:55 theo thể tích để thu được dung dịch chuẩn có nồng độ là 50, 100, 150, 200, 250 ng/mL.

2.2.3.2. Phân tích hàm lượng insulin

Sơ đồ xử lý mẫu máu để phân tích insulin được trình bày trên Hình 2.4.



Hình 2.4. Sơ đồ xử lý mẫu máu để phân tích hàm lượng insulin

a. Xử lý mẫu

Máu cá được đồng nhất trong dung dịch ethanol:H₂O:HCl (80:20:1,25, v/v), ly tâm 6000 vòng/phút ở 4°C trong 10 phút để lấy dịch chiết. Phần cặn được chiết lần 2 với dung dịch ethanol:H₂O:HCl (60:40:1, v/v), ly tâm 6000 vòng/phút ở 4°C trong

10 phút. Gộp dịch chiết sau hai lần ly tâm rồi sử dụng NH_3 điều chỉnh đến $\text{pH} = 8,0$. Ly tâm 6000 vòng/phút ở 4°C trong 10 phút, lấy dịch chiết loại bỏ cặn, thêm CH_2Cl_2 vào dịch chiết vừa loại bỏ cặn lắc đều và tách lấy pha nước loại bỏ pha hữu cơ. Pha nước được thêm NaCl nồng độ cao, ly tâm 6000 vòng/phút ở 4°C trong 10 phút, thu dịch chiết, lọc qua màng lọc $0,22 \mu\text{m}$ trước khi tiêm vào cột sắc ký [55].

b. Điều kiện phân tích sắc ký

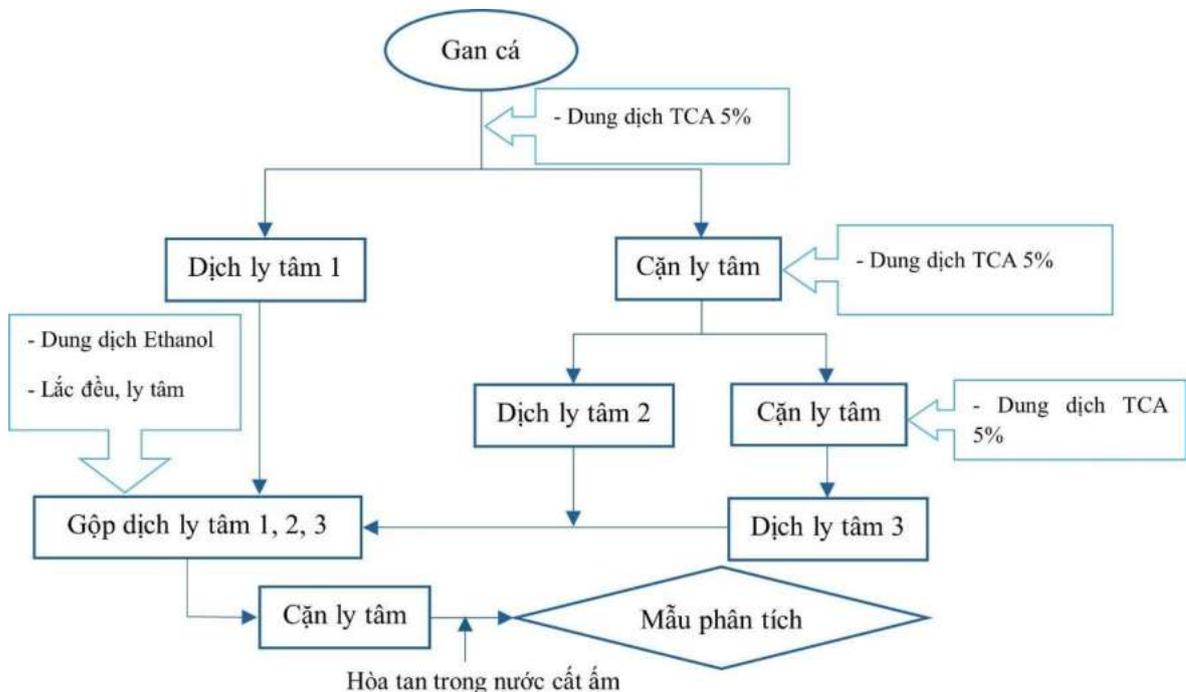
Cột sắc ký được sử dụng là hypersil BDS-C18, $125 \times 4,0 \text{ mm I.D}$, kích thước hạt $5 \mu\text{m}$. Nhiệt độ trong cột là 30°C . Pha động được chọn là acetonitril:nước theo tỷ lệ tương ứng 50:50 (v/v), tốc độ dòng $1,0 \text{ mL/phút}$, thể tích tiêm mẫu là $20 \mu\text{L}$, đầu dò DAD lấy sắc đồ insulin tại bước sóng 274 nm .

c. Chuẩn bị dung dịch insulin cho đường chuẩn

Chất gốc insulin ($0,0303 \text{ g}$) được hòa tan trong 10 mL dung dịch HCl $0,01 \text{ M}$ để thu được dung dịch gốc insulin $3,03 \text{ mg/mL}$. Pha loãng dung dịch gốc insulin $3,03 \text{ mg/mL}$ bằng dung dịch HCl $0,01 \text{ M}$ để thu được các dung dịch chuẩn trong phạm vi nồng độ từ $0,1515, 0,303, 1,515$ và $3,03 \text{ mg/L}$ (hoặc $151,5; 303,0, 1515$ và 3030 ng/mL).

2.2.3.3. Phân tích hàm lượng glycogen

Sơ đồ xử lý mẫu gan cá để phân tích glycogen được trình bày trên Hình 2.5.



Hình 2.5. Sơ đồ xử lý mẫu gan cá để phân tích hàm lượng glycogen

a. Xử lý mẫu

Gan cá được nghiền với Trichloroacetic (TCA) 5 % trong 3 phút, ly tâm và lấy phần dịch nổi phía trên. Tiếp tục chiết bã gan cá thêm 2 lần nữa với TCA 5 %. Gộp

dịch ly tâm sau 3 lần chiết. Thêm ethanol tuyệt đối vào dịch chiết, lắc đều, ly tâm 5000 vòng/phút trong 15 phút gạn lấy kết tủa. Hòa tan kết tủa trong nước cất ấm để phân tích hàm lượng glycogen trong gan cá [56].

b. Định lượng glycogen trong dịch chiết từ gan

Nguyên tắc phương pháp: Thuốc thử Iodine-Potassium Iodide (IKI) được thêm vào dịch chiết glycogen, lắc vortex để yên trong 20 phút và đo ở bước sóng 460 nm trên thiết bị quang phổ hấp thụ phân tử UV-Vis.

Chuẩn bị hóa chất:

+ Chuẩn bị dung dịch glycogen: Chất gốc D-glucose (0,05 g) được hòa tan trong 10 mL dung dịch Trichloroacetic acid (TCA) 5 % để thu được dung dịch glycogen chuẩn 500 mg/L (= 0,5 mg/mL).

+ Chuẩn bị dung dịch TCA 5 %: Hòa tan 5 g TCA trong 95 mL nước cất.

+ Chuẩn bị dung dịch KCl 25 %: Hòa tan 25 g KCl trong 75 mL nước cất.

+ Chuẩn bị thuốc thử Iodine-Potassium Iodide: Hòa tan 1,0 g I₂ và 2,0 g KI trong 20 mL nước cất, định mức bằng dung dịch KCl 25 % đến thể tích 100 mL.

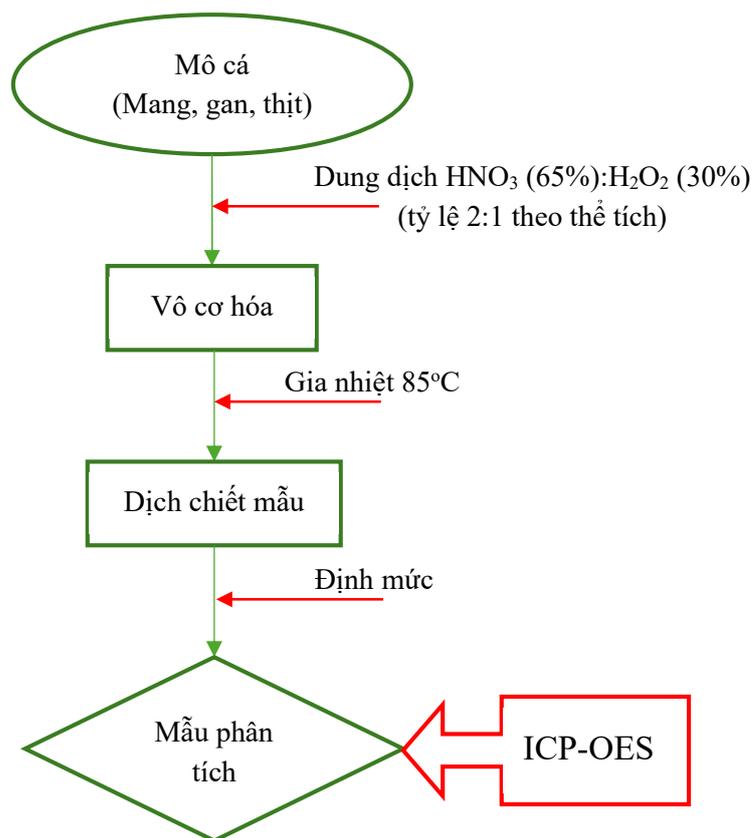
Chuẩn bị dung dịch glycogen cho đường chuẩn và trình tự phân tích: Pha một dãy 6 dung dịch glycogen chuẩn trong nước cất có nồng độ khoảng từ 10 - 140 mg/L. Dùng bình định mức 5 mL, lần lượt thêm vào các hóa chất như trong Bảng 2.1 và lắc bằng máy lắc vortex mixer VM-2000 sau đó để yên trong 20 phút trước khi đo bằng máy đo UV-Vis ở bước sóng 460 nm.

Bảng 2.1. Trình tự phân tích glycogen bằng thuốc thử IKI

<i>Dung dịch</i>	<i>Bình 1</i>	<i>Bình 2</i>	<i>Bình 3</i>	<i>Bình 4</i>	<i>Bình 5</i>	<i>Bình 6</i>	<i>Bình 7</i>
V _{glycogen (0,5 mg/mL)} (mL)	0	0,1	0,2	0,5	1,0	1,2	1,4
V _{H₂O} (mL)	5	4,8	4,7	4,4	3,9	3,7	3,5
V _{thuốc thử IKI} (mL)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
C _{glycogen} (mg/L)	0	10,0	20,0	50,0	100,0	120,0	140,0

2.2.3.4. Phân tích tổng hàm lượng Cd, Pb trong các mô cá

Sơ đồ xử lý mẫu mang, gan và thịt cá để phân tích tổng lượng Cd và Pb được trình bày trên Hình 2.6.



Hình 2.6. Sơ đồ xử lý mẫu để phân tích tổng lượng Cd và Pb trên thiết bị ICP-OES

Mẫu cá được vô cơ hóa với 6 mL hỗn hợp HNO₃ (65 %) và H₂O₂ (30 %) (2:1, v/v) trong bình kín. Các mẫu được gia nhiệt đến 85°C trong 30 phút. Chất lỏng trong suốt được pha loãng với nước khử ion thành 25 mL. Phân tích Cd, Pb tổng số bằng thiết bị quang phổ phát xạ cảm ứng cao tần plasma ICP-OES Optima 2100DV – Perkin Elmer, các điều kiện vận hành được trình bày trong Bảng 2.2.

Bảng 2.2. Các thông số vận hành phân tích Cd và Pb

Thông số	Giá trị tối ưu
Bước sóng	226, 502 nm đối với Cd 405, 781 nm đối với Pb
Công suất nguồn RF	1400 W
Lưu lượng khí tạo sol khí (Nebulizer)	0,7 L/phút
Lưu lượng khí hỗ trợ (Auxiliary)	0,2 L/phút
Chế độ đo	Đọc trực
Tốc độ bơm mẫu	1,5 mL/phút
Lưu lượng khí plasma	15 L/phút
Acid nền	HNO ₃ 2 %

2.2.3.5. Giải phẫu mô học

Mẫu được thực hiện tại Trung tâm Công nghệ sinh học TP.HCM theo quy trình của đơn vị.

2.2.3.6. Thẩm định các phương pháp phân tích

Đường chuẩn tuyến tính (mối quan hệ tuyến tính giữa nồng độ và tín hiệu) được thiết lập bằng cách sử dụng ít nhất bốn mẫu chuẩn và tính tuyến tính của nó được xác nhận dựa trên hệ số tương quan (r^2). Đường chuẩn được chấp nhận nếu $r^2 > 0,99$.

Theo hướng dẫn của ICH [57], giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ) được xác định như sau:

$$\text{LOD} = \frac{3,3 \times \text{SD}}{a}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times \text{SD}}{a}$$

Trong đó: SD là độ lệch chuẩn của tín hiệu mẫu trắng

a là hệ số góc của đường chuẩn tuyến tính ($y = ax + b$)

Độ chụm và độ chính xác được xác định dựa trên 2 nồng độ chất chuẩn khác nhau (trong phạm vi đường chuẩn), mỗi nồng độ chuẩn bị 6 mẫu khác nhau.

+ Đánh giá độ chụm dựa trên độ lệch chuẩn tương đối (% RSD) giữa 6 mẫu cho mỗi nồng độ. Công thức tính RSD như sau:

$$\text{RSD} (\%) = \frac{\text{SD}}{\bar{X}} \times 100 \%$$

Trong đó: $\text{SD} = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{X_i - \bar{X}}{n-1}}$ n = 6 là số lần phân tích lặp lại

X_i giá trị các lần đo ($i = 1 - 6$)

\bar{X} giá trị chính

+ Đánh giá độ chính xác dựa trên độ lệch giữa nồng độ phân tích thực và nồng độ chất chuẩn. Công thức tính độ chính xác như sau:

$$\text{Độ chính xác} (\%) = \frac{\text{Nồng độ thực đo}}{\text{Nồng độ chất chuẩn}} \times 100 \%$$

- Hiệu suất thu hồi (H %) được xác định bằng cách thêm từng chất chuẩn (cortisol, insulin, glycogen, Pb, Cd) có nồng độ đã biết vào mẫu cần phân tích. Định lượng lặp lại 6 lần (n = 6) các mẫu có và không có thêm chuẩn, từ đó tính hiệu suất thu hồi theo công thức:

$$\text{H}(\%) = \frac{C_2 - C_x}{C_1} \times 100$$

Trong đó: C_x là nồng độ chất cần phân tích có trong mẫu;

C_1 là nồng độ chất chuẩn thêm vào trong mẫu;

C₂ là tổng nồng độ chất chuẩn thêm vào và chất cần phân tích trong mẫu.

2.2.4. Phân tích thống kê

Kết quả thực nghiệm được phân tích thống kê theo phương pháp phân tích phương sai một yếu tố (ANOVA), kiểm định LSD ở mức ý nghĩa $p \leq 0,05$, sử dụng phần mềm SPSS phiên bản 22.0. Kết quả phân tích được biểu diễn bằng giá trị chính \pm độ lệch chuẩn.

2.3. THIẾT BỊ - HÓA CHẤT SỬ DỤNG TRONG NGHIÊN CỨU

Bảng 2.3. Dung môi, hóa chất sử dụng trong nghiên cứu

STT	Tên Hóa chất	Độ tinh khiết	Công ty sản xuất	Xuất xứ
1	Acid nitrite (HNO ₃)	65 %	Sigma Aldrich	Mỹ
2	Acid hydroclorit (HCl)	37 %	Sigma Aldrich	Mỹ
3	Acid trichloroacetic (C ₂ HCl ₃ O ₂)	≥ 99,50 %	Supelco	Mỹ
4	Hydrogen peroxide (H ₂ O ₂)	30 %	Sigma Aldrich	Mỹ
5	Chì acetate (Pb(CH ₃ COO) ₂ .3H ₂ O)	≥ 99,00 %	Sigma Aldrich	Mỹ
6	Cadimi clorua (CdCl ₂)	≥ 99,99 %	Sigma Aldrich	Mỹ
7	Kali hydroxit (KOH)	≥ 90,00 %	Sigma Aldrich	Mỹ
8	Ammonium chloride (NH ₄ Cl)	≥ 99,50 %	Sigma Aldrich	Mỹ
9	Canxi clorua (CaCl ₂)	≥ 96,00 %	Sigma Aldrich	Mỹ
10	Kali iodide (KI)	≥ 99,00 %	Sigma Aldrich	Mỹ
11	Iodine (I ₂)	≥ 99,80 %	Sigma Aldrich	Mỹ
12	Acetonitrile (CH ₃ CN)	≥ 99,90 %	Sigma Aldrich	Mỹ
13	Dichloromethane (CH ₂ Cl ₂)	≥ 99,80 %	Sigma Aldrich	Mỹ
14	Cortisol	≥ 98,00%	Sigma Aldrich	Mỹ
15	Insulin	≥ 98,00%	Sigma Aldrich	Mỹ
16	D-glucose	≥ 98,00 %	Sigma Aldrich	Mỹ

Bảng 2.4. Thiết bị sử dụng trong nghiên cứu

STT	Tên Thiết bị	Số hiệu	Công ty sản xuất	Xuất xứ
1	Hệ thống quang phổ phát xạ cảm ứng cao tần plasma ICP – OES Optima	2100DV	Perkin Elmer	Mỹ
2	Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) với cột sắc ký	1200 series	Agilent – Waldbronn	Đức

<i>STT</i>	<i>Tên Thiết bị</i>	<i>Số hiệu</i>	<i>Công ty sản xuất</i>	<i>Xuất xứ</i>
	hypersil BDS-C18 và đầu dò DAD			
3	Máy quang phổ UV-Vis	Evolution 201	Thermo	Mỹ
4	Máy lắc đồng hóa mẫu (Vortex Mixer)	VM-2000		

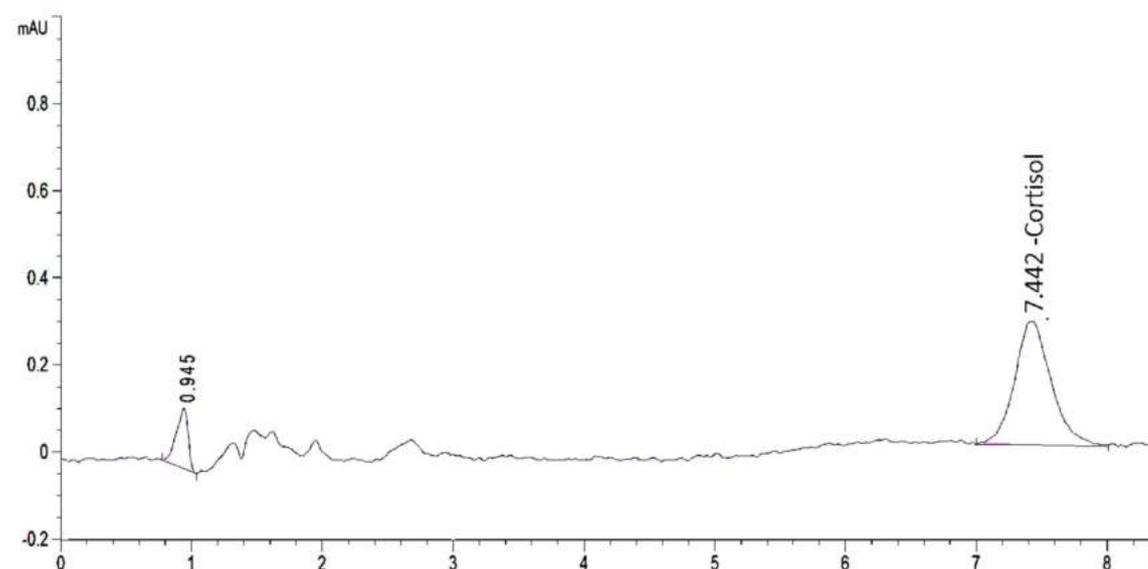
Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. THẨM ĐỊNH CÁC PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH

Để đảm bảo kết quả phân tích chính xác và đáng tin cậy, thẩm định phương pháp phân tích là một bước quan trọng. Một phương pháp phân tích được xác nhận là phù hợp với mục đích dự định, nghĩa là phương pháp này luôn tạo ra kết quả đáng tin cậy.

3.1.1. Thẩm định phương pháp định lượng cortisol

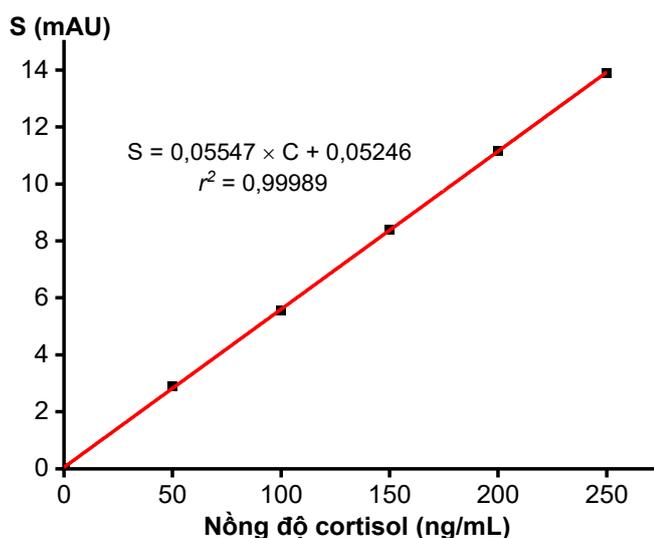
Trong quá trình phát triển và tối ưu hóa, một hệ thống HPLC đẳng dòng với pha động an toàn đã được sử dụng. Để xác định thời gian xuất hiện đỉnh hấp thu đặc trưng của cortisol tại bước sóng 254 nm, mẫu huyết tương chuẩn có thêm cortisol (50 μ L) được tiêm vào cột sắc ký hypersil BDS-C18, 125 \times 4,0 mm I.D., kích thước hạt 5 μ m. Điều kiện sắc ký như sau: nhiệt độ cột là 36°C, pha động là methanol:nước (45:55, v/v), tốc độ dòng 0,8 mL/phút. Kết quả cho thấy trên sắc ký đồ xuất hiện một đỉnh sắc nét và đối xứng tại thời gian lưu là 7,442 phút (Hình 3.1). Ưu điểm của phương pháp này là pha động an toàn và thời gian lưu ngắn, khẳng định tính hiệu quả về chi phí để xác định nồng độ cortisol của phương pháp này so với công bố trước đây [58] (thời gian lưu cortisol là 9,0 phút sử dụng pha động acetonitrile:nước (28:72, v/v), tốc độ dòng 1,0 mL/phút).



Hình 3.1. Sắc ký đồ của cortisol trong huyết tương

Đường chuẩn cho cortisol được xây dựng và tuyến tính trong phạm vi từ 50 đến 250 ng/mL với hệ số xác định là 0,99989. Trên Hình 3.2 trình bày đồ thị đường chuẩn của cortisol. Giá trị LOD và LOQ của phương pháp này được tìm thấy lần lượt là 0,87 ng/mL và 2,65 ng/mL. Giá trị LOQ trong nghiên cứu này tương đương hoặc thấp hơn so với các công bố trước đây (dao động khoảng 2,5 - 5,0 ng/mL) [58-65].

Hai nồng độ cortisol khác nhau (50,0 và 98,8 ng/mL) trong phạm vi tuyến tính, trong đó sáu mẫu khác nhau cho mỗi nồng độ được chuẩn bị. Kết quả cho thấy độ lệch chuẩn tương đối (RSD) của độ chụm trong ngày từ 0,91 – 1,70 % và RSD của độ chụm giữa các ngày từ 1,08 – 1,74 %. Độ đúng trong ngày từ 95,13 – 98,43 % và độ đúng giữa các ngày từ 94,64 – 95,55 %. Hiệu suất thu hồi cortisol được thực hiện mẫu huyết tương của cá rô đồng có thêm cortisol chuẩn có nồng độ 98,8 ng/mL (lặp lại 03 lần, $n = 3$). Kết quả cho thấy hiệu suất thu hồi đạt $97,90 \pm 1,08$ % với RSD là 1,11 %.

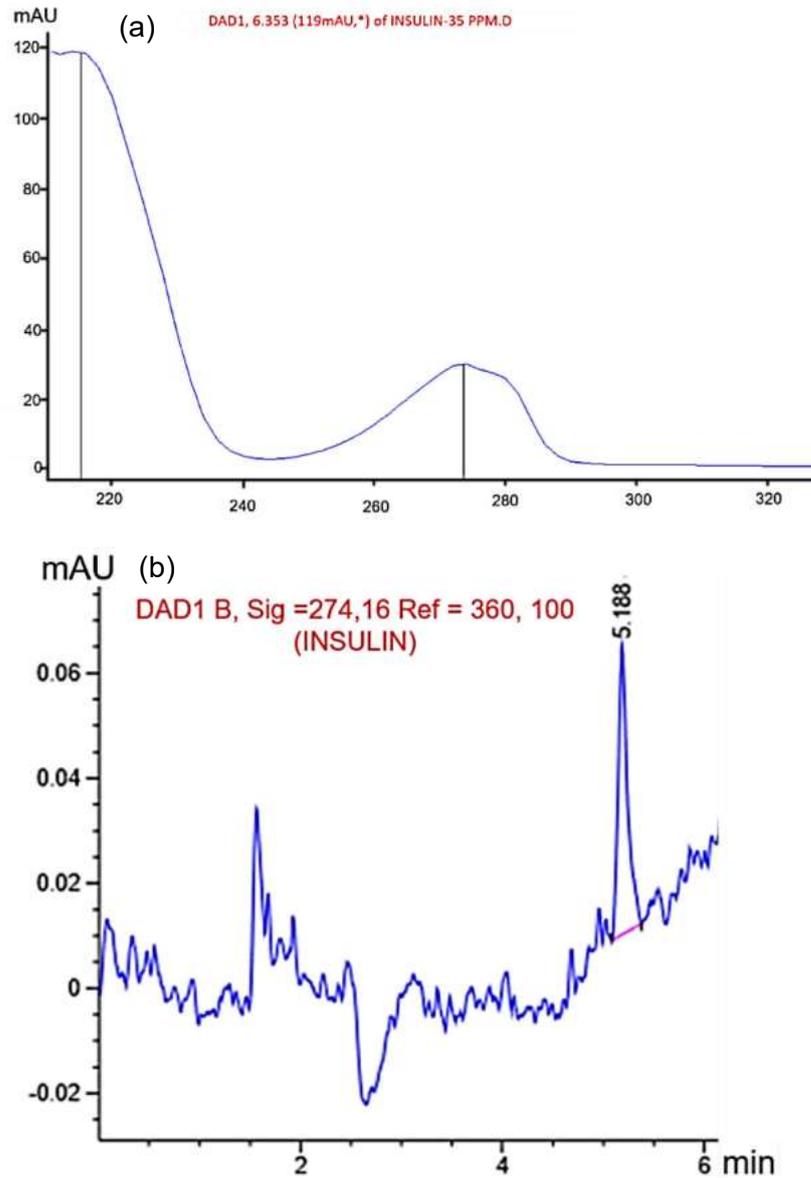


Hình 3.2. Đồ thị đường chuẩn cortisol

3.1.2. Thẩm định phương pháp định lượng insulin

Giống như tất cả các phân tử lớn khác, insulin không dễ hình thành các đỉnh sắc ký sắc nét mà thường hình thành các đỉnh rộng có đuôi. Kết quả khảo sát cho thấy insulin có 02 đỉnh hấp thụ cực đại ở bước sóng 210 và 274 nm (Hình 3.3a). Thông thường, các peptide và protein thể hiện sự hấp thụ tối đa ở bước sóng khoảng 210 – 220 nm và gần 280 nm. Bước sóng khoảng 210 – 220 nm đặc trưng cho các liên kết peptide và bước sóng gần 280 nm thuộc về các acid amin thơm, tryptophan và tyrosine [66]. Cường độ hấp thụ thấp hơn ở 274 nm so với 210 nm là do trong insulin không có tryptophan và rất ít tyrosine. Bước sóng phát hiện 274 nm được chọn vì đỉnh hấp thụ tương đối sắc nét và ít bị ảnh hưởng bởi tạp chất. Trong quá trình phát triển và tối ưu hóa, một hệ thống HPLC đẳng dòng với pha động an toàn (độ mặn không cao, pH lớn hơn 2,5 và tốc độ dòng chảy chấp nhận được) đã được sử dụng. Dung dịch mẫu chứa insulin (20 μ L) được tiêm vào cột sắc ký hypersil BDS-C18, 125 \times 4,0 mm I.D., kích thước hạt 5 μ m. Điều kiện sắc ký như sau: tốc độ dòng là 1,0 mL/phút, rửa giải đẳng dòng, pha động là acetonitril:nước (50:50, v/v). Kết quả cho

thấy trên sắc ký đồ xuất hiện một đỉnh sắc nét và đối xứng tại thời gian lưu là 5,188 phút (Hình 3.3b). Ưu điểm của phương pháp này là pha động an toàn (không ảnh hưởng đến áp suất cột) và thời gian lưu ngắn, điều này khẳng định tính hiệu quả về mặt chi phí trong việc xác định nồng độ insulin của phương pháp này so với các công bố nghiên cứu trước đây [67, 68].

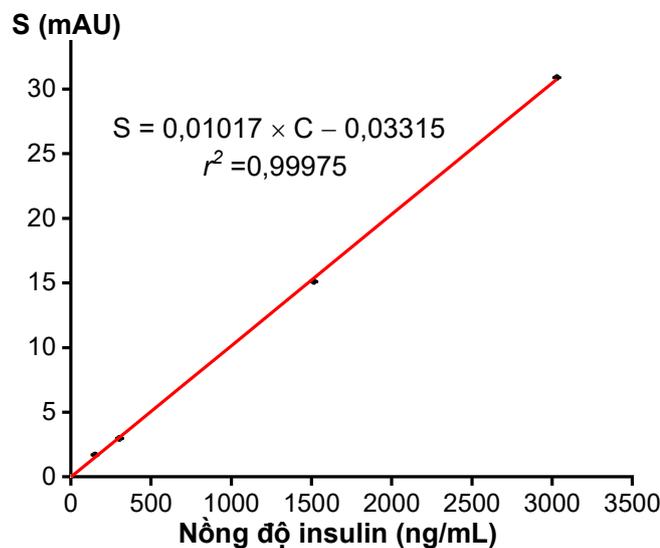


Hình 3.3. (a) Phổ hấp thụ của insulin và (b) Sắc ký đồ của insulin trong mẫu dịch chiết từ máu cá

Đường chuẩn cho insulin được xây dựng và tuyến tính trong phạm vi từ 151,5 đến 3030 ng/mL với hệ số xác định là 0,99975 (Hình 3.4). Giá trị LOD và LOQ của phương pháp này được tìm thấy lần lượt là 11,0 và 32,0 ng/mL, thấp hơn nhiều so với phạm vi làm việc đối với insulin (tức là 151,5 và 3030 ng/mL). Giá trị LOD của phương pháp này thấp hơn so với các công bố trước đây (dao động từ 100 đến 2930

ng/mL) [66-68] điều này cho thấy phương pháp này nhạy hơn so với các nghiên cứu trước đây.

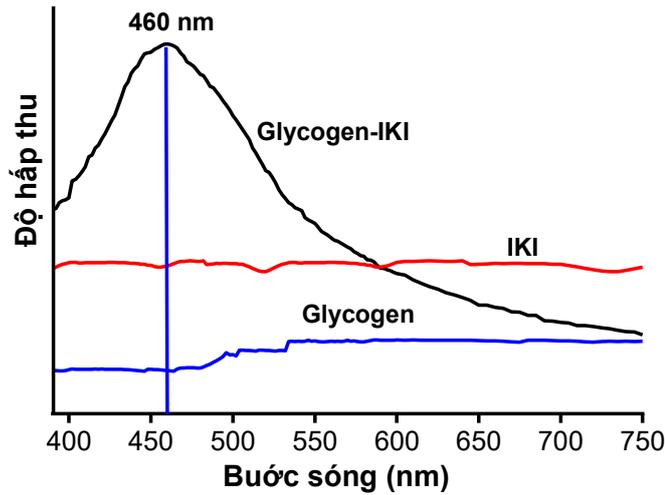
Hai nồng độ insulin khác nhau (303,0 và 1515,0 ng/mL) trong phạm vi tuyến tính, trong đó sáu mẫu khác nhau cho mỗi nồng độ được chuẩn bị trong 0,01 M HCl. Kết quả cho thấy RSD của độ chụm trong ngày từ 1,93 – 4,20 % và RSD của độ chụm giữa các ngày từ 1,57 – 4,17 %. Độ đúng trong ngày từ 95,97 – 99,18 % và độ đúng giữa các ngày từ 96,67 – 97,76 %. Hiệu suất thu hồi insulin được thực hiện mẫu dịch chiết của máu cá rô đồng có thêm insulin chuẩn có nồng độ 1515,0 ng/mL (thí nghiệm được lặp lại 3 lần, $n = 3$). Kết quả cho thấy hiệu suất thu hồi đạt $98,00 \pm 1,34$ % với % RSD là 1,37 %.



Hình 3.4. Đồ thị đường chuẩn insulin

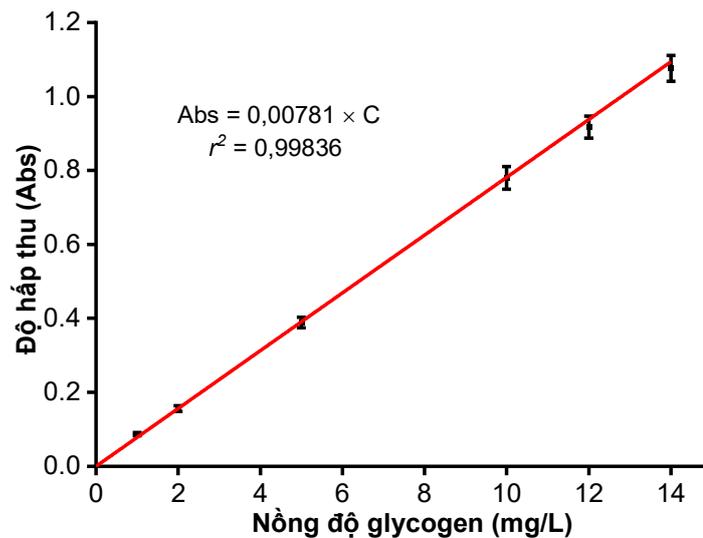
3.1.3. Thẩm định phương pháp định lượng glycogen

Phát triển và tối ưu hóa phương pháp dựa trên khả năng tạo phức màu nâu đỏ giữa các sản phẩm thủy phân từ glycogen với IKI. Phổ UV-Vis của tác chất glycogen, IKI và glycogen-IKI (100 μ L dung dịch glycogen 0,5 mg/mL và 100 μ L dung dịch IKI lắc vortex, để yên trong 20 phút) được trình bày trên Hình 3.5. Dung dịch glycogen và IKI không có đỉnh hấp thụ ở vùng nhìn thấy (400 – 750 nm), trong khi dung dịch glycogen-IKI xuất hiện một đỉnh hấp thụ trong vùng ánh sáng nhìn thấy (460 nm), khẳng định đã có phản ứng hóa học giữa glycogen và IKI. Kết quả này phù hợp với kết quả đã được L.W.Bennett và cộng sự công bố vào năm 2007 [69].



Hình 3.5. Bước sóng hấp thu của glycogen-IKI

Đường chuẩn cho glycogen được xây dựng và tuyến tính trong phạm vi từ 10,0 đến 140,0 mg/L với hệ số xác định là 0,99836 (Hình 3.6). Giá trị LOD và LOQ của phương pháp này được tìm thấy lần lượt là 1,187 và 3,598 mg/L, thấp hơn nhiều so với phạm vi làm việc đối với glycogen (tức là 10,0 và 140,0 mg/L).



Hình 3.6. Đồ thị đường chuẩn glycogen

Hai nồng độ glycogen khác nhau (10,0 và 50,0 mg/L) trong phạm vi tuyến tính, trong đó sáu mẫu khác nhau cho mỗi nồng độ được chuẩn bị trong TCA 5 %. Kết quả cho thấy RSD của độ chụm trong ngày từ 2,82 – 5,06 % và RSD của độ chụm giữa các ngày từ 1,89 – 4,05 %. Độ đúng trong ngày từ 96,88 – 99,02 % và độ đúng giữa các ngày từ 95,39 – 96,67 %. Hiệu suất thu hồi glycogen được thực hiện mẫu dịch chiết gan của cá rô đồng có thêm glycogen chuẩn có nồng độ 10 mg/L (lặp lại 3 lần, $n = 3$). Kết quả cho thấy hiệu suất thu hồi đạt $93,70 \pm 1,39$ % với RSD là 1,48%.

3.1.4. Thẩm định phương pháp định lượng Pb và Cd tổng số tại mang, gan và thịt cá rô đồng

Bảng 3.1 trình bày tóm tắt các thông số thẩm định phương pháp phân tích Pb và Cd tổng số trên thiết bị quang phổ phát xạ cao tần plasma (ICP-OES Optima 2100 DV, Perkin Elmer).

Bảng 3.1. Kết quả thẩm định phương pháp phân tích Pb, Cd

Thông số	Mẫu	Kết quả	
		Pb	Cd
Khoảng tuyến tính (mg/L)		0,01 – 100	0,002 – 200
Đường chuẩn (mg/L)		0,02 – 0,50	0,005 – 0,200
Phương trình hồi quy		$y = 644,6x - 1388$	$y = 1864,9x + 44,7$
Hệ số tương quan (r^2)		0,9998	0,9999
LOD ($\mu\text{g/L}$)		1,20	0,52
LOQ ($\mu\text{g/L}$)		3,90	1,73
RSD của độ chụm (%)	Mang	4,40 %	9,00 %
	Gan	3,70 %	6,10 %
	Thịt	4,30 %	8,20 %
Hiệu suất thu hồi (H%)		92,20 %	94,40 %

Nhìn chung độ chụm, hiệu suất thu hồi của các phương pháp phân tích Cd, Pb tổng số, cortisol, insulin và glycogen đều ở trong khoảng chấp nhận theo AOAC. Tóm tắt các thông số thẩm định các phương pháp phân tích được trình bày trong Bảng 3.2.

Bảng 3.2. Các thông số của phương pháp phân tích

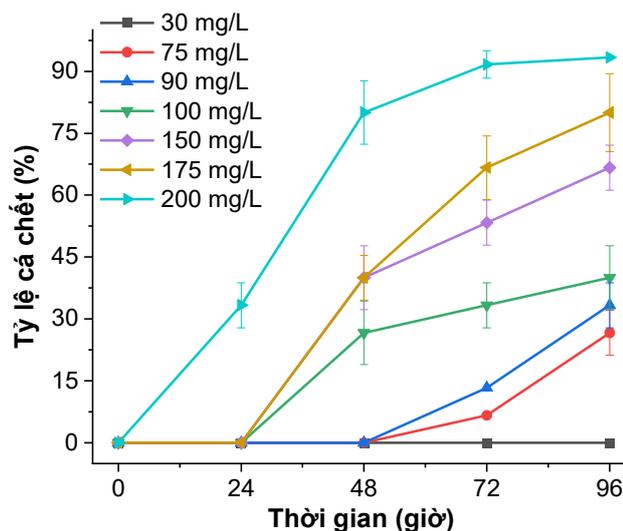
TT	Thông số	Kết quả					
		Phương pháp phân tích cortisol	Phương pháp phân tích insulin	Phương pháp phân tích glycogen	Phương pháp phân tích Pb tổng số	Phương pháp phân tích Cd tổng số	
1	Thời gian lưu	7,442 phút	5,188 phút	-	-	-	
2	Phương trình đường chuẩn	$y = 0,05547x + 0,05246$	$y = 0,01017x - 0,03315$	$y = 0,00781x$	$y = 644,6x - 1388$	$y = 1864,9x + 44,7$	
3	Hệ số tương quan (r^2)	0,9999	0,9998	0,9984	0,9998	0,9999	
4	LOD	0,870 ng/mL	0,011 ng/mL	1,187 mg/L	1,200 µg/L	0,520 µg/L	
5	LOQ	2,650 ng/mL	0,032 ng/mL	3,598 mg/L	3,900 µg/L	1,730 µg/L	
6	Độ chụm trong ngày (%RSD)	0,91 – 1,70 %	1,93 – 4,20%	2,82 – 5,06 %	-	-	
7	Độ chụm giữa các ngày (%RSD)	1,08 – 1,74 %	1,57 – 4,17 %	1,89 – 4,05 %	-	-	
8	Độ đúng trong ngày (%RSD)	95,13 – 98,43 %	95,97 – 99,18 %	96,88 – 99,02 %	-	-	
9	Độ đúng giữa các ngày (%RSD)	94,64 – 95,55 %	96,67 – 97,76 %	95,39 – 96,67 %	-	-	
10	Hiệu suất thu hồi	97,90%	98,15%	93,70%	92,20%	94,40%	

3.2. NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA ION CHÌ (Pb^{2+}) ĐẾN CÁ RÔ ĐỒNG (*Anabas testudineus*)

3.2.1. Nghiên cứu ngưỡng độc cấp tính của Pb^{2+}

3.2.1.1. Nồng độ Pb^{2+} gây chết cá thí nghiệm trong 96 giờ (LC_{50} trong 96 giờ)

Độc cấp tính của Pb^{2+} đối với cá rô đồng được đánh giá thông qua số lượng cá chết trong 96 giờ và kết quả được trình bày trên Hình 3.7 và trong Phụ lục 22.



Hình 3.7. Tỷ lệ chết của cá rô đồng sau 96 giờ tiếp xúc với Pb^{2+}

Kết quả thí nghiệm trên Hình 3.7 cho thấy:

+ Không có cá chết trong 96 giờ thí nghiệm đối với bể thí nghiệm ô nhiễm Pb^{2+} 30 mg/L.

+ Đối với bể thí nghiệm ô nhiễm Pb^{2+} 75 – 90 mg/L, không có cá chết trong 48 giờ đầu của thí nghiệm. Kéo dài thời gian tiếp xúc đến 96 giờ, lượng cá chết khoảng $26,67 \pm 5,44$ % đối với Pb^{2+} 75 mg/L và $33,33 \pm 5,44$ % đối với Pb^{2+} 90 mg/L.

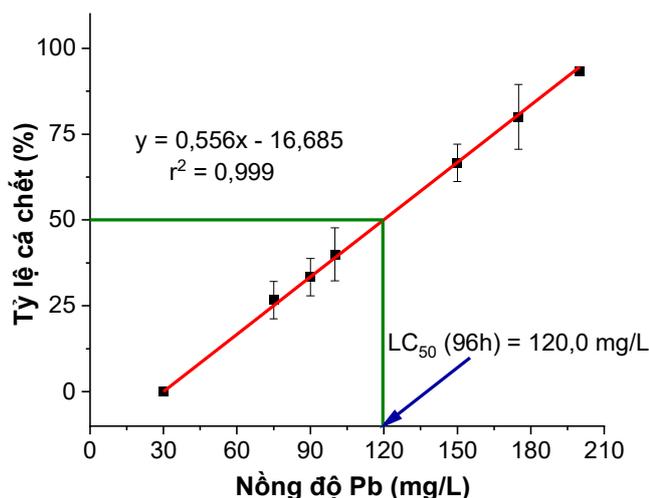
+ Không có cá chết trong 24 giờ đầu tiên đối với bể thí nghiệm ô nhiễm Pb^{2+} 100 – 175 mg/L, tuy nhiên kéo dài thời gian tiếp xúc đã gây độc cho cá. Tỷ lệ cá chết trong 96 giờ là $40,00 \pm 7,70$ % đối với Pb^{2+} 100 mg/L; $66,67 \pm 5,44$ % đối với Pb^{2+} 150 mg/L và $80,00 \pm 9,43$ % đối với Pb^{2+} 175 mg/L.

+ Đối với bể thí nghiệm ô nhiễm Pb^{2+} 200 mg/L, khoảng $33,33 \pm 5,44$ % lượng cá thí nghiệm chết trong 24 giờ đầu tiên và tỷ lệ cá chết tăng lên đến $80,00 \pm 7,70$ % trong 48 giờ. Đến 96 giờ, tỷ lệ cá chết khoảng $93,33 \pm 0,00$ %.

+ Không xảy ra hiện tượng cá chết ở các thí nghiệm đối chứng.

3.2.1.2. Ước tính ngưỡng độc cấp tính LC_{50} trong 96 giờ

Đồ thị tương quan giữa tỷ lệ cá chết và nồng độ Pb^{2+} trong nước được trình bày trên Hình 3.8.



Hình 3.8. Ngưỡng độc cấp tính của Pb^{2+} (LC_{50} 96 giờ) đối với cá rô đồng

Phương trình tuyến tính tương quan giữa nồng độ ion Pb trong nước và tỷ lệ cá thí nghiệm chết là $y = 0,556x - 16,685$ với hệ số tương quan $r^2 = 0,999$. Ngưỡng độc cấp tính của ion Pb (LC_{50} trong 96 giờ) đối với cá rô đồng tìm được là 120 mg/L. Ngưỡng độc cấp tính của ion Pb đối với các loài cá khác nhau thì rất khác nhau. Giá trị LC_{50} 96 giờ của Pb^{2+} đối với cá ngựa vằn (*Danio rerio*) (kích thước $3,0 \pm 0,2$ cm) là $28,62 \pm 2,70$ mg/L [70], cá bơn (*Platichthys stellatus*) (kích thước $14,0 \pm 0,9$ cm) là 227,0 mg/L [71], cá đoi đầu dẹt (*Mugil cephalus*) là 18,7 mg/L [72], cá chép (*Cyprinus carpio*) là 350 mg/L [73] và ở đối với cá điêu hồng (*Oreochromis SP.*) thì LC_{50} là 3,24 mg/L [74].

3.2.2. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của Pb^{2+} đối với cá rô đồng

Để nghiên cứu độc tính bán trường diễn của Pb^{2+} đối với cá rô đồng, nồng độ Pb^{2+} ô nhiễm được chọn bằng $\frac{1}{6}, \frac{1}{4}, \frac{1}{3}$ giá trị LC_{50} 96 giờ tương ứng với nồng độ Pb^{2+} 20, 30 và 40 mg/L và ký hiệu lần lượt là 20Pb, 30Pb và 40Pb.

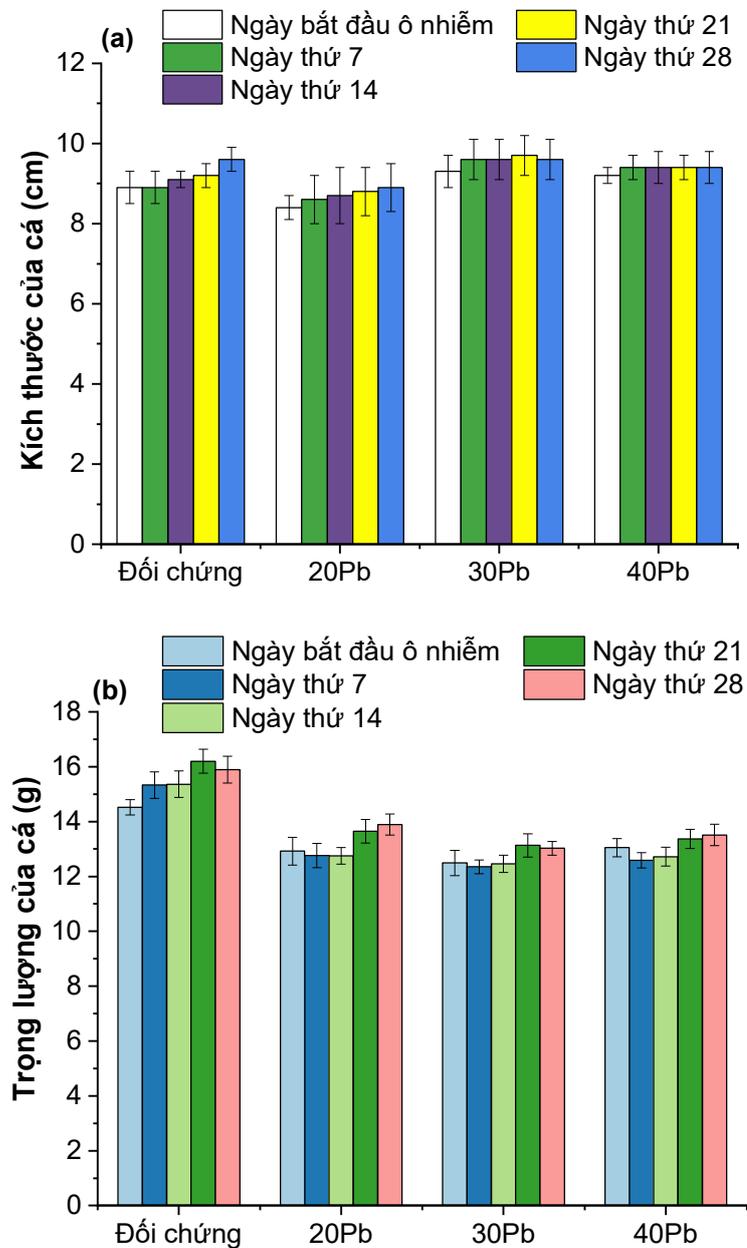
3.2.2.1. Cá rô đồng phơi nhiễm Pb^{2+}

a. Tác động độc tính bán trường diễn của Pb^{2+} lên sự tăng trưởng và phát triển của cá rô đồng

Sự thay đổi kích thước và trọng lượng của cá rô đồng đối chứng và cá sống trong nước ô nhiễm ion Pb được trình bày trên Hình 3.9 và trong kết quả thực nghiệm theo Phụ lục 23.

Trong quá trình phơi nhiễm (28 ngày), cá đối chứng (cá sống trong nước sạch) phản ứng nhanh, linh hoạt và ăn tốt. Còn với cá phơi nhiễm Pb^{2+} , ban đầu có nhiều hành động bất thường như quá kích động, nhảy ra khỏi môi trường thử nghiệm, chuyển động giật cục, bơi ngang và mất thăng bằng. Sau 3 ngày phơi nhiễm, cá trở nên kém linh hoạt, phản ứng chậm, mệt mỏi và giảm ăn đáng kể. Những hành vi bất thường

tương tự cũng được quan sát thấy ở cá măng sữa (*Chanos chanos*) và cá rô đồng (*Anabas testudineus*) phơi nhiễm Pb^{2+} [75, 76]. Cá phơi nhiễm ion Pb nồng độ cao hơn thì phản ứng chậm hơn và ăn ít hơn. Kích thước của cá đối chứng đo được ở ngày ngày bắt đầu gây ô nhiễm là $8,9 \pm 0,4$ cm và ngày thứ 28 là $9,6 \pm 0,3$ cm, cho thấy kích thước của cá đối chứng tăng 8,2 % sau 28 ngày thí nghiệm. Tác động của ion Pb đến sự phát triển kích thước của cá rô đồng tương đối rõ. So với ban đầu, kích thước cá ô nhiễm ion Pb sau 28 ngày, tăng 6,0 % đối với bể 20Pb; 3,2 % đối với bể 30Pb và 2,5 % đối với bể 40Pb (Hình 3.9a). Kích thước cá ô nhiễm ion Pb tăng ít hơn so cá đối chứng, điều này có thể là do cá mệt mỏi, biếng ăn dẫn đến phát triển kém.



Hình 3.9. Ảnh hưởng của Pb^{2+} đến sự thay đổi (a) kích thước và (b) trọng lượng của cá rô đồng

So với ngày bắt đầu thí nghiệm, trọng lượng của cá đối chứng sau 28 ngày tăng 9,44 % (trọng lượng ban đầu của cá đối chứng là $14,52 \pm 0,28$ g và ngày thứ 28 là $15,89 \pm 0,49$ g) (Hình 3.9b). Tương tự như kích thước, trọng lượng của cá ô nhiễm ion Pb sau 28 ngày tăng tương đối ít. So với ban đầu, trọng lượng cá ngày thứ 28 tăng 7,51 % đối với bể 20Pb; 4,32 % đối với bể 30Pb và 3,52 % đối với bể 40Pb.

b. Tác động độc tính bán trường diễn của Pb^{2+} đến quy luật tích lũy Chì trong cá rô đồng

Kết quả tích lũy của Chì tại mang, gan và thịt cá rô đồng đối chứng và cá rô đồng phơi nhiễm Pb^{2+} được trình bày trên Hình 3.10 và kết quả thực nghiệm trong Phụ lục 24, 25, 26.

Do tích tụ sinh học, hàm lượng kim loại nặng tại các bộ phận cơ thể của cá có thể tăng nhanh trong thời gian ngắn. Sự tích tụ kim loại nặng ở các mô cá phụ thuộc vào tính chất của kim loại, nồng độ, thời gian tiếp xúc với kim loại, nhiệt độ nước, độ tuổi của cá và hoạt động trao đổi chất của cá [77]. Kết quả trên Hình 3.10 cho thấy, tích lũy Chì tại mang, gan và thịt cá rô đồng phơi nhiễm Pb^{2+} cao hơn đáng kể so với nhóm đối chứng ($p < 0,05$). Mức độ tích lũy Pb^{2+} tại các bộ phận cơ thể của cá rô đồng phụ thuộc vào nồng độ Pb^{2+} trong nước và thời gian tiếp xúc, khi nồng độ ion Pb trong nước càng cao và thời gian phơi nhiễm càng dài thì lượng Pb^{2+} tích lũy ở mang, gan và thịt cá càng nhiều.

Hàm lượng ion Pb tìm thấy trong cá đối chứng từ $20,67 \pm 2,98$ đến $20,90 \pm 1,92$ mg/kg mang khô, $0,56 \pm 0,11$ đến $0,58 \pm 0,14$ mg/kg gan khô và $0,56 \pm 0,09$ đến $0,60 \pm 0,15$ mg/kg thịt khô.

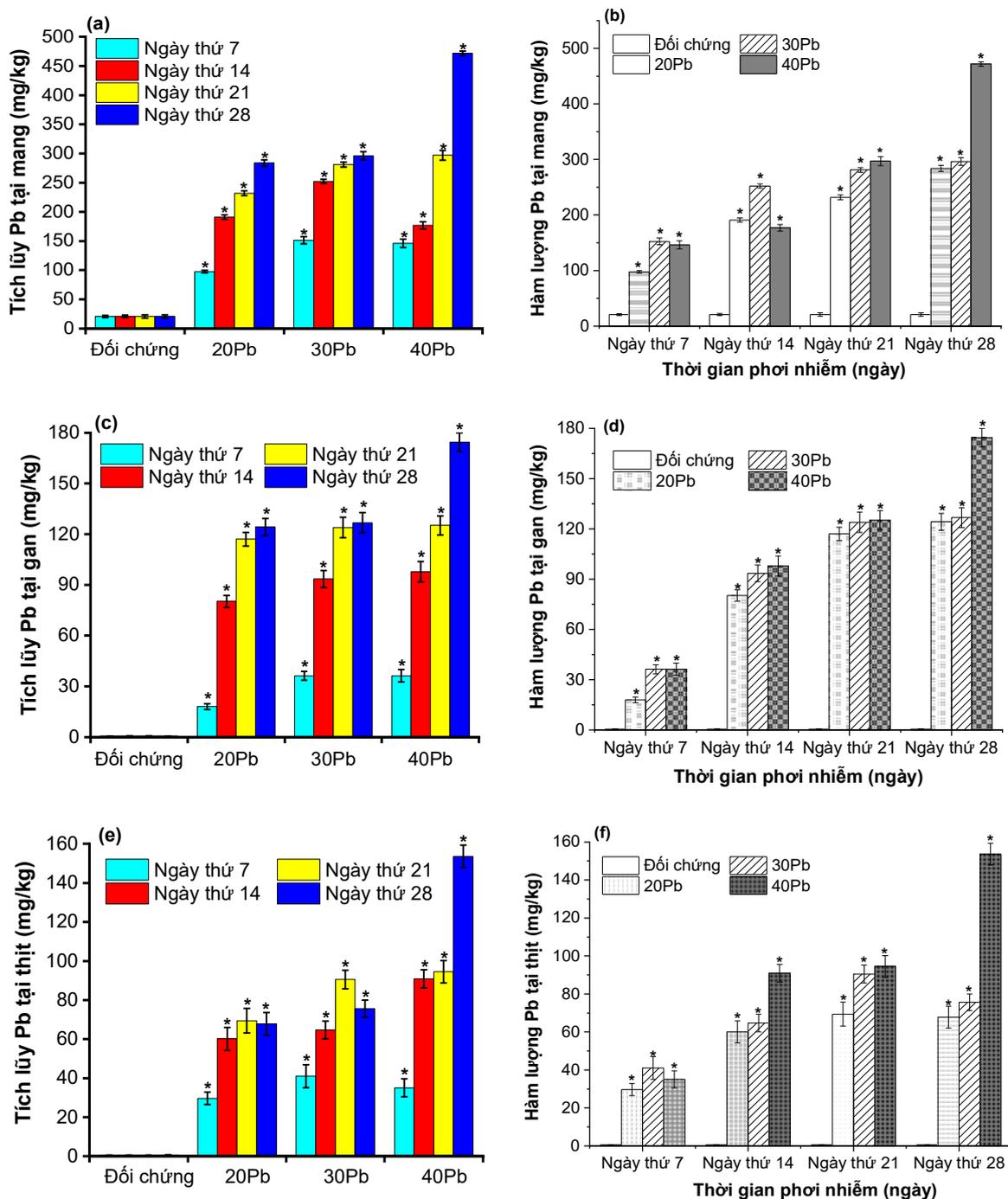
Tích tụ Pb^{2+} tại mang: Ở mang cá rô đồng, tích lũy ion Pb được tìm thấy thấp nhất đối với nhóm cá phơi nhiễm Pb^{2+} 20 mg/L ($97,57 \pm 2,33$ mg/kg mang khô) ở ngày thứ 7 và cao nhất đối với nhóm cá phơi nhiễm Pb^{2+} 40 mg/L ($471,84 \pm 3,92$ mg/kg mang khô) ở ngày thứ 28 (Hình 3.10 a&b).

+ Đối với nhóm cá phơi nhiễm Pb^{2+} 20 mg/L, sự tích tụ ion Pb ở mang được tìm thấy là $97,57 \pm 2,33$ mg/kg mang khô ở ngày thứ 7; $191,05 \pm 3,90$ mg/kg mang khô ở ngày thứ 14; $231,81 \pm 4,09$ mg/kg mang khô ở ngày thứ 21 và $283,71 \pm 5,39$ mg/kg mang khô ở ngày thứ 28. Lượng ion Pb tại mang của nhóm cá này cao hơn từ 4,72 đến 13,73 lần so với cá đối chứng.

+ Vào các ngày thứ 7, 14, 21 và 28 kể từ lúc bắt đầu phơi nhiễm, lượng ion Pb tích tụ tại mang của nhóm cá phơi nhiễm Pb^{2+} 30 mg/L đo được lần lượt là $151,35 \pm 6,01$; $252,25 \pm 3,58$; $281,05 \pm 4,38$ và $296,22 \pm 7,03$ mg/kg mang khô. So với cá đối chứng, lượng ion Pb tại mang của nhóm cá này cao hơn từ 7,32 – 14,33 lần.

+ Hàm lượng ion Pb ở mang của nhóm cá phơi nhiễm Pb^{2+} 40 mg/L đo được là $146,27 \pm 7,13$; $176,98 \pm 6,06$; $297,06 \pm 8,28$ và $471,84 \pm 3,92$ mg/kg mang khô

tương ứng với các ngày thứ 7, 14, 21 và 28 kể từ lúc bắt đầu thí nghiệm. Tích lũy ion Pb tại mang của nhóm cá này cao hơn từ 7,07 – 22,73 lần so với cá đối chứng.



Hình 3.10. Tích lũy lượng Pb^{2+} ở cá rô đồng (a & b) mang, (c & d) gan và (e & f) thịt (Giá trị chính \pm độ lệch chuẩn, $n=3$);

* Tích lũy Pb^{2+} tại mang/gan/thịt cá phơi nhiễm Pb^{2+} cao hơn đáng kể so với cá đối chứng ($p < 0,05$)

Tích tụ Pb^{2+} tại gan: Hình 3.10 c&d cho thấy, sự tích tụ ion Pb tại gan cá rô đồng được tìm thấy thấp nhất đối với nhóm cá phơi nhiễm 20Pb ($18,00 \pm 1,65$ mg/kg gan khô) ở ngày thứ 7 và cao nhất đối với nhóm cá phơi nhiễm 40Pb ($174,45 \pm 5,55$ mg/kg gan khô) ở ngày thứ 28.

+ Kết quả thí nghiệm cho thấy, sự tích tụ ion Pb tại gan của nhóm cá phơi nhiễm Pb^{2+} 20 mg/L đo được ở các ngày thứ 7; 14; 21 và 28 lần lượt là $18,00 \pm 1,65$; $80,27 \pm 3,51$; $117,04 \pm 4,00$ và $124,23 \pm 5,09$ mg/kg gan khô, cao hơn so với cá đối chứng từ 31,96 đến 215,43 lần.

+ Đối với nhóm cá phơi nhiễm Pb^{2+} 30 mg/L, sự tích tụ ion Pb tại gan được tìm thấy là $36,19 \pm 2,67$ mg/kg gan khô ở ngày thứ 7; $93,48 \pm 4,95$ mg/kg gan khô ở ngày thứ 14; $123,97 \pm 6,05$ mg/kg gan khô ở ngày thứ 21 và $126,77 \pm 5,97$ mg/kg gan khô ở ngày thứ 28. Lượng ion Pb ở gan nhóm của nhóm cá này cao hơn so với cá đối chứng từ 64,24 đến 219,83 lần.

+ Vào các ngày thứ 7, 14, 21 và 28 kể từ lúc bắt đầu phơi nhiễm, lượng ion Pb tích tụ tại gan của cá rô đồng phơi nhiễm Pb^{2+} 40 mg/L được tìm thấy lần lượt là $36,26 \pm 3,63$; $97,80 \pm 6,03$; $125,16 \pm 5,69$ và $174,45 \pm 5,55$ mg/kg gan khô, cao hơn từ 64,37 đến 302,51 lần so với cá đối chứng.

Tích tụ Pb^{2+} tại thịt: Hàm lượng kim loại nặng tích tụ trong cơ thể cá có liên quan đến nồng độ kim loại nặng trong nước. Giống như mang và gan, sự tích tụ ion Pb tại thịt của cá rô đồng được tìm thấy thấp nhất đối với nhóm cá 20Pb ($29,67 \pm 3,15$ mg/kg thịt khô) ở ngày thứ 7 và cao nhất đối với nhóm cá 40Pb ($153,60 \pm 5,78$ mg/kg thịt khô) ở ngày thứ 28 (Hình 3.10 e&f).

+ Đối với nhóm cá 20Pb, sự tích tụ ion Pb tại thịt được tìm thấy là $29,67 \pm 3,15$ mg/kg thịt khô ở ngày thứ 7; $60,09 \pm 5,82$ mg/kg thịt khô ở ngày thứ 14; $69,40 \pm 6,30$ mg/kg thịt khô ở ngày thứ 21 và $67,83 \pm 5,79$ mg/kg thịt khô ở ngày thứ 28. Tích tụ ion Pb ở thịt của nhóm cá này cao hơn từ 52,98 đến 117,63 lần so với cá đối chứng.

+ Sự tích tụ ion Pb tại thịt của nhóm cá 30Pb đo được ở các ngày thứ 7; 14; 21 và 28 lần lượt là $41,04 \pm 5,90$; $64,72 \pm 4,58$; $90,54 \pm 4,77$ và $75,61 \pm 4,39$ mg/kg thịt khô, cao hơn từ 73,28 đến 153,45 lần so với cá đối chứng.

+ Vào các ngày thứ 7, 14, 21 và 28 kể từ lúc bắt đầu phơi nhiễm, lượng ion Pb tích tụ ở thịt của nhóm cá 40Pb được tìm thấy lần lượt là $35,05 \pm 4,57$; $90,87 \pm 4,63$; $94,51 \pm 5,76$ và $153,60 \pm 5,78$ mg/kg thịt khô, cao hơn từ 62,58 đến 254,58 lần so với cá đối chứng.

Bảng 3.3 trình bày kết quả so sánh sự tích tụ ion Pb giữa mang – gan, mang – thịt và gan – thịt. Kết quả trong Bảng 3.3 cho thấy Pb^{2+} tập trung ở mang cá rô đồng nhiều hơn so với gan và thịt.

Bảng 3.3. Tỷ lệ về hàm lượng Pb^{2+} tích lũy tại mang – gan, mang – thịt và gan – thịt

		Đối chứng	20Pb	30Pb	40Pb
Tỷ lệ $Pb_{\text{mang}}/Pb_{\text{gan}}$	Ngày thứ 7	36,7	5,4	4,2	4,0
	Ngày thứ 14	36,5	2,4	2,7	1,8
	Ngày thứ 21	35,7	2,0	2,3	2,4
	Ngày thứ 28	35,8	2,3	2,3	2,7
Tỷ lệ $Pb_{\text{mang}}/Pb_{\text{thịt}}$	Ngày thứ 7	36,9	3,3	3,7	4,2
	Ngày thứ 14	36,5	3,2	3,9	1,9
	Ngày thứ 21	35,1	3,3	3,1	3,1
	Ngày thứ 28	34,3	4,3	3,9	3,1
Tỷ lệ $Pb_{\text{gan}}/Pb_{\text{thịt}}$	Ngày thứ 7	1,0	0,6	0,9	1,0
	Ngày thứ 14	1,0	1,3	1,4	1,1
	Ngày thứ 21	1,0	1,7	1,4	1,3
	Ngày thứ 28	1,0	1,8	1,7	1,1

➤ So sánh sự tích tụ ion Pb giữa mang và gan của nhóm cá đối chứng, kết quả cho thấy ion Pb tập trung ở mang nhiều hơn gan từ 35,7 đến 36,7 lần. Lượng ion Pb ở mang cá phơi nhiễm Pb^{2+} 20 mg/L cao hơn so với gan cá từ 2,0 đến 5,4 lần. Ngày thứ 7 kể từ lúc phơi nhiễm, ion Pb tập trung ở mang cao gấp 5,4 lần so với ion Pb tập trung ở gan. Kéo dài thời gian phơi nhiễm đến ngày thứ 21, mức độ tích lũy ion Pb ở mang cao gấp 2 lần so với tích lũy ion Pb ở gan. Tại ngày thứ 28, thì tỷ lệ $Pb_{\text{mang}}/Pb_{\text{gan}}$ là 2,3. Ngày thứ 7 kể từ lúc phơi nhiễm Pb^{2+} 30 mg/L, lượng ion Pb tập trung tại mang cao gấp 4,2 lần so với lượng ion Pb tập trung ở gan. Kéo dài thời gian phơi nhiễm đến ngày thứ 14 và ngày thứ 28, lượng ion Pb tập trung ở mang cao gấp 2,7 lần và 2,3 lần so với lượng ion Pb tại gan. Đối với nhóm cá rô đồng phơi nhiễm Pb^{2+} 40 mg/L, lượng ion Pb tích tụ tại mang cá đo được tại ngày thứ 7 cao gấp 4,2 lần so với lượng ion Pb tích tụ tại gan. Kéo dài đến ngày thứ 28, lượng ion Pb tích tụ ở mang cao gấp 2,7 lần so với

lượng ion Pb tích tụ ở gan. Tỷ lệ $\frac{Pb_{mang}}{Pb_{gan}}$ của các nhóm phơi nhiễm ion Pb đạt cao nhất vào ngày thứ 7 kể từ lúc phơi nhiễm và sau đó giảm rõ rệt.

Có sự giảm tỷ lệ $\frac{Pb_{mang}}{Pb_{gan}}$ sau 7 ngày phơi nhiễm được cho là liên quan đến mang cá. Do mang cá là cơ quan đa chức năng và thiết yếu, bao gồm hô hấp, điều hòa thẩm thấu, cân bằng acid-base, ... Bề mặt mang được phủ một lớp chất nhầy bảo vệ, bao gồm glycoprotein, mucopolysaccharide, hợp chất có trọng lượng phân tử thấp và nước, chất nhầy này có thể chứa nhiều thành phần bề mặt mang tích điện âm [78], vì vậy, mang cá trở thành mục tiêu chính của các cation kim loại trong nước, điều này giải thích cho sự tích tụ ion Pb ở mang cao gấp nhiều lần (4,0 – 5,4 lần) so với gan trong 7 ngày đầu tiên. Tuy nhiên, tiếp xúc lâu dài với ion Pb ở nồng độ cao đã phá vỡ chức năng mang, cho phép ion Pb xâm nhập vào cơ thể và tích tụ trong các cơ quan khác, điều này giải thích sự giảm đáng kể tỷ lệ $\frac{Pb_{mang}}{Pb_{gan}}$ sau 7 ngày.

➤ So sánh sự tích tụ ion Pb giữa mang và thịt của nhóm cá đối chứng, kết quả cho thấy ion Pb tập trung ở mang nhiều hơn thịt từ 34,3 đến 36,9 lần. Kết quả trong bảng 3.6 cho thấy, lượng ion Pb tập trung tại mang cá phơi nhiễm Pb^{2+} 20 mg/L cao hơn so với thịt cá từ 3,2 đến 4,3 lần. Đối với nhóm phơi nhiễm Pb^{2+} 30 mg/L, lượng ion Pb tập trung tại mang cao gấp từ 3,1 – 3,9 lần so với lượng ion Pb tập trung ở thịt. Lượng ion Pb tích tụ ở mang cá phơi nhiễm Pb^{2+} 40 mg/L cao gấp từ 1,9 đến 4,2 lần so với lượng ion Pb tích tụ ở thịt cá phơi nhiễm.

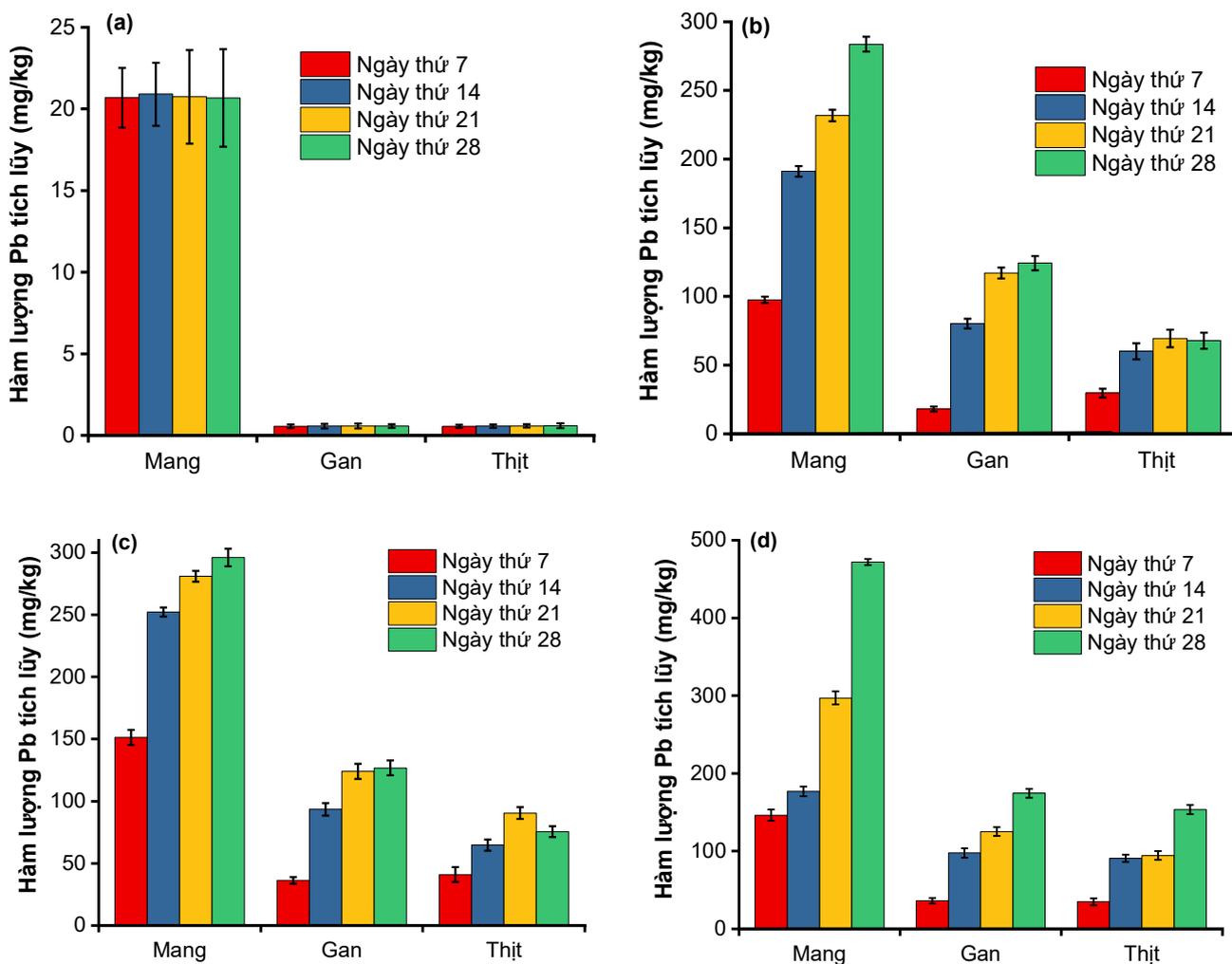
So với tỷ lệ $\frac{Pb_{mang}}{Pb_{gan}}$, tỷ lệ $\frac{Pb_{mang}}{Pb_{thịt}}$ trong cá phơi nhiễm ion Pb ít thay đổi trong suốt quá trình thí nghiệm (28 ngày), điều này có thể liên quan đến chức năng sinh lý của gan và thịt. Gan là cơ quan chính lưu trữ kim loại nặng và các dạng liên kết của lưu trữ nội bào (liên kết MTs, ferritin, ...) [79], còn ở thịt có ít protein liên kết và quá trình enzyme hơn so với gan, vì vậy chúng không tích tụ nhiều kim loại nặng như gan.

➤ So sánh sự tích tụ ion Pb giữa gan và thịt của nhóm cá đối chứng, kết quả cho thấy không có sự khác biệt về sự tích tụ ion Pb tại gan và thịt, tỷ lệ $\frac{Pb_{gan}}{Pb_{thịt}}$ của cá đối chứng là 1,0. Kết quả trong Bảng 3.3 cho thấy, ngày thứ 7 kể từ lúc bắt đầu thí nghiệm lượng ion Pb tích lũy ở gan cá rô đồng phơi nhiễm Pb^{2+} (nồng độ từ 20 đến 40mg/L) thấp hơn hoặc bằng lượng Pb ở thịt cá, tỷ lệ $\frac{Pb_{gan}}{Pb_{thịt}}$ đo được khoảng 0,6 đến 1,0. Từ ngày thứ 14 đến ngày thứ 28, hàm lượng ion Pb tích tụ tại gan cá phơi nhiễm Pb^{2+} 20 và 30 mg/L cao hơn lần lượt 1,3 đến 1,8 và 1,4 đến 1,7 lần so với thịt.

Sau ngày thứ 7 kể từ lúc phơi nhiễm Pb^{2+} 40 mg/L, hàm lượng ion Pb tích tụ ở gan cá cao hơn 1,1 đến 1,8 lần so với thịt.

Sự tích tụ ion Pb tại gan cao hơn so với tại thịt sau ngày thứ 7 kể từ lúc phơi nhiễm cho thấy gan tích tụ ion Pb ở tốc độ cao hơn thịt. Phát hiện này đã được chỉ ra trong các nghiên cứu trước đây [80]. Ngoài ra, kết quả của nghiên cứu này cũng nhấn mạnh sự vai trò của gan đối với quá trình tích tụ kim loại nặng. Một số nghiên cứu trước đây đã ghi nhận rằng sự tích tụ kim loại ở gan cá cao hơn so với ở thịt cá [77, 81-83], điều này có thể liên quan đến sự cảm ứng và liên kết MTs, do gan là bộ phận liên tục tích tụ, chuyển hóa sinh học và giải độc [84-87]. Kim loại nặng sau khi xâm nhập vào cơ thể thì phần lớn bị giữ lại ở gan, chỉ một phần nhỏ theo máu để đến các bộ phận khác trong cơ thể [88]. Những kết quả này phù hợp với giả thuyết rằng sự tích tụ ở thịt chỉ trở nên quan trọng khi khả năng dự trữ của gan đã đạt đến mức tối đa.

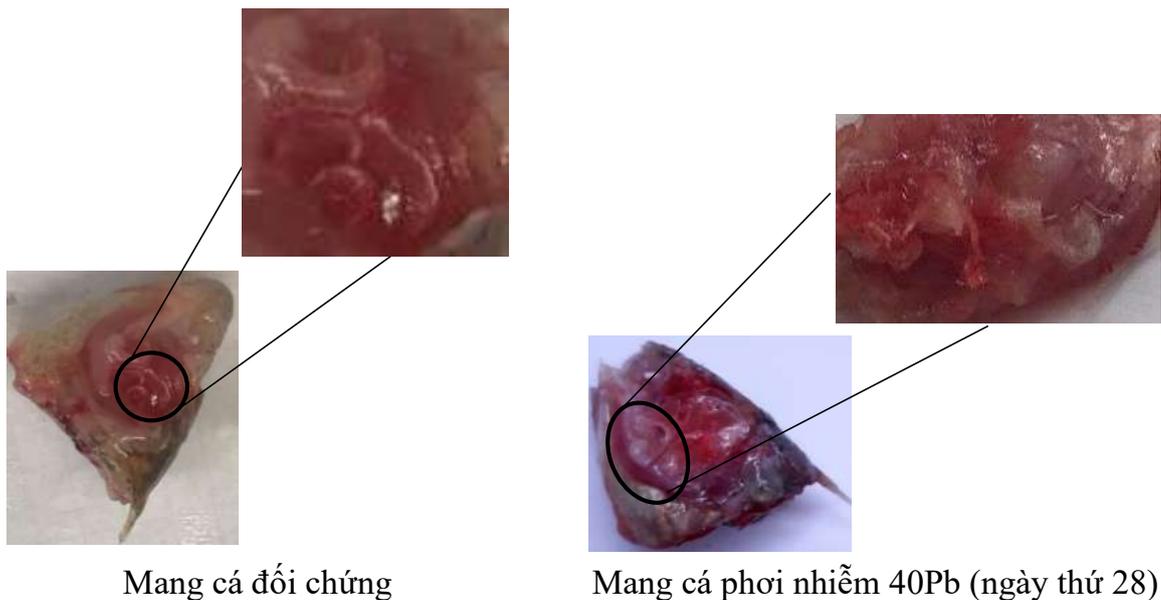
Sự phân bố và tích lũy ion Pb tại mang, gan và thịt trong cá rô đồng được trình bày trên Hình 3.11.



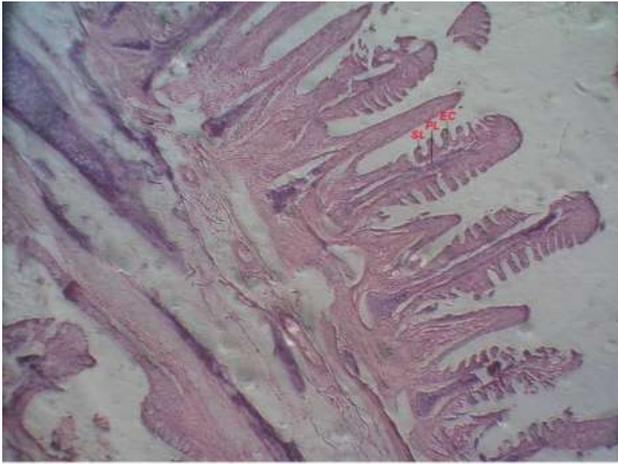
Hình 3.11. Sự phân bố và tích lũy Pb^{2+} tại mang, gan và thịt cá đối chứng (a) và cá phơi nhiễm 20Pb (b), 30Pb (c) và 40Pb (d)

Kết quả trên Hình 3.11 cho thấy, thứ tự về sự phân bố và tích lũy ion Pb ở mang, gan và thịt cá theo thứ tự như sau: Mang >> Gan > Thịt. Kết quả này phù hợp với những công bố trước đây [77, 89-91], sự tích lũy ion Pb trong gan cá rô phi đỏ (*Oreochromis spp*) sống trong môi trường tự nhiên, cá rô đồng (*Anabas testudineus*), cá rô phi xanh (*Oreochromis auereus*) và cá lóc (*Channa argus*) cao hơn trong thịt. Có thể giải thích cho kết quả này là do mang là mô tiếp xúc trực tiếp với môi trường nước và bề mặt của mang cá mang điện tích âm nên chúng luôn là mục tiêu đầu tiên của các cation kim loại nên việc tại mang cá tích lũy nhiều kim loại nặng hơn so với các bộ phận khác trong cơ thể là điều hoàn toàn hợp lý [92-94]. Bên cạnh đó mang cá là một cơ quan đa chức năng, ngoài việc cung cấp trao đổi khí dưới nước, còn đóng vai trò chủ đạo trong điều hòa thẩm thấu và ion, điều hòa acid-base và bài tiết chất thải nitơ [95].

Mức độ tổn thương ở mang và gan cá cũng có thể quan sát được bằng trực quan cũng như qua ảnh chụp mô học với độ phóng đại 10x (Hình 3.12, 3.13, 3.14 và Hình 3.15).



Hình 3.12. Mang cá rô đồng đối chứng và cá rô đồng sau 28 ngày phơi nhiễm 40Pb



Mang đối chứng



Mang cá phơi nhiễm 40Pb trong 28 ngày

Hình 3.13. Ảnh mô học của mang cá rô đồng đối chứng và cá rô đồng sau 28 ngày phơi nhiễm 40Pb

Ngoài chức năng hô hấp, mang cá còn đóng vai trò quan trọng trong việc điều hòa thẩm thấu điều chỉnh cân bằng acid – base giúp cân bằng ion trong cơ thể cá. Do diện tích bề mặt mang lớn, dễ hấp thụ và khuếch tán các ion kim loại từ nước. Việc phải sống trong môi trường ô nhiễm Pb^{2+} cho thấy các phiến mang bị nát, không còn hình thái như ở nhóm cá đối chứng (Hình 3.12). Ảnh chụp mô học của mang cá đối chứng thấy rằng các hàng phiến mang thứ cấp (SL) phát triển dày, đều đặn và diện tích lớn. Bên cạnh đó xương cung mang của cá đối chứng có sự đều đặn và khá dày. Tuy nhiên với mang cá sống trong suốt quá trình phơi nhiễm Pb^{2+} 28 ngày ở nồng độ 40 mg/L có thể thấy các bất thường ở các hàng phiến mang thứ cấp như các phiến mang thứ cấp bị hoại tử biểu hiện qua việc hàng phiến mang thứ cấp rất thưa, ngắn, diện tích phiến mang thứ cấp bị nhỏ lại. Bên cạnh đó có sự tăng sản tế bào nội mô (EC) biểu hiện qua sự hợp nhất giữa các phiến mang thứ cấp hình thành các cục u ở phiến mang thứ cấp. Sự tăng sản này là một cơ chế tự nhiên của cá để phòng vệ trước những xâm nhập của các chất gây ô nhiễm. Mặc khác, xương cung mang của nhóm cá phơi nhiễm bị mất đi sự đều đặn và mỏng (Hình 3.13).

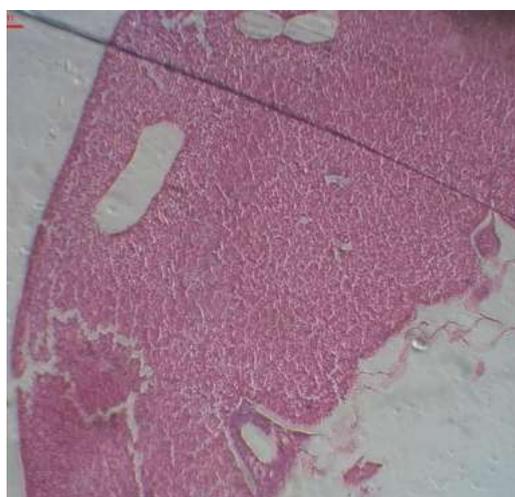


Gan cá đối chứng

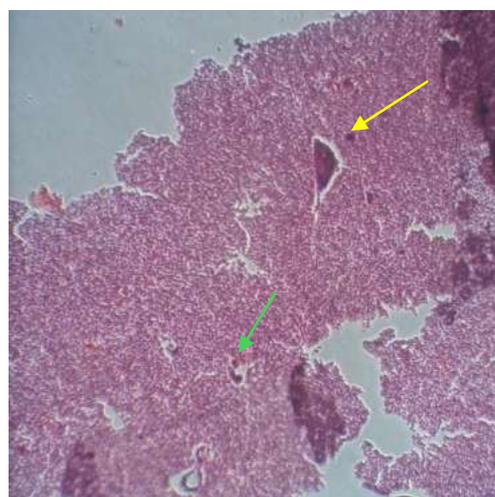


Gan cá phơi nhiễm 40Pb (ngày thứ 28)

Hình 3.14. Gan cá rô đồng đối chứng và cá rô đồng sau 28 ngày phơi nhiễm 40Pb



Gan cá đối chứng



Gan cá phơi nhiễm 40Pb (ngày thứ 28)

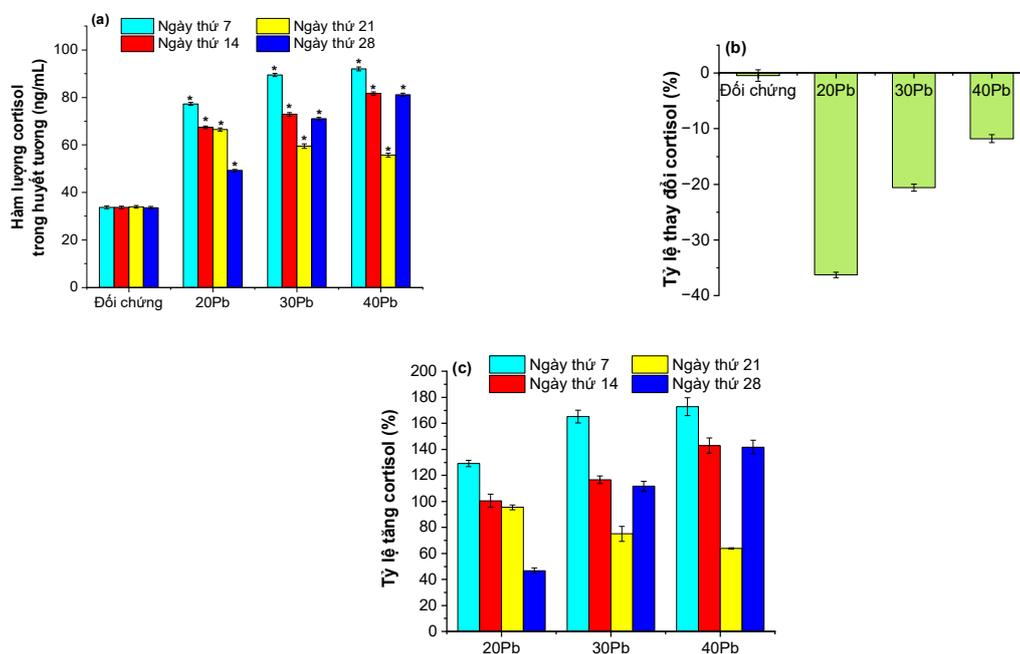
Hình 3.15. Ảnh mô học của gan cá rô đồng đối chứng và cá rô đồng sau 28 ngày phơi nhiễm 40Pb

Do dễ bị nhiễm kim loại nặng nên gan được xem như một chỉ số về ô nhiễm nước, việc cá rô đồng sống trong môi trường nhiễm Pb^{2+} trong 28 ngày đã gây tác động mạnh đến gan. Quan sát bằng trực quan có thể thấy gan nhóm cá đối chứng có màu sáng trong khi gan ở nhóm cá phơi nhiễm có nhiều vết đỏ bầm (Hình 3.14). Còn với hình ảnh mô học ở nhóm cá đối chứng có thể thấy mô gan cá đối chứng có màu hồng tươi, các tế bào gan được sắp xếp chặt chẽ và đều đặn. Còn với nhóm cá phơi nhiễm mô gan lại là màu hồng sậm, các tế bào gan mất đi sự đều đặn. Thêm vào đó có sự lắng đọng các giọt lipid màu vàng (mũi tên màu xanh) có thể là do rối loạn sinh hóa vì vậy tế bào gan không oxy hóa được acid béo làm thay đổi quá trình tổng hợp protein, điều hòa ion và cạn kiệt nguồn năng lượng. Mặt khác, có những vết màu đỏ sậm trong mô gan cá phơi nhiễm (mũi tên màu vàng) có thể là do sự rò rỉ các tế bào máu ra khỏi tĩnh mạch trung tâm (Hình 3.15). Tất cả các biểu hiện này trong mô gan cá phơi nhiễm được cho là do sự hoại tử của tế bào gan.

Việc nghiên cứu ảnh hưởng của chất ô nhiễm lên biểu mô của cá rô đồng (*Anabas testudineus*) cũng đã được nhiều báo cáo đề cập như sự ảnh hưởng của fullerene C₆₀ lên cá rô đồng thể hiện qua hoạt động của enzyme acetylcholinesterase trong não giảm đáng kể làm thay đổi những hành vi của cá. Sự tích tụ fullerene C₆₀ trong ruột cá được thể hiện qua các khối đen cho thấy sự thoái hóa nghiêm trọng của lớp mô lamina propria [96]. Năm 2023 Susri Nayak và cộng sự báo cáo sự thay đổi mô học ở mang cá như mất cấu trúc mang, hoại tử, phòng rộp biểu mô và phù nề do tác động của Naphthalene lên cá. Sự biến dạng này của mô mang đã làm giảm diện tích bề mặt hô hấp ảnh hưởng đến khả năng vận chuyển oxy và chức năng điều hòa thẩm thấu [97]. Còn với tác động lên mô gan của Naphthalene trên cá chủ yếu là hoại tử, phì đại tế bào gan, không bào hóa trong tế bào gan, tích tụ lipid xung quanh tĩnh mạch trung tâm, tổn thương tĩnh mạch trung tâm và tổn thương cấu trúc tế bào do thành tế bào bị vỡ đẩy nhân ra ngoài vi (Lipika Patnaik, 2025, [98])

c. Tác động độc tính bán trường diễn của Pb²⁺ đến sự thay đổi cortisol trong huyết tương cá rô đồng

Ảnh hưởng của Pb²⁺ đến lượng cortisol trong huyết tương của cá rô đồng được trình bày trên Hình 3.16a và kết quả được trình bày trong Phụ lục 27.



Hình 3.166. (a) Sự thay đổi nồng độ cortisol trong huyết tương cá rô đồng đối chứng và cá rô đồng phơi nhiễm Pb²⁺; (b) Tỷ lệ giảm cortisol trong huyết tương cá rô đồng giữa ngày thứ 28 so với ngày thứ 7 kể từ lúc bắt đầu phơi nhiễm Pb²⁺ và (c) Tỷ lệ tăng cortisol trong huyết tương của cá rô đồng phơi nhiễm Pb²⁺ so với cá đối chứng

(Giá trị chính \pm SD, n = 3);

*Sự khác biệt đáng kể ($p < 0,05$) về nồng độ cortisol trong máu cá đối chứng và cá phơi nhiễm Pb²⁺

- Kết quả phân tích thống kê cho thấy lượng cortisol trong huyết tương cá rô đồng nhiễm ion Pb cao hơn đáng kể ($p < 0,05$) so với cá đối chứng. Lượng cortisol trong huyết tương cá đối chứng dao động khoảng từ $33,59 \pm 0,48$ đến $34,00 \pm 0,56$ ng/mL. Đối với cá rô đồng sống trong nước nhiễm Pb^{2+} 20 mg/L, lượng cortisol trong huyết tương tăng cao tại ngày thứ 7 ($77,30 \pm 0,62$ ng/mL), hơn 2,3 lần so với cá đối chứng. Mặc dù, lượng cortisol trong huyết tương cá rô đồng từ ngày thứ 14 đến ngày thứ 28 giảm so với ngày thứ 7 kể từ lúc phơi nhiễm Pb^{2+} 20 mg/L, nhưng vẫn cao hơn đáng kể so với lượng cortisol trong huyết tương cá đối chứng. Tại các ngày thứ 14, 21 và 28, lượng cortisol trong huyết tương cá rô đồng phơi nhiễm Pb^{2+} 20 mg/L đo được lần lượt là $67,45 \pm 0,56$; $66,45 \pm 0,70$ và $49,26 \pm 0,44$ ng/mL (Hình 3.16a), cao hơn so với cá đối chứng từ 1,5 đến 2,0 lần.

+ Rối loạn cortisol đã xảy ra ở những con cá sống lâu (>14 ngày) trong nước bị ô nhiễm ion Pb nồng độ cao (30, 40 mg/L). Đối với cá rô đồng phơi nhiễm Pb^{2+} 30 và 40 mg/L, lượng cortisol trong huyết tương tăng cao tại ngày thứ 7 và giảm dần đến ngày thứ 21 sau đó tăng lên ở ngày thứ 28. Mặc dù, lượng cortisol trong huyết tương cá phơi nhiễm ion Pb ngày thứ 21 giảm so với ngày thứ 7, tuy nhiên vẫn cao hơn đáng kể so với cá đối chứng. Ngược lại, lượng cortisol trong huyết tương cá phơi nhiễm ion Pb tại ngày thứ 28 tăng lên nhưng vẫn thấp hơn so với lượng cortisol đo được tại ngày thứ 7.

+ Đối với cá phơi nhiễm Pb^{2+} 30 mg/L, nồng độ cortisol trong huyết tương đo được tại ngày thứ 7 là $89,48 \pm 0,70$ ng/mL, cao hơn 2,7 lần so với cá đối chứng. Tại ngày thứ 14, 21 và 28, nồng độ cortisol trong huyết tương cá phơi nhiễm Pb^{2+} 30 mg/L đo được lần lượt là $72,90 \pm 0,78$; $59,50 \pm 0,97$ và $71,07 \pm 0,52$ ng/mL, cao hơn so với cá đối chứng từ 1,8 đến 2,7 lần. Đối với cá phơi nhiễm Pb^{2+} 40 mg/L, nồng độ cortisol trong huyết tương đo được tại ngày thứ 7, 14, 21 và 28 lần lượt là $92,05 \pm 0,84$; $81,71 \pm 0,63$; $55,73 \pm 0,84$ và $81,18 \pm 0,67$ ng/mL, cao hơn từ 1,6 đến 2,7 lần so với nhóm cá đối chứng.

- Hình 3.16b trình bày tỷ lệ giảm cortisol trong huyết tương cá giữa ngày thứ 28 so với ngày thứ 7 kể từ lúc bắt đầu thí nghiệm. Đối với cá đối chứng, vì không có sự khác biệt đáng kể về nồng độ cortisol giữa ngày thứ 28 và ngày thứ 7, do đó tỷ lệ cortisol trong huyết tương cá đối chứng giảm khoảng $0,44 \pm 1,03$ %. Trái ngược với cá đối chứng, nồng độ cortisol trong huyết tương cá rô đồng phơi nhiễm ion Pb ngày thứ 28 giảm đáng kể so với ngày thứ 7, với tỷ lệ giảm là $36,27 \pm 0,49$ % đối với nhóm 20Pb; $20,57 \pm 0,63$ % đối với nhóm 30Pb và $11,80 \pm 0,72$ % đối với nhóm 40Pb. Đáng chú ý, cá phơi nhiễm ion Pb nồng độ càng cao thì tỷ lệ giảm cortisol càng thấp, điều

này có thể là do rối loạn sản xuất cortisol đối với nhóm cá 30Pb và 40Pb sau 14 ngày kể từ lúc phơi nhiễm.

- Hình 3.16c trình bày tỷ lệ tăng cortisol trong huyết tương cá phơi nhiễm ion Pb so với cá đối chứng. Nồng độ cortisol trong huyết tương cá phơi nhiễm Pb^{2+} 20 mg/L đo được tại các ngày thứ 7, 14, 21 và 28 tăng lần lượt khoảng $129,16 \pm 2,44$; $100,47 \pm 5,04$; $95,46 \pm 1,90$ và $46,68 \pm 2,11$ % so với cá đối chứng. Tỷ lệ cortisol trong huyết tương cá nhiễm Pb^{2+} 30 mg/L tại ngày thứ 7 tăng $165,28 \pm 4,86$ %; ngày thứ 14 tăng $116,66 \pm 2,97$ %; ngày thứ 21 tăng $75,05 \pm 5,67$ % và ngày thứ 28 tăng $111,64 \pm 3,77$ %. Đối với nhóm cá nhiễm Pb^{2+} 40 mg/L, tỷ lệ cortisol trong huyết tương cá đo được tại các ngày thứ 7, 14, 21 và 28 tăng lần lượt khoảng $172,92 \pm 6,82$; $142,88 \pm 5,98$; $63,91 \pm 0,46$ và $141,75 \pm 5,24$ % so với cá đối chứng. Những phát hiện này khẳng định ion Pb là tác nhân hóa học gây căng thẳng đối với cá rô đồng.

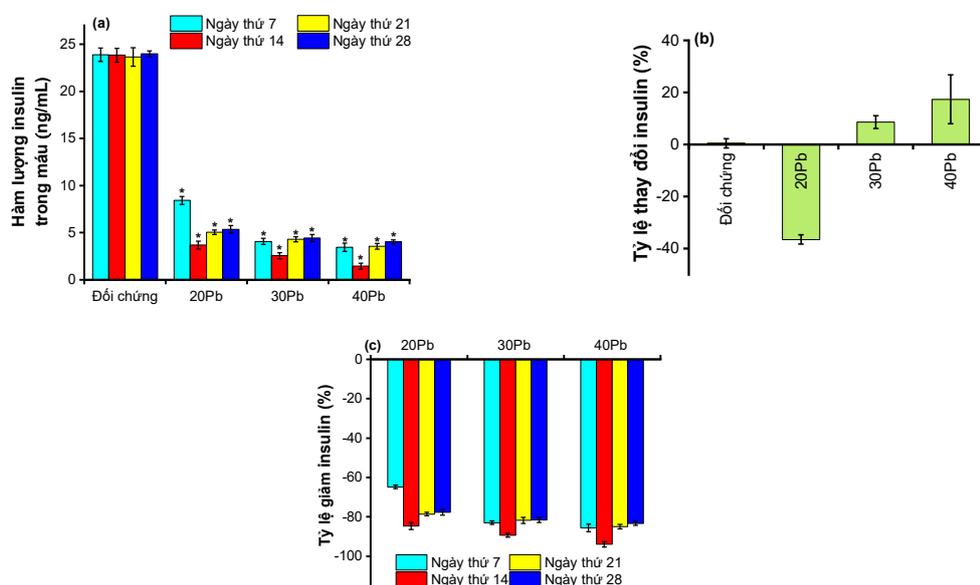
Phản ứng căng thẳng là một quá trình phức tạp, dường như được kiểm soát bởi một số chất hóa học thần kinh liên quan đến trục HPI [99], là nơi kiểm soát sản xuất glucocorticoid (cortisol) và cân bằng nội môi, điều hòa nhiều chức năng sinh lý quan trọng, bao gồm quá trình trao đổi chất, chức năng miễn dịch, cân bằng ion và nước. Khi sinh vật bị căng thẳng, vùng dưới đồi sẽ sản xuất ra CRH, CRH đi vào trong huyết tương sẽ tiếp tục kích thích thùy trước tuyến yên sản xuất ACTH, cuối cùng ACTH kích thích tuyến liên thận giải phóng cortisol. Các nghiên cứu trước đây cho thấy kim loại nặng là tác nhân hóa học gây rối loạn chức năng hệ nội tiết của cá. Lượng cortisol trong cơ thể cá có liên quan trực tiếp đến nồng độ và mức độ độc của chất ô nhiễm. Cá sống trong nước ô nhiễm thường bị kiệt sức do rối loạn giải phóng cortisol. Chất ô nhiễm sẽ tác động lên một loạt các bộ phận như tuyến yên, vùng dưới đồi và tuyến thượng thận làm rối loạn hoạt động tuyến thượng thận dẫn đến ức chế hoặc tăng giải phóng cortisol hơn mức bình thường. Một số chất hóa học tác động lên chuỗi phản ứng chuyển hóa nên trực tiếp ảnh hưởng đến thần kinh và chức năng bên trong các mô [99-105]. Ion Pb gây căng thẳng giảm sinh cortisol đối với cá điêu hồng (*Oreochromis SP.*) [54], nồng độ cortisol trong huyết tương của cá rô vàng (*Perca flavescens*) và cá cẩu (*Esox lucius*) sống trong môi trường ô nhiễm (10 ng/mL) cao hơn so với cortisol của các loài cá này sống trong môi trường không bị ô nhiễm (0 – 5 ng/mL) [106]. Một nghiên cứu khác cho thấy nồng độ cortisol của cá ba gai lưng (*Gasterosteus aculeatus L.*) sống trong nước ô nhiễm nitrate, nitrite và ammoniac cao hơn so với cùng loài cá sống ở nơi ít hoặc không bị ô nhiễm, nguyên nhân có thể là do chức năng trục HPI bị gián đoạn [107]. Tiếp xúc cấp tính với chất gây ô nhiễm thường gây ra căng thẳng, nhưng tiếp xúc kéo dài có thể làm suy yếu khả năng phản ứng với căng thẳng [108]. Lượng cortisol được giải phóng trong nhiều giờ sau khi gặp phải tác nhân gây căng

thẳng và khi đạt được nồng độ cortisol cần thiết, cortisol sẽ tạo ra phản hồi tiêu cực đến vùng dưới đồi, đưa trạng thái cân bằng toàn thân trở lại [109, 110]. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy loài cá bống tròn (*Neogobius melanostomus*) là loài có khả năng phục hồi [108], tiếp xúc với tác nhân gây căng thẳng (hydrocarbon thơm đa vòng và kim loại nặng), nồng độ cortisol trong huyết tương của cá bống tròn tăng lên 100,3 ng/mL sau 10 phút; 87,5 ng/mL sau 30 phút và trở lại mức bình thường (22,3 ng/mL) sau 1,0 giờ [108]. Sự thay đổi lượng cortisol trong huyết tương cá có thể chỉ ra tình trạng sức khỏe của quần thể cá.

↳ Các kết quả về sự thay đổi cortisol trong huyết tương cá rô đồng của nghiên cứu này cho thấy, tiếp xúc lâu dài với Pb^{2+} ở nồng độ cao gây ra phản ứng căng thẳng, ảnh hưởng tiêu cực đến hoạt động của trục HPI, dẫn đến rối loạn sản xuất cortisol.

d. Tác động độc tính bán trường diễn của Pb^{2+} đến sự thay đổi insulin trong máu cá rô đồng

Ảnh hưởng của ion Pb đến sự thay đổi nồng độ insulin trong máu của cá rô đồng được trình bày trên Hình 3.17a và kết quả được trình bày trong Phụ lục 28. Nồng độ insulin trong máu cá rô đồng phơi nhiễm ion Pb thấp hơn đáng kể ($p < 0,05$) so với cá đối chứng. Nồng độ insulin trong máu cá đối chứng dao động khoảng từ $23,67 \pm 0,99$ đến $24,01 \pm 0,31$ ng/mL. Đáng chú ý, nồng độ insulin trong máu cá phơi nhiễm ion Pb giảm xuống mức thấp nhất vào ngày thứ 14 và sau đó tăng nhẹ cho đến ngày thứ 28.



Hình 3.17. (a) Sự thay đổi nồng độ insulin trong máu cá rô đồng đối chứng và cá rô đồng phơi nhiễm Pb^{2+} ; (b) Tỷ lệ thay đổi insulin trong máu cá rô đồng giữa ngày thứ 28 so với ngày thứ 7 kể từ lúc bắt đầu phơi nhiễm Pb^{2+} và (c) Tỷ lệ giảm insulin trong máu của cá rô đồng phơi nhiễm Pb^{2+} so với cá đối chứng

(Giá trị chính \pm SD, n = 3);

*Sự khác biệt đáng kể ($p < 0,05$) về lượng insulin trong máu cá đối chứng và cá phơi nhiễm Pb^{2+}

- Kết quả trên Hình 3.17a cho thấy tác động của ion Pb lên hoạt động sản xuất insulin trong cá rô đồng phụ thuộc vào nồng độ. Đáng chú ý, cá phơi nhiễm ion Pb ở nồng độ cao thì mức insulin trong máu thấp hơn, điều này có thể liên quan đến chứng chán ăn của phơi nhiễm ion Pb nồng độ cao dẫn đến giảm khả năng sản xuất insulin. Nồng độ insulin đo được vào ngày thứ 7 là $8,42 \pm 0,41$ ng/mL đối với nhóm cá 20Pb; $4,07 \pm 0,32$ ng/mL đối với nhóm 30Pb và $3,44 \pm 0,43$ ng/mL đối với nhóm 40Pb, giảm 2,8 đến 6,9 lần so với cá đối chứng. Nồng độ insulin đo được vào ngày thứ 14 là $3,67 \pm 0,42$; $2,55 \pm 0,32$ và $1,44 \pm 0,32$ ng/mL tương ứng với nhóm cá phơi nhiễm Pb^{2+} 20, 30 và 40 mg/L, giảm từ 6,5 đến 16,6 lần so với cá đối chứng. Nồng độ insulin trong máu cá phơi nhiễm ion Pb đo được tại ngày thứ 28 là $5,35 \pm 0,42$ ng/mL đối với 20Pb; $4,42 \pm 0,37$ ng/mL đối với 30Pb và $4,01 \pm 0,23$ ng/mL đối với 40Pb, cao hơn so với ngày thứ 14 từ 1,46 đến 2,78 lần.

- Tỷ lệ thay đổi insulin trong máu cá giữa ngày thứ 28 so với ngày thứ 7 kể từ lúc bắt đầu phơi nhiễm được trình bày trên Hình 3.17b. Không có sự khác biệt đáng kể về lượng insulin trong máu cá đối chứng giữa ngày thứ 28 và ngày thứ 7, do đó tỷ lệ insulin trong máu cá đối chứng tăng khoảng $0,50 \pm 1,80$ %. Chỉ là một kim loại không thiết yếu, không có chức năng sinh học và có thể gây độc cho động vật thủy sinh khi tiếp xúc ở nồng độ cao và kéo dài thời gian tiếp xúc. Kết quả trên Hình 3.17b cho thấy, đối với cá phơi nhiễm Pb^{2+} 20 mg/L, tỷ lệ insulin trong máu đo được tại ngày thứ 28 giảm $36,48 \pm 1,80$ % so với ngày thứ 7. Ngược lại, tỷ lệ insulin trong máu cá phơi nhiễm Pb^{2+} 30 và 40 mg/L đo được tại ngày thứ 28 tăng so với ngày thứ 7, tăng khoảng $8,67 \pm 2,48$ đối với nhóm 30Pb và $17,39 \pm 9,40$ % đối với nhóm 40Pb.

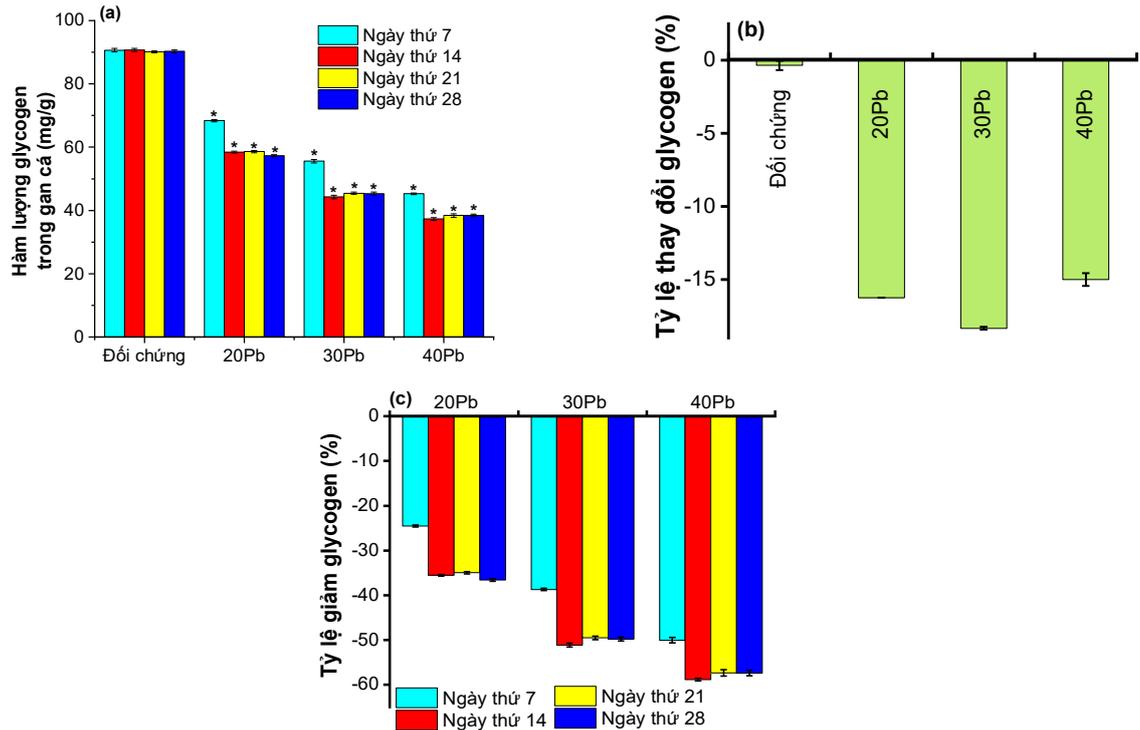
- Tỷ lệ giảm insulin trong máu của cá rô đồng phơi nhiễm ion Pb so với cá đối chứng được trình bày trên Hình 3.17c. So với cá đối chứng, tỷ lệ insulin trong máu cá rô đồng phơi nhiễm Pb^{2+} 20 mg/L giảm $64,78 \pm 0,82$ % ở ngày thứ 7; $84,61 \pm 1,82$ % ở ngày thứ 14; $78,64 \pm 0,90$ % ở ngày thứ 21 và $77,71 \pm 1,50$ % ở ngày thứ 28. Tỷ lệ insulin trong máu cá rô đồng phơi nhiễm Pb^{2+} 30 mg/L tại các ngày thứ 7, 14, 21 và 28 giảm so với cá đối chứng lần lượt là $82,99 \pm 0,87$; $89,31 \pm 1,00$; $81,77 \pm 1,57$ và $81,59 \pm 1,32$ %. Tỷ lệ insulin trong nhóm cá phơi nhiễm Pb^{2+} 40 mg/L giảm so với cá đối chứng là $85,59 \pm 1,95$ % (ngày thứ 7); $93,95 \pm 1,42$ % (ngày thứ 14); $84,96 \pm 1,19$ % (ngày thứ 21) và $83,28 \pm 1,05$ % (ngày thứ 28).

Mặc dù, không có cá chết trong tất cả các thí nghiệm ô nhiễm ion Pb, tuy nhiên sự giảm đáng kể lượng insulin trong máu cá phơi nhiễm ion Pb, cho thấy tác hại của ion Pb đến hoạt động của tuyến tụy, dẫn đến rối loạn giải phóng insulin. Insulin là một dipeptide bao gồm một chuỗi A có 21 amino acid và một chuỗi B có 30 amino acid được liên kết với nhau bằng liên kết disulfide, hai chuỗi insulin tạo thành một cấu trúc

có trật tự cao với các vùng xoắn ốc trong mỗi chuỗi và các chuỗi insulin riêng lẻ không hoạt động. Insulin được tổng hợp bởi các tế bào β tuyến tụy ở các đảo Langerhans [111]. Insulin chuyển hóa glucose thành năng lượng và tích trữ glucose trong cơ bắp, tế bào mỡ và gan dưới dạng glycogen. Sau khi ăn, lượng glucose trong máu sẽ tăng lên, sự gia tăng glucose này sẽ kích hoạt tuyến tụy giải phóng insulin đi vào máu đến các tế bào của cơ thể, nó ra lệnh cho các tế bào mở ra để cho glucose xâm nhập vào. Khi vào bên trong, các tế bào sẽ chuyển glucose thành năng lượng hoặc tích trữ dưới dạng glycogen. Nếu không có insulin, cơ thể không thể sử dụng hoặc tích trữ glucose để tạo năng lượng. Cạn kiệt insulin, phần lớn các tế bào trong cơ thể không thể hấp thụ glucose và bắt đầu chuyển sang sử dụng các nhiên liệu thay thế như acid béo để cung cấp năng lượng [111]. Cá bị căng thẳng do ô nhiễm sẽ phát ra các dấu hiệu như một phản ứng với các rối loạn trong cơ thể, phản ứng căng thẳng của cá được đặc trưng bởi những thay đổi về sinh lý, thay đổi quá trình trao đổi chất, phá vỡ cân bằng nội môi trong cơ thể [112]. Tác hại của ion Pb đến cá rô đồng trong nghiên cứu này được nhận biết qua hành vi bơi chậm chạp và chán ăn. Tín hiệu căng thẳng bởi ion Pb được truyền đến vùng dưới đồi thông qua hệ thần kinh, thúc đẩy tuyến thượng thận giải phóng catecholamine – nhóm hormone và chất dẫn truyền thần kinh được sản xuất trong cơ thể. Catecholamine ức chế sản xuất insulin bằng cách kích thích thụ thể α của tuyến tụy [113], điều này giải thích cho hiện tượng giảm lượng insulin trong cá phơi nhiễm ion Pb đến ngày thứ 14. Tuy nhiên, căng thẳng kéo dài có thể hormone catecholamine đã kích thích thụ thể β của tuyến tụy dẫn đến giải phóng insulin, điều này giải thích cho hiện tượng tăng nhẹ lượng insulin trong cá phơi nhiễm ion Pb từ ngày thứ 21 đến ngày thứ 28.

↪ Các kết quả về sự thay đổi insulin trong máu cá rô đồng của nghiên cứu này cho thấy, tiếp xúc lâu dài với ion Pb ở nồng độ cao gây ra phản ứng căng thẳng, ảnh hưởng tiêu cực đến hoạt động của tuyến tụy, dẫn đến rối loạn sản xuất insulin.

e. Tác động độc tính bán trường diễn của Pb^{2+} đến sự thay đổi glycogen trong gan cá rô đồng



Hình 3.18. (a) Sự thay đổi hàm lượng glycogen trong gan cá rô đồng đối chứng và cá rô đồng phơi nhiễm Pb^{2+} ; (b) Tỷ lệ giảm glycogen trong gan cá rô đồng giữa ngày thứ 28 so với ngày thứ 7 kể từ lúc bắt đầu phơi nhiễm Pb^{2+} và (c) Tỷ lệ giảm glycogen trong gan của cá rô đồng phơi nhiễm Pb^{2+} so với cá đối chứng

(Giá trị chính \pm SD, n = 3);

*Sự khác biệt đáng kể ($p < 0,05$) về lượng glycogen trong gan cá đối chứng và cá phơi nhiễm Pb^{2+}

Ảnh hưởng của ion Pb đến sự thay đổi glycogen trong gan cá rô đồng được trình bày trên Hình 3.18a và kết quả được trình bày trong Phụ lục 29. Hàm lượng glycogen trong gan cá rô đồng sống trong nước ô nhiễm ion Pb thấp hơn đáng kể ($p < 0,05$) so với cá đối chứng. Hàm lượng glycogen trong gan của cá đối chứng được tìm thấy khoảng từ 90,09 đến 90,69 mg/g.

- Đối với nhóm cá phơi nhiễm ion Pb, hàm lượng glycogen trong gan cá rô đồng giảm khi nồng độ Pb^{2+} trong nước tăng và kéo dài thời gian sống trong nước ô nhiễm. Ngày thứ 7 kể từ lúc bắt đầu phơi nhiễm, hàm lượng glycogen trong gan đo được là $68,39 \pm 0,36$ mg/g đối với nhóm phơi nhiễm 20Pb; $55,56 \pm 0,53$ mg/g đối với nhóm phơi nhiễm 30Pb và $45,27 \pm 0,29$ mg/g đối với nhóm phơi nhiễm 40Pb, thấp hơn so với cá đối chứng từ 1,33 đến 2,00 lần. Sau ngày thứ 7 kể từ lúc phơi nhiễm ion Pb, hàm lượng glycogen trong gan cá ít thay đổi từ ngày thứ 14 đến ngày thứ 28 kể từ lúc phơi nhiễm ion Pb, hàm lượng glycogen trong gan cá đo được từ $57,28 \pm 0,30$ đến $58,60 \pm 0,39$ mg/g đối với nhóm phơi nhiễm 20Pb; từ $44,30 \pm 0,56$ đến $45,47 \pm 0,39$ mg/g đối với nhóm phơi nhiễm 30Pb và từ $37,32 \pm 0,42$ đến $38,48 \pm 0,44$ mg/g đối với

nhóm phơi nhiễm 40Pb. Sự giảm đáng kể glycogen dự trữ trong gan của cá rô phi đen (*Oreochromis mossambicus*) tiếp xúc với Pb^{2+} (17,5 và 35,0 mg/L) mức dưới ngưỡng gây chết cũng đã được báo cáo [114]. Sự giảm hàm lượng glycogen trong gan cũng đã được phát hiện đối với cá đầu rắn đốm (*Channa perfatus*) sống trong nước thải [115]. Các nghiên cứu cũng cho thấy, hàm lượng glycogen dự trữ liên tục giảm đối với cá hồi vân (*Oncorhynchus mykiss*) sống trong nước ô nhiễm $CdCl_2$ dưới mức gây chết [116, 117]. Sự giảm hàm lượng glycogen đối với cá rô phi đen (*Oreochromis mossambicus*) và cá trôi Ấn Độ (*Labeo rohita*) phơi nhiễm Pb và As cũng được báo cáo [118, 119]. Ngoài ra, hàm lượng glycogen trong gan cá da trơn (*Heteropneustes Fossilis*) giảm đáng kể trong 20 ngày đầu phơi nhiễm As và Pb [44].

- Hình 3.18b trình bày tỷ lệ giảm glycogen trong gan cá giữa ngày thứ 28 so với ngày thứ 7 kể từ lúc bắt đầu phơi nhiễm. Không có sự khác biệt đáng kể về hàm lượng glycogen trong gan cá đối chứng giữa ngày thứ 28 và ngày thứ 7, do đó tỷ lệ glycogen trong gan cá đối chứng giảm khoảng $0,35 \pm 0,32$ %. So với ngày thứ 7, tỷ lệ glycogen trong gan cá phơi nhiễm ion Pb ngày thứ 28 giảm là $16,24 \pm 0,01$ % đối với nhóm phơi nhiễm 20Pb; $18,33 \pm 0,10$ % đối với nhóm phơi nhiễm 30Pb và $17,66 \pm 0,43$ % đối với nhóm phơi nhiễm 40Pb.

- Tỷ lệ giảm glycogen trong gan cá rô đồng phơi nhiễm ion Pb so với cá đối chứng được trình bày trên Hình 3.18c. so với cá đối chứng, tỷ lệ glycogen trong gan cá của nhóm phơi nhiễm 20Pb đã giảm $24,55 \pm 0,21$ % ở ngày thứ 7; $35,55 \pm 0,16$ % ở ngày 14; $34,95 \pm 0,25$ % ở ngày 21 và $36,58 \pm 0,30$ % ở ngày thứ 28. Tỷ lệ glycogen trong gan cá của nhóm phơi nhiễm 30Pb giảm so với cá đối chứng là $38,70 \pm 0,27$ % (ngày thứ 7); $51,15 \pm 0,43$ % (ngày thứ 14); $49,52 \pm 0,40$ % (ngày thứ 21) và $49,77 \pm 0,41$ % (ngày thứ 28). Từ ngày thứ 7 đến ngày thứ 28 kể từ lúc phơi nhiễm ion Pb, tỷ lệ glycogen trong gan cá nhóm phơi nhiễm 40Pb giảm so với cá đối chứng từ $50,05 \pm 0,61$ đến $58,85 \pm 0,28$ %.

Là một đại phân tử polysaccharide đa nhánh của glucose, glycogen là nguồn năng lượng dự trữ chính cho cá và các loài động vật khác. Bởi vì glycogen là một chỉ số quan trọng cho hoạt động sống của cơ thể nên hàm lượng glycogen trong các bộ phận khác nhau của cơ thể cá đã được nghiên cứu trong một thời gian dài [120]. Đối với cá, glycogen được dự trữ nhiều nhất trong gan, cơ và một phần ở não cá. Hàm lượng glycogen trong các bộ phận của cơ thể có thể thay đổi bởi vì nó được sử dụng khi cần thiết và được dự trữ trở lại khi hấp thụ thêm glucose từ thức ăn. Glycogen ở gan là nguồn năng lượng dự trữ luôn có sẵn và phản ứng chuyển hóa đầu tiên đối với cá trong thời gian đói là sử dụng glycogen gan. Hàm lượng glycogen trong gan của cá trắm đen (*Mylopharyngodon piceus*) được phát hiện giảm đáng kể khi bị đói [121]. Tiếp xúc với

ion Pb có thể kích thích các hormone (như glucagon,..), tăng cường hoạt động của enzyme huy động glycogen (chủ yếu là glycogen phosphorylase) gây ra sự phân giải glycogen [114].

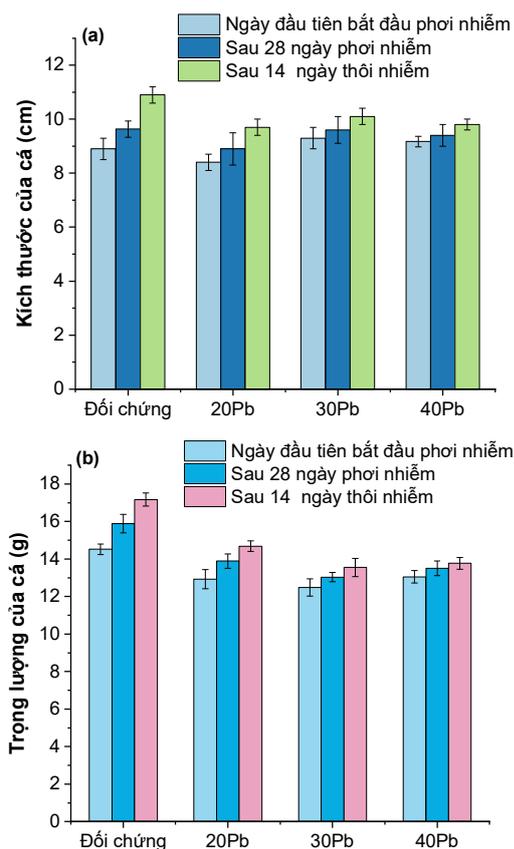
Trong nghiên cứu này, hàm lượng glycogen trong gan cá rô đồng phơi nhiễm ion Pb giảm đáng kể so với cá đối chứng. Sự giảm hàm lượng glycogen trong gan của cá rô đồng cho thấy sự gia tăng huy động glucose từ dạng dự trữ (glycogen) để đáp ứng nhu cầu năng lượng cao do căng thẳng Pb^{2+} gây ra. Ngoài ra, tác động tiêu cực của Pb^{2+} đối với cá rô đồng được nhìn thấy rõ qua việc giảm đáng kể lượng thức ăn tiêu thụ. Sự giảm đáng kể lượng thức ăn tiêu thụ đối với cá bị nhiễm độc ion Pb có thể là do sự rối loạn chức năng gan, dẫn đến giảm hoạt động của các enzyme tiêu hóa chính (proteinase và glycosidase) trong ruột. Sự giảm hoạt động của các enzyme tiêu hóa ảnh hưởng đến hiệu quả đồng hóa thức ăn ở cá [44, 122, 123] dẫn đến đói kéo dài, điều này thúc đẩy phân giải glycogen dự trữ trong gan để cung cấp glucose cho máu. Giai đoạn đầu của thời gian đói, phân giải glycogen từ gan đóng vai trò quan trọng bởi vì quá trình này giải phóng glucose và điều chỉnh cân bằng glucose trong máu [124]. Ngoài quá trình phân giải glycogen, sự cân bằng giữa quá trình đường phân và quá trình tân tạo glucose cũng rất quan trọng để duy trì cân bằng glucose trong thời gian đói [121]. Đường phân là quá trình chuyển đổi glucose thành pyruvate và tạo ra một lượng nhỏ ATP (năng lượng) và NADH (năng lượng khử). Nó tạo ra các tiền chất chuyển hóa quan trọng bao gồm glucose-6-phosphate, fructose-6-phosphate, glyceraldehyde-3-phosphate, glyceric acid-3-phosphate, phosphoenolpyruvate và pyruvate. Tân tạo glucose là quá trình tổng hợp glucose từ các tiền chất không phải carbohydrate (như lipid và protein) và về cơ bản là quá trình đảo ngược quá trình đường phân.

↪ Các kết quả về sự giảm glycogen trong gan cá rô đồng của nghiên cứu này cho thấy, tiếp xúc lâu dài với Pb^{2+} ở nồng độ cao gây ra phản ứng căng thẳng, suy yếu chức năng gan, giảm hoạt động của enzyme tiêu hóa và ảnh hưởng đến hiệu quả đồng hóa thức ăn, dẫn đến phân giải glycogen dự trữ ở gan.

3.2.2.2. Cá rô đồng phơi nhiễm Pb^{2+}

a. Sự thay đổi về trọng lượng và kích thước của cá rô đồng trong quá trình phơi nhiễm (14 ngày)

Sau 14 ngày phơi sống trong nước ô nhiễm Pb^{2+} , sự thay đổi về kích thước và trọng lượng của cá rô đồng được trình bày trên Hình 3.19 và trong Phụ lục 30.



Hình 3.19. Sự thay đổi (a) kích thước và (b) trọng lượng của cá rô đồng tại các thời điểm bắt đầu phơi nhiễm Pb^{2+} , ngày thứ 28 phơi nhiễm và ngày thứ 14 thôi nhiễm

Sau 42 ngày thí nghiệm bao gồm 28 ngày của giai đoạn phơi nhiễm và 14 ngày của giai đoạn thôi nhiễm, cá đối chứng rất khỏe mạnh, bơi nhanh, ăn tốt và phát triển bình thường. So với ngày bắt đầu phơi nhiễm (ngày bắt đầu thí nghiệm), kích thước của cá đối chứng tăng 22,50 % và trọng lượng cá đối chứng tăng 18,25 %. Trong giai đoạn phơi nhiễm (28 ngày), kích thước của cá đối chứng tăng 8,20 % và trọng lượng cá đối chứng tăng 9,44 %. Trong giai đoạn thôi nhiễm (14 ngày), kích thước của cá đối chứng tăng 13,20 % và trọng lượng cá đối chứng tăng 8,06 %. Kết quả này cho thấy điều kiện nuôi là hợp lý và không làm ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của cá rô đồng.

Tác động tiêu cực của ion Pb đối với cá rô đồng được thể hiện rõ ràng qua tình trạng phục hồi chậm. Cá rô đồng đã từng phơi nhiễm ion Pb nồng độ càng cao thì tăng trưởng về kích thước và trọng lượng càng chậm, kể cả khi được sống trong nước sạch. Mặc dù, ion Pb có ảnh hưởng nhất định đến sức khỏe và khả năng phục hồi của cá rô đồng phơi nhiễm ion Pb, tuy nhiên sau 3 ngày được sống trong nước sạch thì phản ứng của cá trở nên linh hoạt hơn và ăn nhiều thực phẩm hơn, kết quả là kích thước và trọng lượng của cá đã từng phơi nhiễm Pb^{2+} tăng (Hình 3.19 và Phụ lục 30).

+ Đối với nhóm cá đã từng phơi nhiễm Pb^{2+} 20 mg/L, kích thước và trọng lượng của cá tại ngày thứ 14 giai đoạn thôi nhiễm (ngày kết thúc thí nghiệm) tăng lần lượt là 15,10 và 13,62 % so với kích thước và trọng lượng của cá tại thời điểm bắt đầu thí nghiệm. Giai đoạn phơi nhiễm (28 ngày), kích thước và trọng lượng của nhóm cá này tăng lần lượt là 6,00 % và 7,56 %. Giai đoạn thôi nhiễm (14 ngày), kích thước và trọng lượng của nhóm cá này tăng lần lượt là 8,70 % và 5,69 %.

+ Đối với nhóm cá đã từng phơi nhiễm Pb^{2+} 30 mg/L, kích thước và trọng lượng của cá trong suốt quá trình thí nghiệm (42 ngày) tăng lần lượt là 8,90 và 8,49 %. Trong đó, giai đoạn phơi nhiễm (28 ngày), kích thước và trọng lượng của nhóm cá này tăng lần lượt là 3,20 % và 4,32 %. Giai đoạn thôi nhiễm (14 ngày), kích thước và trọng lượng của nhóm cá này tăng lần lượt là 5,50 % và 3,99 %.

+ Đối với nhóm cá đã từng phơi nhiễm Pb^{2+} 40 mg/L, kích thước và trọng lượng của cá trong 42 ngày thí nghiệm tăng lần lượt là 6,50 và 5,52 %. Trong đó, giai đoạn 28 ngày phơi nhiễm, kích thước và trọng lượng của nhóm cá này tăng lần lượt là 2,50 % và 3,52 %. Giai đoạn 14 ngày thôi nhiễm, kích thước và trọng lượng của nhóm cá này tăng lần lượt là 3,90 % và 1,92 %.

b. Sự đào thải Pb^{2+} ở mang, gan và thịt của cá rô đồng sau 14 ngày thôi nhiễm

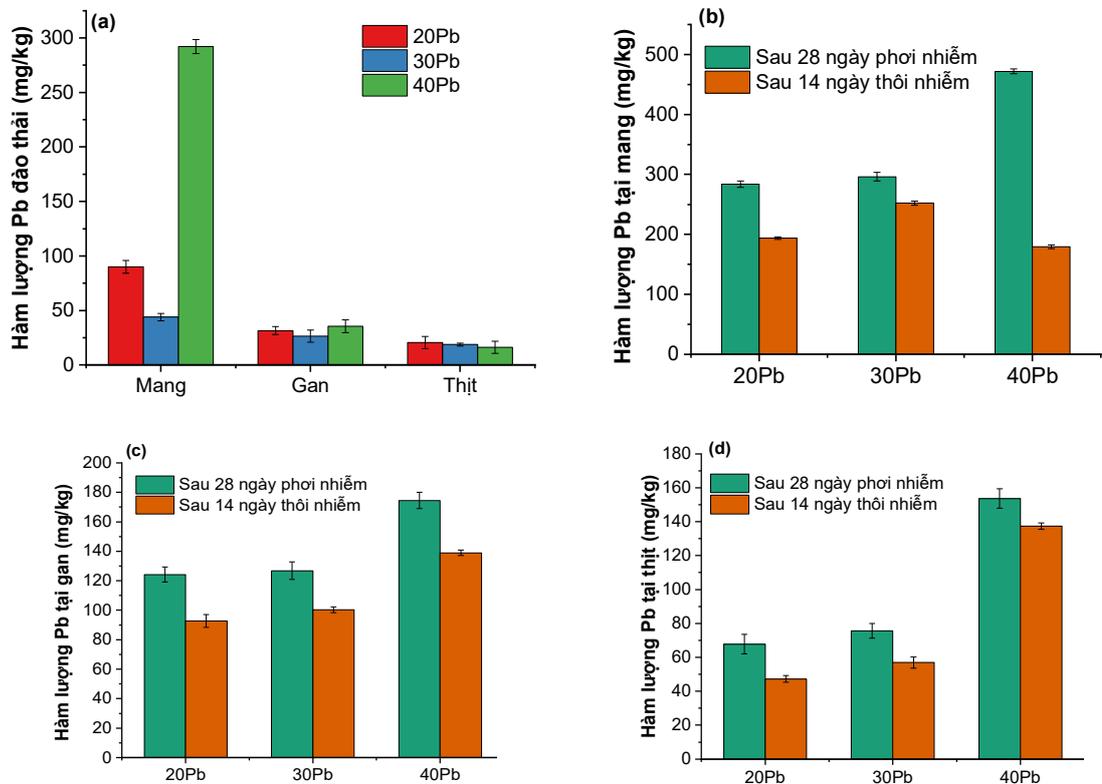
Giống như sự tích tụ, nhiều yếu tố ảnh hưởng đến quá trình đào thải kim loại ra khỏi các mô bao gồm thời gian, nhiệt độ, hoạt động trao đổi chất của động vật và cũng như chức năng của các mô. Các con đường đào thải kim loại ra khỏi cơ thể cá thường là mật, nước tiểu, mang và chất nhầy. Bên cạnh đó, quá trình đào thải kim loại nặng của cá còn phụ thuộc vào thời gian bán hủy sinh học của kim loại. Thời gian bán hủy sinh học của kim loại tại mang ngắn và thời gian bán hủy sinh học của kim loại tại gan dài [125, 126].

Sự thay đổi hàm lượng ion Pb trong mang, gan và thịt cá đã từng phơi nhiễm Pb^{2+} sau 14 ngày sống trong nước sạch so với hàm lượng ion Pb tích lũy trong cá khi mới bắt đầu sống trong nước sạch được trình bày trên Hình 3.20 và kết quả thực nghiệm trong Phụ lục 31. Hàm lượng ion Pb được đào thải ở cá phơi nhiễm sau 14 ngày sống trong nước sạch được trình bày trong Bảng 3.4.

Bảng 3.4. Hàm lượng Pb^{2+} đào thải ở các mô của cá rô đồng sau 14 ngày thôi nhiễm

Mô cá	Hàm lượng Pb^{2+} đào thải (mg/kg)		
	20Pb	30Pb	40Pb
Mang	89,99 ± 5,77	43,98 ± 3,45	292,19 ± 6,40
Gan	31,48 ± 3,68	26,42 ± 5,59	35,53 ± 5,70
Thịt	20,53 ± 5,50	18,66 ± 1,40	16,19 ± 5,68

Quá trình đào thải ion Pb tích tụ ra khỏi mang, gan và thịt cá sau 28 ngày phơi nhiễm ion Pb chủ yếu phụ thuộc vào chức năng của từng loại mô. Vì đối với quá trình đào thải, việc vận chuyển máu rất quan trọng để bài tiết qua thận và mang. Gan của các loài cá được chỉ ra là nơi giải độc chính đối với kim loại. Sau các quá trình hòa tan và liên hợp thành công trong gan, kim loại được bài tiết vào mật hoặc đưa trở lại máu để có thể bài tiết qua thận hoặc mang. Tuy nhiên, một số kim loại khó bị loại bỏ, điều này có thể dẫn đến tích tụ trong các mô của cá [79, 127]. Kết quả trên Hình 3.20 cho thấy hàm lượng ion Pb trong mang, gan và thịt cá đã từng phơi nhiễm giảm sau 14 ngày sống trong nước sạch.



Hình 3.20. Hàm lượng Pb^{2+} ở mang, gan và thịt của cá rô đồng (a) Lượng Pb^{2+} được đào thải, (b) Lượng Pb^{2+} tại mang, (c) Lượng Pb^{2+} tại gan và (d) Lượng Pb^{2+} tại thịt ở ngày thứ 28 của giai đoạn phơi nhiễm và ngày thứ 14 của giai đoạn thôi nhiễm

Đào thải Pb^{2+} từ mang: Sự đào thải bất thường đã được tìm thấy trên mang của các nhóm cá đã từng phơi nhiễm ion Pb. Sự đào thải Pb^{2+} tại mang của nhóm cá đã từng phơi nhiễm Pb^{2+} 20 mg/L là $89,99 \pm 5,77$ mg/kg. Sự đào thải ion Pb tại mang của nhóm cá đã từng phơi nhiễm Pb^{2+} 30 mg/L là $43,98 \pm 3,45$ mg/kg. Đáng chú ý, sự đào thải đáng kể Pb^{2+} trên mang của nhóm cá đã từng phơi nhiễm Pb^{2+} 40 mg/L, hàm lượng ion Pb được đào thải ở nhóm này là $292,19 \pm 6,40$ mg/kg.

Đào thải Pb²⁺ từ gan: Sự đào thải ion Pb ở gan của nhóm cá đã từng phơi nhiễm Pb²⁺ 20 mg/L là khoảng $31,48 \pm 3,68$ mg/kg. Đối với các nhóm cá đã từng phơi nhiễm Pb²⁺ 30 và 40 mg/L, lượng đào thải ion Pb lần lượt là $26,42 \pm 5,59$ và $35,53 \pm 5,70$ mg/kg.

Đào thải Pb²⁺ từ thịt: Sự đào thải ion Pb ở thịt của nhóm cá đã từng phơi nhiễm Pb²⁺ 20 mg/L là cao nhất, tiếp theo là nhóm cá đã từng phơi nhiễm Pb²⁺ 30 mg/L và cuối cùng là nhóm cá đã từng phơi nhiễm Pb²⁺ 40 mg/L. Lượng ion Pb được đào thải ở thịt của nhóm cá đã từng phơi nhiễm Pb²⁺ 20 mg/L là $20,53 \pm 5,50$ mg/kg. Đối với nhóm cá đã từng phơi nhiễm Pb²⁺ 30 và 40 mg/L, hàm lượng này lần lượt là $18,66 \pm 1,40$ và $16,19 \pm 5,68$ mg/kg. Có thể thấy quy luật đào thải ion Pb ở cá rô đồng của nghiên cứu này là $\text{Mang} > \text{Gan} > \text{Thịt}$.

Các nghiên cứu trước đây cũng cho thấy mang là nơi đào thải kim loại nhanh nhất [125, 126], điều này có thể là do mang tiếp xúc trực tiếp với môi trường nước và kim loại tích tụ trong mang có thể được hấp phụ trên bề mặt mang và nằm trong hệ thống tuần hoàn. Trong nghiên cứu hiện tại, hàm lượng ion Pb tại mang cá đã từng phơi nhiễm Pb²⁺ 40 mg/L đào thải rất nhiều ($292,19 \pm 6,40$ mg/kg), điều này có thể là do quá nhiều ion Pb hấp thu trên bề mặt của mang. Còn đối với nhóm cá đã từng phơi nhiễm Pb²⁺ 20 và 30 mg/L, mặc dù hàm lượng ion Pb đào thải ra khỏi mang không chênh lệch nhiều như ở nhóm phơi nhiễm nồng độ cao nhưng điều này cũng cho thấy được mang là bộ phận bài tiết chính ở cá rô đồng.

Chì là kim loại không thiết yếu và rất độc hại, sự tích tụ sinh học và khuếch đại của Chì dọc theo chuỗi và lưới thức ăn trong các hệ sinh thái gây ra rủi ro sức khỏe cho con người. Độ độc cấp tính của Pb²⁺ đối với cá rô đồng là 120 mg/L. Ion Pb ảnh hưởng lâu dài đến sự tăng trọng lượng và kích thước của cá rô đồng mặc dù cá phơi nhiễm ion Pb được sống trong nước sạch. Tích lũy ion Pb trong cá rô đồng tăng theo nồng độ Pb²⁺ trong nước và thời gian phơi nhiễm. Quy luật phân bố và tích lũy ion Pb trong cá rô đồng như sau: $\text{Mang} \gg \text{Gan} > \text{Thịt}$. Căng thẳng độc hại của ion Pb là gây rối loạn nội tiết, suy giảm chức năng tuyến tụy và suy giảm chức năng gan của cá rô đồng dẫn đến tăng sinh cortisol, giảm sinh insulin và phân giải glycogen dự trữ. Mặc dù, mức độ loại bỏ ion Pb ra khỏi mang, gan và thịt cá rô đồng đã từng phơi nhiễm Pb²⁺ tương đối đáng kể, tuy nhiên khi kim loại độc hại này tích tụ trong các mô của cá thì rất khó để loại bỏ hoàn toàn ra khỏi cơ thể. Thứ tự đào thải ion Pb ở cá rô đồng là $\text{Mang} > \text{Gan} > \text{Thịt}$.

3.3. NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA ION CADIMI (Cd^{2+}) ĐẾN CÁ RÔ ĐỒNG (*Anabas testudineus*)

3.3.1. Nghiên cứu ngưỡng độc cấp tính của Cd^{2+}

3.3.1.1. Nồng độ Cd^{2+} gây chết cá thí nghiệm trong 96 giờ (LC_{50} trong 96 giờ)

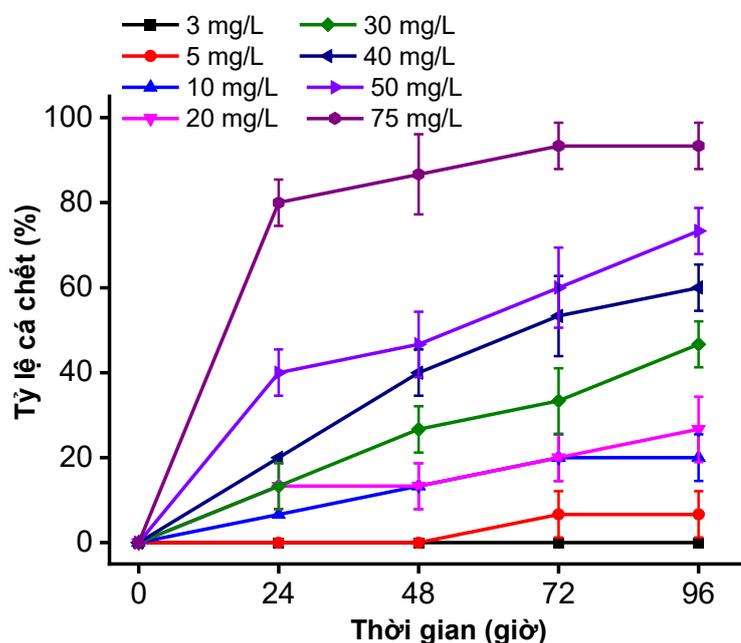
Độc cấp tính của Cd^{2+} đối với cá rô đồng được đánh giá thông qua số lượng cá chết trong 96 giờ và kết quả được trình bày trên Hình 3.21 và xem số liệu trong Phụ lục 32. Kết quả trên Hình 3.21 cho thấy:

+ Không xảy ra hiện tượng cá chết ở các bể cá đối chứng và cá phơi nhiễm Cd^{2+} 3 mg/L trong 96 giờ.

+ Đối với bể thí nghiệm ô nhiễm Cd^{2+} 5 mg/L, không có cá chết trong 48 giờ đầu của thí nghiệm, kéo dài thời gian tiếp xúc đến 96 giờ, lượng cá chết khoảng $6,67 \pm 5,44$ %.

+ Nồng độ Cd^{2+} trong nước tăng từ 10 đến 50 mg/L, lượng cá chết trong 24 giờ đầu tiên tăng khoảng từ $6,67 \pm 0,00$ đến $40,00 \pm 5,44$ %. Kéo dài thời gian tiếp xúc đến 96 giờ, lượng cá chết khoảng từ $20,00 \pm 5,44$ đến $73,33 \pm 5,44$ %.

+ Đối với bể thí nghiệm ô nhiễm Cd^{2+} 75 mg/L, khoảng $80,00 \pm 5,44$ % cá chết trong 24 giờ đầu tiên và lượng cá chết tăng lên $93,33 \pm 5,44$ % trong 96 giờ.



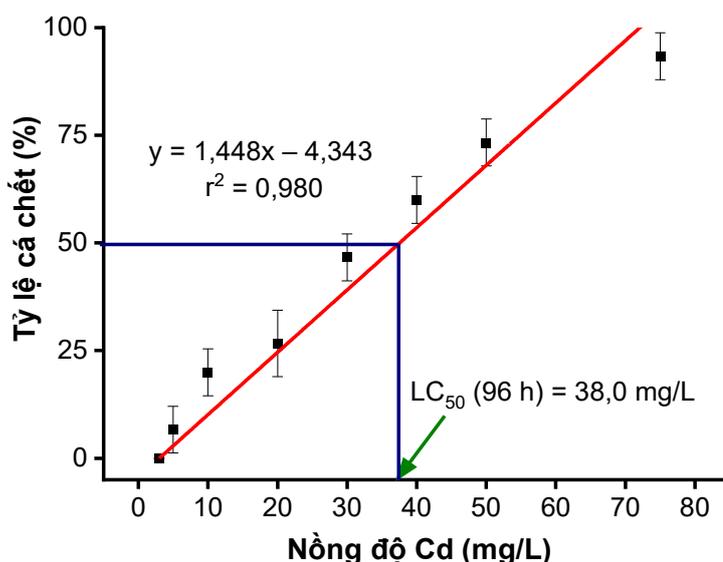
Hình 3.21. Tỷ lệ chết của cá rô đồng sau 96 giờ tiếp xúc với Cd^{2+}

3.3.1.2. Ước ngưỡng độc cấp tính LC_{50} trong 96 giờ

Đồ thị tương quan giữa phần trăm cá thí nghiệm chết và nồng độ Cd^{2+} trong nước được thể hiện trên Hình 3.22.

Phương trình tuyến tính tương quan giữa nồng độ ion Cd trong nước và phần trăm cá thí nghiệm chết là $y = 1,448x - 4,343$ với hệ số tương quan $r^2 = 0,980$. Ngưỡng độc

cấp tính của ion Cd (LC_{50} trong 96 giờ) đối với cá rô đồng của nghiên cứu này là 38,00 mg/L. Độc tính của ion Cd đối với từng loài cá cũng khác nhau, ngưỡng độc cấp tính của Cd^{2+} đối với cá da trơn (*Arius*) là 56,40 mg/L [128], cá trôi Ấn Độ (*Labeo rohita*) là 24,00 mg/L [129], cá sặc lùn (*Trichogaster fasciata*) là 49,50 mg/L [130], cá chép (*Cyprinus carpio*) là 74,65 mg/L [131], và với cá điêu hồng (*Oreochromis SP*) là 19,63 mg/L [74].



Hình 3.22. Ngưỡng độc cấp tính LC_{50} (96 giờ) đối với cá rô đồng

3.3.2. Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của Cd^{2+} đối với cá rô đồng

Để nghiên cứu độc tính bán trường diễn của Cd^{2+} , cá rô đồng được nuôi trong nước ô nhiễm Cd^{2+} có nồng độ khoảng $\frac{1}{12}$, $\frac{1}{8}$ và $\frac{1}{4}$ của giá trị LC_{50} trong 96 giờ, tương ứng với các nồng độ Cd^{2+} 3mg/L, 5mg/L và 10mg/L và ký hiệu lần lượt là 3Cd, 5Cd và 10Cd.

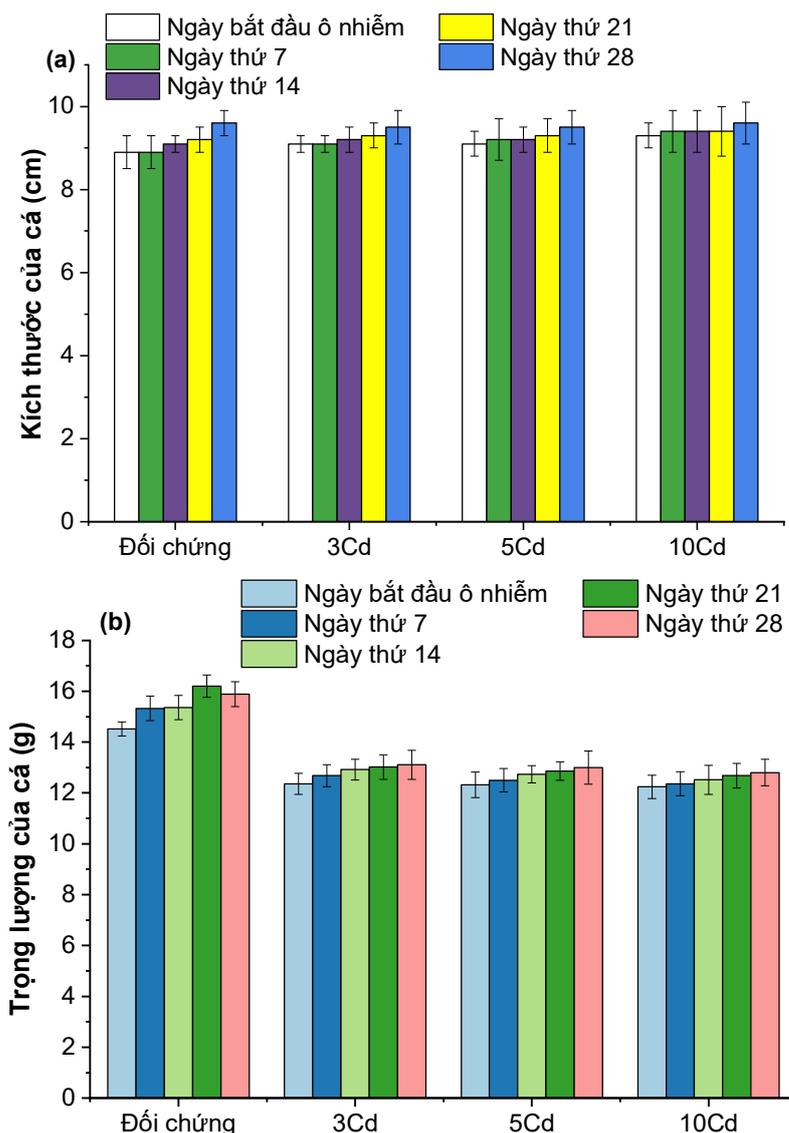
Giai đoạn phơi nhiễm: cá nuôi trong nước ô nhiễm ion Cd là 28 ngày, theo dõi sự thay đổi kích thước và trọng lượng cá, sự tích lũy ion Cd trong mang, gan, thịt cá và sự thay đổi các chỉ số sinh hóa (cortisol, insulin và glycogen).

Giai đoạn thôi nhiễm: cá ô nhiễm được nuôi trong nước sạch 14 ngày, theo dõi sự thay đổi kích thước và trọng lượng cá, sự thay đổi lượng Cd^{2+} trong mang, gan, thịt cá rô đồng.

3.3.2.1. Cá rô đồng phơi nhiễm Cd^{2+}

a. Tác động độc tính bán trường diễn của Cd^{2+} đến sự tăng trưởng và phát triển của cá rô đồng

Sự thay đổi kích thước, trọng lượng của cá rô đồng đối chứng và cá sống trong nước ô nhiễm Cd^{2+} được trình bày trên Hình 3.23 và trong Phụ lục 33.



Hình 3.23. Ảnh hưởng của Cd^{2+} đến sự thay đổi (a) kích thước và (b) trọng lượng của cá rô đồng

- Trong quá trình phơi nhiễm (28 ngày), cá đối chứng phản ứng nhanh, linh hoạt và ăn tốt, kích thước của cá tăng 8,2 % (kích thước đo được tại ngày bắt đầu gây ô nhiễm là $8,9 \pm 0,4$ cm và ngày thứ 28 là $9,6 \pm 0,3$ cm).

- Cá phơi nhiễm ion Cd, ban đầu biểu hiện nhiều triệu chứng bất thường như chuyển động giật cục, kích động, nhảy ra khỏi môi trường thử nghiệm, bơi ngang và mất thăng bằng. Sau 3 ngày phơi nhiễm, xuất hiện tình trạng lơ dờ và giảm ăn đáng kể. Cá phơi nhiễm Cd^{2+} nồng độ cao hơn có vẻ chậm chạp hơn và ăn ít hơn. Tác động tiêu cực của ion Cd đến sự tăng kích thước của cá rô đồng tương đối rõ. So với ban đầu, kích thước cá phơi nhiễm ion Cd sau 28 ngày, tăng 5,3 % đối với bể 3Cd; 3,6 % đối với bể 5Cd và 3,0 % đối với bể 10Cd (Hình 3.23a). Kích thước cá phơi nhiễm ion Cd tăng ít hơn so cá đối chứng, điều này có thể là do cá mệt mỏi, biếng ăn dẫn đến phát triển kém.

- Trọng lượng của cá đối chứng tăng 9,44 % trong sau 28 ngày (trọng lượng ban đầu của cá đối chứng là $14,52 \pm 0,28$ g và ngày thứ 28 là $15,89 \pm 0,49$ g) (Hình 3.23b). Tương tự như kích thước, trọng lượng của cá phơi nhiễm ion Cd sau 28 ngày tăng tương đối ít. So với ban đầu, trọng lượng cá tại ngày thứ 28 tăng 6,07 % đối với bể 3Cd; 5,49 % đối với bể 5Cd và 4,58 % đối với bể 10Cd.

b. Tác động độc tính bán trường diễn của Cd²⁺ đến quy luật tích lũy Cadimi trong cá rô đồng

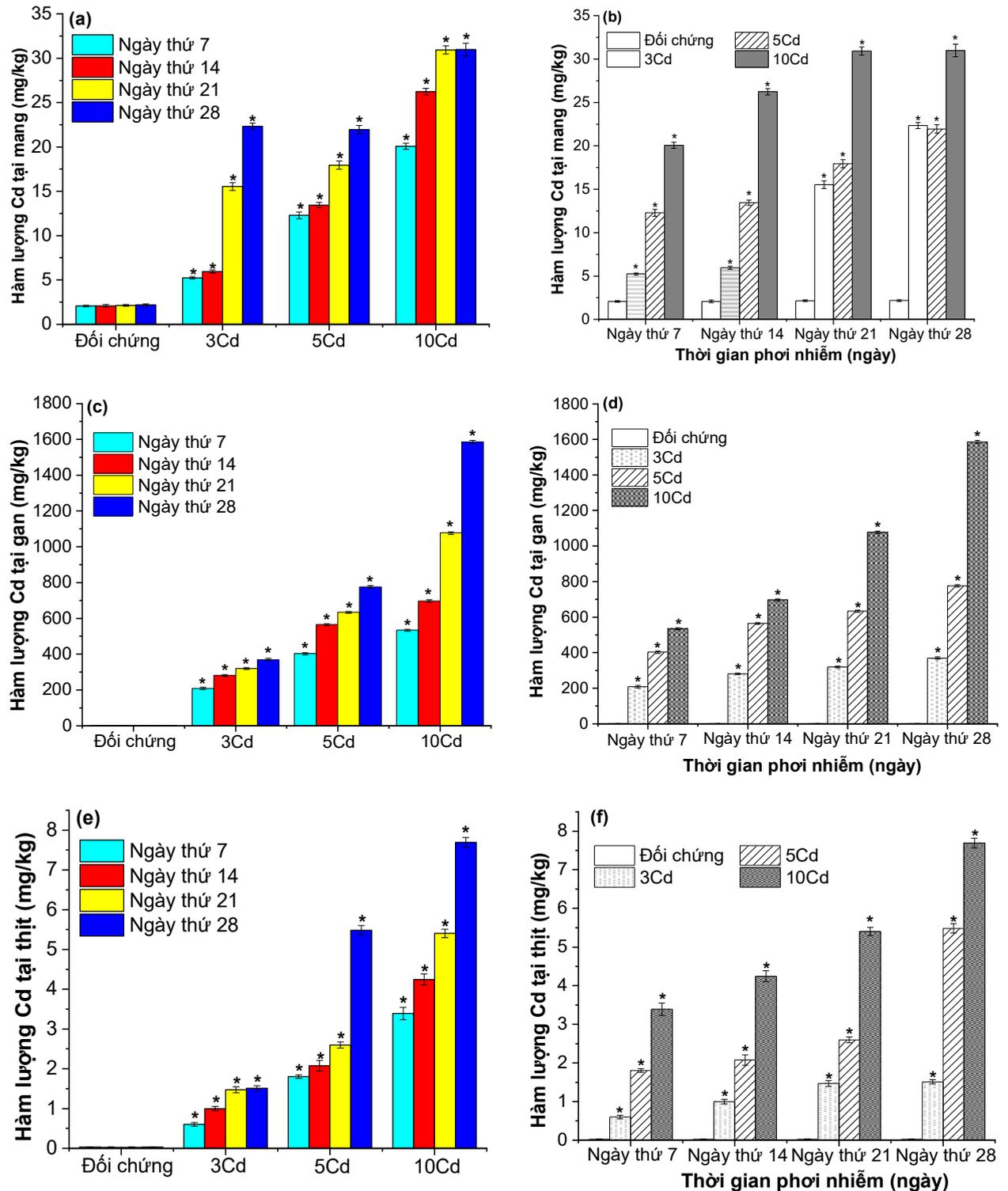
Kết quả tích lũy Cadimi tại mang, gan và thịt cá rô đồng đối chứng và cá rô đồng phơi nhiễm được trình bày trên Hình 3.24 và kết quả xem trong phụ lục 34, 35 và 36. Là một kim loại không thiết yếu, độc hại và khả năng tích tụ sinh học cao, Cadimi được coi là một trong những kim loại nặng độc hại nhất đối với các sinh vật dưới nước. Kết quả phân tích thống kê (ANOVA, kiểm định LSD) cho thấy, tích lũy ion Cd tại mang, gan và thịt cá rô đồng phơi nhiễm ion Cd cao hơn đáng kể so với nhóm đối chứng ($p < 0,05$). Hàm lượng Cd²⁺ tích tụ ở cá đối chứng từ $2,07 \pm 0,08$ đến $2,18 \pm 0,11$ mg/kg mang khô, $0,34 \pm 0,02$ đến $0,37 \pm 0,04$ mg/kg gan khô và $0,027 \pm 0,003$ đến $0,030 \pm 0,005$ mg/kg thịt khô. Do khả năng tích tụ sinh học cao, hàm lượng Cd²⁺ tại mang, gan và thịt cá phơi nhiễm ion Cd tăng nhanh trong thời gian ngắn và cao hơn môi trường nước. Khi nồng độ ion Cd trong nước càng cao thì lượng ion Cd tích tụ ở cá càng nhiều.

Tích tụ Cd²⁺ tại mang: Ở mang cá rô đồng, mức độ tích lũy ion Cd được tìm thấy thấp nhất đối với nhóm cá phơi nhiễm Cd²⁺ 3,0 mg/L ($5,24 \pm 0,14$ mg/kg mang khô) ở ngày thứ 7 và cao nhất đối với nhóm cá phơi nhiễm Cd²⁺ 10,0 mg/L ($30,99 \pm 0,73$ mg/kg mang khô) ở ngày thứ 28 (Hình 3.24 a&b).

+ Đối với nhóm cá phơi nhiễm Cd²⁺ 3,0 mg/L, sự tích tụ ion Cd tại mang được tìm thấy là $5,24 \pm 0,14$ mg/kg mang khô ở ngày thứ 7; $5,94 \pm 0,17$ mg/kg mang khô ở ngày thứ 14; $15,54 \pm 0,44$ mg/kg mang khô ở ngày thứ 21 và $22,34 \pm 0,35$ mg/kg mang khô ở ngày thứ 28. Lượng ion Cd tại mang của nhóm cá này cao hơn từ 2,53 đến 10,25 lần so với cá đối chứng.

+ Vào các ngày thứ 7, 14, 21 và 28 kể từ lúc bắt đầu phơi nhiễm, hàm lượng ion Cd tích tụ tại mang của nhóm cá phơi nhiễm Cd²⁺ 5,0 mg/L đo được lần lượt là $12,28 \pm 0,39$; $13,45 \pm 0,03$; $17,95 \pm 0,47$ và $21,95 \pm 0,48$ mg/kg mang khô. So với cá đối chứng, lượng ion Cd tại mang của nhóm cá này cao hơn từ 5,93 đến 10,08 lần.

+ Hàm lượng ion Cd tại mang của nhóm cá phơi nhiễm Cd²⁺ 10 mg/L đo được là $20,07 \pm 0,35$; $26,23 \pm 0,38$; $30,93 \pm 0,46$ và $30,99 \pm 0,73$ mg/kg mang khô tương ứng với các ngày thứ 7, 14, 21 và 28 kể từ lúc bắt đầu thí nghiệm. Tích lũy ion Cd ở mang của nhóm cá này cao hơn từ 9,70 đến 14,50 lần so với cá đối chứng.



Hình 3.24. Tích lũy Cd^{2+} tại (a)&(b) mang, (c)&(d) gan và (e)&(f) thịt cá rô đồng trong thời gian phơi nhiễm (Giá trị chính \pm độ lệch chuẩn, $n=3$);

* Tích lũy Cd^{2+} tại mang/gan/thịt cá phơi nhiễm Cd^{2+} cao hơn đáng kể so với cá đối chứng ($p < 0,05$)

Do tiếp xúc trực tiếp với nước nên mang cá là con đường chính để các chất ô nhiễm (kim loại nặng, ...) xâm nhập vào bên trong cơ thể. Sau đó, theo máu các kim loại nặng này được vận chuyển đến nội tạng và thịt. Tại mang, ion Cd được hấp thụ theo kiểu khuếch tán thụ động qua các kênh Calci. Sau đó, ion Cd được chuyển tích

cực vào máu, rồi đi qua albumin huyết thanh và đến các cơ quan lưu trữ. Ion Cd vô cơ có xu hướng tích tụ đầu tiên trong gan thông qua cơ chế liên kết liên quan đến các protein giải độc như MTs [132]. Sự tích tụ ion Cd trong mang là do lượng chất nhầy trên bề mặt mang tăng lên trong quá trình tiếp xúc với ion Cd [17]. Mang cũng được báo cáo là hoạt động như một kho chứa ion Cd trong các nghiên cứu thực nghiệm, lượng ion Cd tích tụ trong mang cá bơn vì (*Paralichthys olivaceus*) là $16,69 \pm 2,13$ và $20,65 \pm 1,51$ mg/kg sau 30 ngày phơi nhiễm ion Cd nồng độ lần lượt là 50 và 100 mg/L [133, 134]. Lượng ion Cd trong mang cá rô phi (*Tilapia nilotica*) đo được sau 10 ngày phơi nhiễm ion Cd nồng độ 0,1 và 1,0 mg/L lần lượt là $14,46 \pm 1,00$ và $25,35 \pm 1,22$ mg/kg chất khô [135].

Tích tụ Cd²⁺ tại gan: Hình 3.24 c&d cho thấy, sự tích tụ ion Cd tại gan cá rô đồng được tìm thấy thấp nhất đối với nhóm cá phơi nhiễm 3Cd ($208,84 \pm 6,87$ mg/kg gan khô) ở ngày thứ 7 và cao nhất đối với nhóm cá phơi nhiễm 10Cd ($1586,10 \pm 8,07$ mg/kg gan khô) ở ngày thứ 28. Gan là nơi chính để tích lũy sinh học, lưu trữ và giải độc chất độc, đó là lý do tại sao nồng độ ion Cd được tìm thấy tương đối cao.

+ Sự tích tụ ion Cd tại gan của nhóm cá phơi nhiễm Cd²⁺ 3,0 mg/L đo được ở các ngày thứ 7; 14; 21 và 28 lần lượt là $208,84 \pm 6,87$; $281,15 \pm 4,63$; $319,41 \pm 6,03$ và $396,60 \pm 6,36$ mg/kg gan khô, cao hơn so với nhóm cá đối chứng từ 580,11 đến 1017,27 lần.

+ Đối với nhóm cá phơi nhiễm Cd²⁺ 5,0 mg/L, sự tích tụ ion Cd tại gan được tìm thấy là $402,78 \pm 6,55$ mg/kg gan khô ở ngày thứ 7; $656,15 \pm 4,95$ mg/kg gan khô ở ngày thứ 14; $633,94 \pm 5,15$ mg/kg gan khô ở ngày thứ 21 và $775,94 \pm 6,33$ mg/kg gan khô ở ngày thứ 28. Hàm lượng ion Cd tại gan nhóm của nhóm cá này cao hơn so với cá đối chứng là 1118,82 đến 2135,63 lần.

+ Vào các ngày thứ 7, 14, 21 và 28 kể từ lúc bắt đầu phơi nhiễm, lượng ion Cd tích tụ tại gan của cá rô đồng phơi nhiễm Cd²⁺ 10,0 mg/L được tìm thấy lần lượt là $534,11 \pm 5,20$; $697,44 \pm 6,35$; $1077,08 \pm 6,87$ và $1586,10 \pm 8,07$ mg/kg gan khô, cao hơn từ 1483,65 đến 4365,44 lần so với cá đối chứng.

Gan cá được xem là một chỉ thị sinh học quan trọng để theo dõi tình trạng nước ô nhiễm kim loại nặng bởi vì gan tích tụ kim loại nặng cao hơn các bộ phận khác và sự tích tụ kim loại nặng ở gan thường tỷ lệ thuận với nồng độ kim loại nặng trong nước [136]. Sự tích tụ sinh học của kim loại ở gan có thể liên quan đến chức năng chuyển hóa của gan, tức là các quá trình hóa học diễn ra bên trong một cơ thể sống để duy trì sự sống [137]. Lượng Cd tích tụ ở gan cá mè (*Puntius gonionotus*) sau 4 tuần phơi nhiễm Cd là 35,8 mg/kg [138].

Tích tụ Cd²⁺ tại thịt: Trên Hình 3.24 e&f thể hiện mức kim loại nặng trong cơ thể cá có liên quan đến nồng độ kim loại nặng được cá hấp thụ từ nước. Giống như mang và gan, sự tích tụ ion Cd tại thịt của cá rô đồng được tìm thấy thấp nhất đối với nhóm cá 3Cd ($0,60 \pm 0,05$ mg/kg thịt khô) ở ngày thứ 7 và cao nhất đối với nhóm cá 10Cd ($7,69 \pm 0,13$ mg/kg thịt khô) ở ngày thứ 28.

+ Đối với nhóm cá 3Cd, sự tích tụ ion Cd tại thịt được tìm thấy là $0,60 \pm 0,05$ mg/kg thịt khô ở ngày thứ 7; $1,00 \pm 0,06$ mg/kg thịt khô ở ngày thứ 14; $1,47 \pm 0,08$ mg/kg thịt khô ở ngày thứ 21 và $1,51 \pm 0,06$ mg/kg thịt khô ở ngày thứ 28. Sự tích tụ ion Cd tại thịt của nhóm cá này cao hơn từ 20,22 đến 51,60 lần so với cá đối chứng.

+ Còn với nhóm cá 5Cd hàm lượng ion Cd đo được ở các ngày thứ 7; 14; 21 và 28 lần lượt là $1,80 \pm 0,05$; $2,08 \pm 0,14$; $2,60 \pm 0,08$ và $5,48 \pm 0,12$ mg/kg thịt khô, cao hơn từ 60,78 đến 186,95 lần so với cá đối chứng.

+ Cuối cùng lượng ion Cd tích tụ ở thịt của nhóm cá 10Cd được tìm thấy vào các ngày thứ 7, 14, 21 và 28 kể từ lúc bắt đầu phơi nhiễm lần lượt là $3,39 \pm 0,16$; $4,25 \pm 0,14$; $5,40 \pm 0,11$ và $7,69 \pm 0,13$ mg/kg thịt khô, cao hơn từ 114,26 đến 262,19 lần so với cá đối chứng.

Bên cạnh sự tích tụ ion Cd ở các mô như mang, gan và thận, thịt cá cũng được báo cáo là có tích lũy ion Cd so với các bộ phận khác trong các nghiên cứu thực nghiệm. Sự tích tụ ion Cd ở thịt thấp là do thịt không tích tụ kim loại nặng một cách chủ động. Hàm lượng ion Cd tích tụ tại thịt cá rô phi vằn (*Oreochromis niloticus*) sau 3 tuần phơi nhiễm Cd 3,0 mg/L là $0,179 \pm 0,005$ mg/kg [134, 139].

Kết quả so sánh sự tích tụ ion Cd giữa gan – mang, gan – thịt và mang – thịt trong Bảng 3.5 cho thấy lượng ion Cd tập trung ở gan cá rô đồng nhiều hơn so với ở mang và thịt.

Bảng 3.5. Tỷ lệ hàm lượng Cd²⁺ tích lũy tại gan – mang, gan – thịt và mang – thịt

		Đối chứng	3Cd	5Cd	10Cd
Tỷ lệ $Cd_{\text{gan}}/Cd_{\text{mang}}$	Ngày thứ 7	0,2	39,9	32,8	26,6
	Ngày thứ 14	0,2	47,3	42,0	26,6
	Ngày thứ 21	0,2	20,6	35,5	34,8
	Ngày thứ 28	0,2	16,5	35,4	51,2
Tỷ lệ $Cd_{\text{gan}}/Cd_{\text{thịt}}$	Ngày thứ 7	12,1	348,1	223,4	157,6
	Ngày thứ 14	12,7	281,2	272,1	164,2
	Ngày thứ 21	13,2	217,3	243,8	199,3
	Ngày thứ 28	12,4	244,2	141,5	206,3
	Ngày thứ 7	69,8	8,7	6,8	5,9

		Đối chứng	3Cd	5Cd	10Cd
Tỷ lệ $Cd_{mang}/Cd_{thịt}$	Ngày thứ 14	77,0	5,9	6,5	6,2
	Ngày thứ 21	76,2	10,6	6,9	5,7
	Ngày thứ 28	74,2	14,8	4,0	4,0

➤ So sánh sự tích tụ ion Cd giữa gan và mang của nhóm cá đối chứng, tỷ lệ Cd_{gan}/Cd_{mang} là 0,2 cho thấy ion Cd tập trung ở mang gấp 5 lần so với ở gan.

+ Lượng ion Cd tại gan cá rô đồng phơi nhiễm Cd^{2+} 3 mg/L cao hơn so với mang cá từ 16,5 đến 47,3 lần. Ngày thứ 7 kể từ lúc bắt đầu phơi nhiễm, lượng ion Cd tập trung ở gan cao gấp 39,9 lần so với lượng ion Cd tập trung ở mang. Ngày thứ 14, ion Cd tập trung ở gan cao gấp 47,3 lần so với ở mang. Bởi vì sự tích tụ ion Cd trong mang cá phơi nhiễm Cd^{2+} 3 mg/L sau ngày thứ 14 tăng lên đáng kể, vì vậy tỷ lệ Cd_{gan}/Cd_{mang} giảm và lượng ion Cd tập trung ở gan cao gấp 16,5 lần so với ion Cd tập trung ở mang vào ngày thứ 28.

+ Đối với nhóm cá phơi nhiễm Cd^{2+} 5,0 mg/L, ngày thứ 7 kể từ lúc bắt đầu thí nghiệm, lượng ion Cd tập trung tại gan cao gấp 32,8 lần so với mang. Ngày thứ 14, lượng ion Cd ở gan cá cao gấp 42,0 lần so với mang. Sau ngày thứ 14, sự tích tụ ion Cd trên mang tăng lên cao, tỷ lệ Cd_{gan}/Cd_{mang} đạt đến mức khoảng từ 35,4 đến 35,5 lần.

+ Đối với nhóm cá rô đồng phơi nhiễm Cd^{2+} 10 mg/L, trong 14 ngày đầu tiên kể từ lúc bắt đầu thí nghiệm, tích lũy ion Cd ở gan cao gấp 26,6 lần so với mang khoảng 26,6 lần. Sau ngày thứ 14, lượng ion Cd tích lũy tại gan tăng lên tương đối cao hơn, vì vậy tỷ lệ Cd_{gan}/Cd_{mang} thu được ở ngày thứ 21 và 28 lần lượt là 34,8 và 51,2 lần. Tỷ lệ Cd_{gan}/Cd_{mang} tăng cho thấy kéo dài thời gian phơi nhiễm Cadimi nồng độ cao (10 mg/L) đã làm tăng lượng ion Cd xâm nhập vào bên trong cơ thể điều này dẫn đến ion Cd tích lũy nhiều tại gan.

➤ So sánh sự tích tụ ion Cd giữa gan và thịt của nhóm cá đối chứng, tỷ lệ $Cd_{gan}/Cd_{thịt}$ là từ 12,1 đến 13,2, kết quả này cho thấy ion Cd tập trung ở gan cao hơn so với ở thịt từ 12,1 đến 13,2 lần.

+ Đối với nhóm cá phơi nhiễm ion Cd (3,0 – 10,0 mg/L), lượng ion Cd tập trung tại gan cao gấp 141,5 đến 348,1 lần. Gan cá là cơ quan lưu trữ kim loại, phân phối lại và giải độc kim loại thông qua các protein liên kết kim loại như MTs [84, 140, 141]. Các MTs được biết là có liên quan trực tiếp đến việc hấp thụ, lưu trữ và bài tiết kim loại [142]. Tương tự, một số nghiên cứu trước đây đã ghi nhận rằng sự tích tụ kim loại trong gan cá cao hơn so với trong thịt cá [143-145], điều này được giải thích là do

các hoạt động trao đổi chất của gan cao [146]. Những kết quả này phù hợp với giả thuyết rằng sự tích tụ trong thịt chỉ trở nên quan trọng khi khả năng dự trữ của gan đạt đến mức tối đa.

➤ Kết quả trong bảng 3.5 cho thấy, sự tích tụ ion Cd trên mang của nhóm cá đối chứng nhiều hơn trong thịt từ 69,8 đến 77,0 lần. Đối với nhóm cá phơi nhiễm Cd^{2+} (3,0 - 10,0 mg/L), tích tụ ion Cd trên mang nhiều trong thịt từ 4,0 đến 14,8 lần. Trong đó, tích lũy ion Cd ở mang của nhóm cá phơi nhiễm Cd^{2+} 3 mg/L cao hơn ở thịt khoảng từ 5,9 đến 14,8 lần. Kéo dài thời gian phơi nhiễm Cd^{2+} 3 mg/L có thể đã làm cho tích lũy ion Cd trên mang nhiều hơn ở thịt, kết quả là tỷ lệ $\frac{\text{Cd}_{\text{mang}}}{\text{Cd}_{\text{thịt}}}$ tăng. Tích lũy ion Cd trên mang cao hơn ở thịt từ 4,0 đến 6,8 lần đối với cá phơi nhiễm Cd^{2+} 5 mg/L và khoảng từ 4,0 đến 5,9 lần đối với cá phơi nhiễm Cd^{2+} 10 mg/L. Kéo dài thời gian phơi nhiễm Cd^{2+} 5 và 10 mg/L có thể tích lũy ion Cd ở thịt tăng nhiều hơn so với tại mang, kết quả làm tỷ lệ $\frac{\text{Cd}_{\text{mang}}}{\text{Cd}_{\text{thịt}}}$ giảm. Mang cá là bộ phận kết nối trực tiếp giữa nước và máu, nhờ có diện tích bề mặt rất rộng nên mang đẩy nhanh quá trình khuếch tán và lưu giữ nhiều kim loại nặng [147, 148]. Ion Cd tích tụ ở mang có thể được vận chuyển qua hệ thống tuần hoàn đến các mô (thịt, gan và thận), gây ra sự tích tụ.

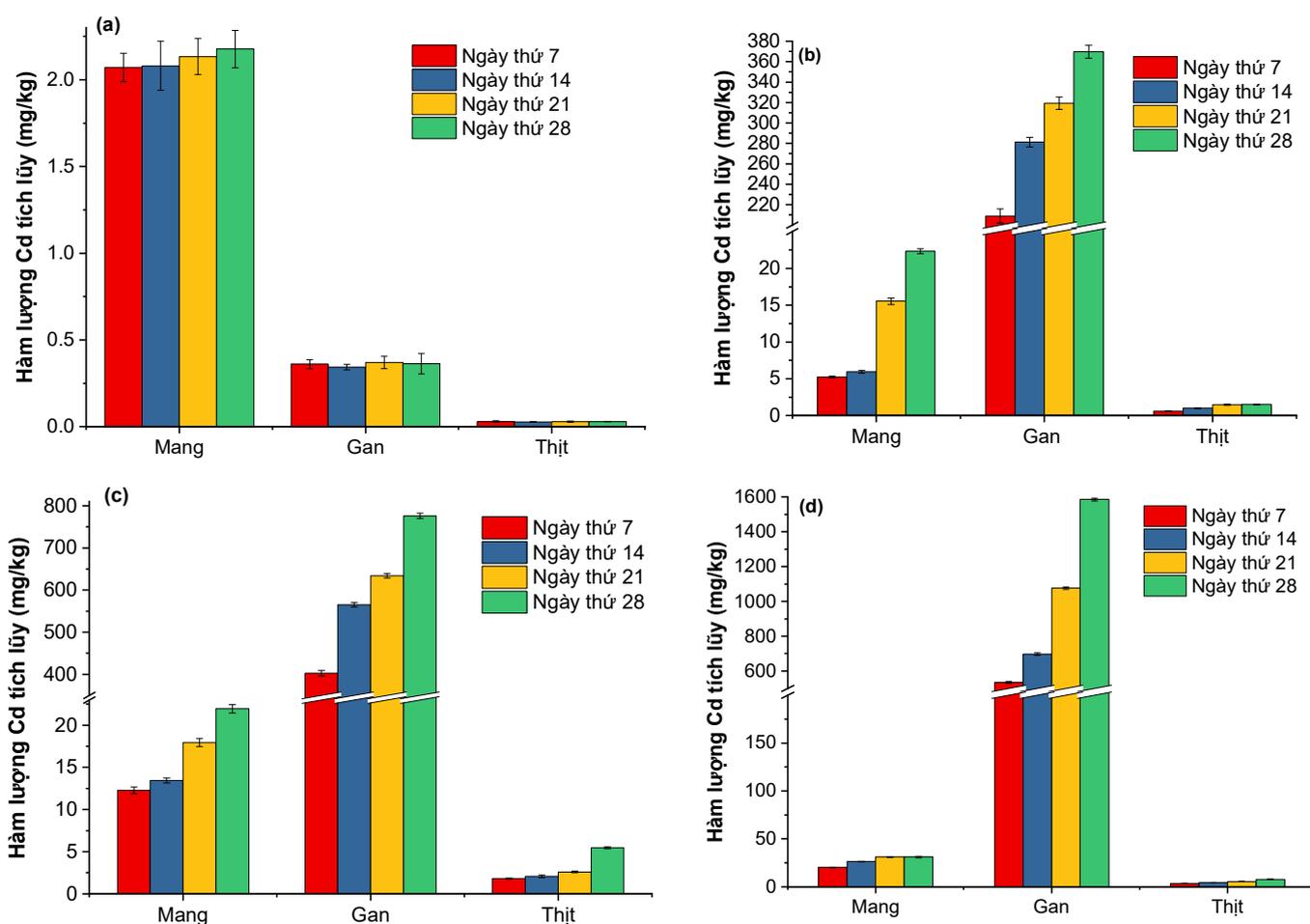
Sự phân bố và tích lũy ion Cd ở mang, gan và thịt trong cá rô đồng được trình bày trên Hình 3.25. Ở cá đối chứng sự phân bố này theo thứ tự: Mang >> Gan > Thịt. Tuy nhiên đối với nhóm cá rô đồng phơi nhiễm, sự tích tụ ion Cd nổi bật nhất ở gan và mang. Sự phân bố ion Cd ở nhóm cá này lại theo thứ tự Gan >> Mang > Thịt. Các kết quả tương tự đã được báo cáo đối với cá chép (*Cyprinus carpio*) và cá rô phi (*Tilapia*) phơi nhiễm Cd^{2+} 0,5 mg/L trong 30 ngày [149], cá da trơn (*Silurus meridionalis*) phơi nhiễm Cd^{2+} (62,2 – 500 $\mu\text{g/L}$) trong 56 ngày [150], cá chạch (*Paramisgurnus dabryanus*) và cá vàng (*Carassius aratus*) phơi nhiễm Cd^{2+} (16 – 32 mg/kg) [151], với cá rô phi vằn (*Oreochromis niloticus*) phơi nhiễm Cd^{2+} (0,5 – 3,0 mg/L) liên tục trong 3 tuần [139].

Tuy gan là cơ quan chuyển hóa chính để xử lý ion Cd trong cơ thể sống nhưng những hiểu biết của giới khoa học về các chất vận chuyển ion Cd và cơ chế phân tử liên quan đến quá trình hấp thụ ion Cd ở gan vẫn còn hạn chế. Các nghiên cứu trên các tế bào gan riêng lẻ và dòng tế bào gan đã chứng minh có hai con đường hấp thụ ion Cd ở gan có thể xảy ra: đường thứ nhất là dạng Cd^{2+} , đường thứ hai là dạng phức hợp của Cd^{2+} .

Có thể Cd^{2+} được hấp thụ bởi các chất vận chuyển kim loại giống các tế bào gan sử dụng để hấp thụ các kim loại thiết yếu (như Fe^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} và Cu^{2+}). Khi gan bị nhiễm độc ion Cd bán trường diễn hoặc nhiễm độc trường diễn sẽ có những thay đổi rõ rệt về chức năng và hình thái do việc tạo nên các liên kết Cd-MTs sẽ làm bất hoạt

nhều enzyme ngăn ngừa căng thẳng oxy hóa. Hơn nữa, cả MTs liên kết với Cd và GSH đều có thể được giải phóng vào tuần hoàn và mật, thông qua quá trình đẩy Cd-GSH và giải phóng Cd-MTs.

Thêm vào đó đã có những nghiên cứu chứng tỏ khả năng ion Cd cạnh tranh với ion Ca ở nhiều vị trí là do Cd và Ca đều là ion kim loại hóa trị hai và có bán kính tương tự nhau (Cd^{2+} là 0,097 nm và Ca^{2+} là 0,099 nm) thêm vào đó Cd^{2+} có ái lực liên kết anion cao hơn Ca^{2+} nên khả năng vận chuyển Cd^{2+} xuyên biểu mô xảy ra thông qua trung gian của các cơ chế vận chuyển như Ca-ATP. Còn trong tế bào, Cd^{2+} cạnh tranh với Ca^{2+} đối với các protein liên kết và tích tụ trong mô calci hóa bao gồm cả các thành phần xương [152-154]



Hình 3.25. Sự phân bố và tích lũy Cd^{2+} trong cá rô đồng đối chứng và phơi nhiễm (a) Đối chứng, (b) 3Cd, (c) 5Cd và (d) 10Cd

Tích tụ quá nhiều ion Cd ở gan đã gây ra nhiều thay đổi bệnh lý khác nhau trong mô gan bao gồm tắc nghẽn mạch máu, sung huyết, hoại tử tế bào tụy và thay đổi chất béo trong tế bào gan quanh tụy [155]. Mức độ tổn thương của gan cá rô đồng phơi nhiễm ion Cd được mô tả trên hình 3.26. Gan cá rô đồng đối chứng nguyên vẹn và màu hồng trong khi gan cá phơi nhiễm Cd^{2+} màu nhạt, sung huyết và dễ vỡ.

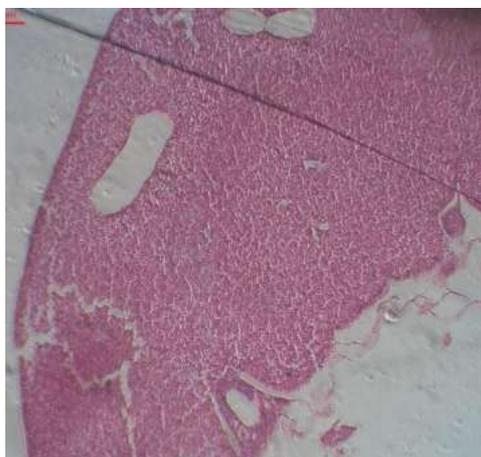


Gan cá đối chứng

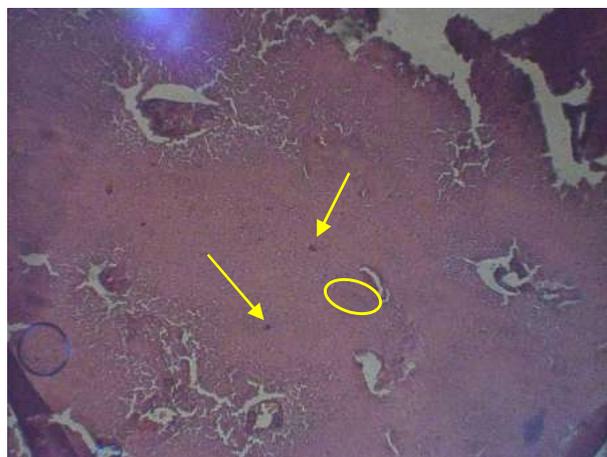


Gan cá sau 28 ngày phơi nhiễm 10Cd

Hình 3.26. Gan cá đối chứng và gan cá tổn thương sau 28 ngày phơi nhiễm 10Cd



Gan cá đối chứng



Gan cá sau 28 ngày phơi nhiễm 10Cd

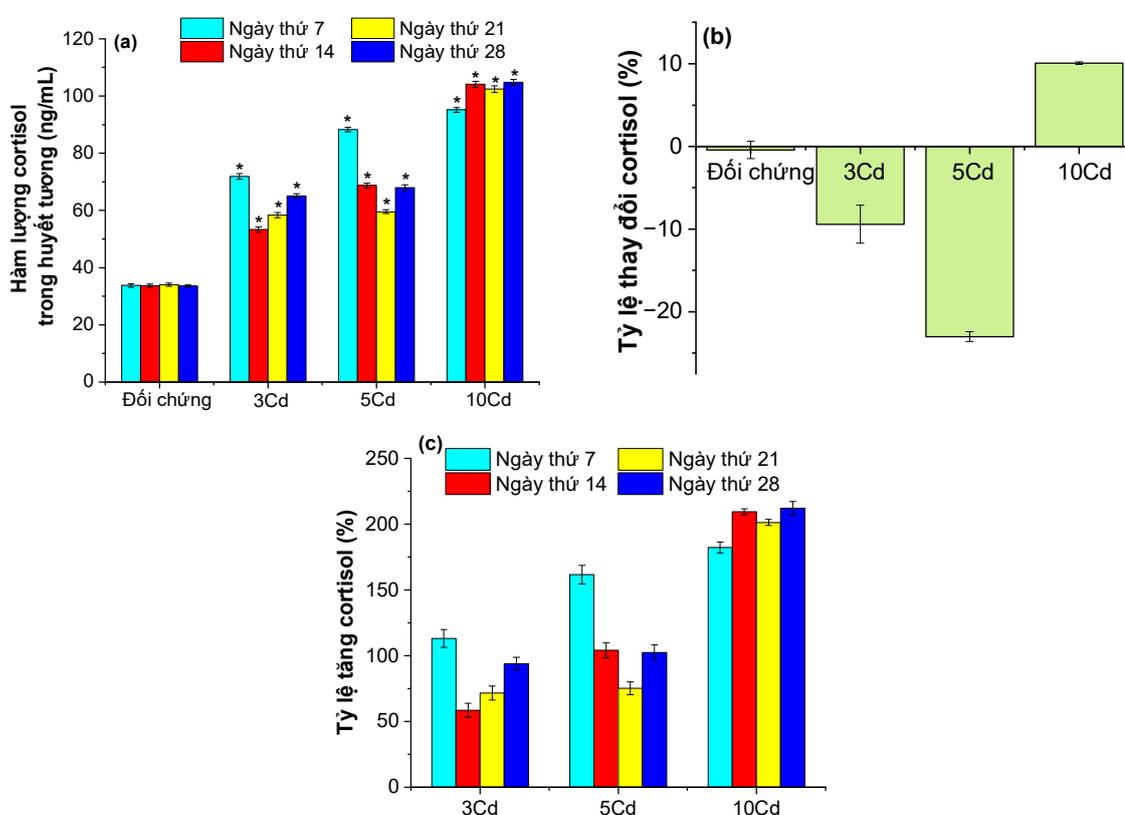
Hình 3.27. Mô học của gan cá đối chứng và gan cá tổn thương sau 28 ngày phơi nhiễm 10Cd

Về mô học của gan nhóm cá phơi nhiễm Cd^{2+} 10 mg/L trong 28 ngày có thể quan sát thấy ngoài những vết màu đỏ sẫm trong mô gan cá phơi nhiễm (mũi tên màu vàng) có thể là do sự rò rỉ các tế bào máu ra khỏi tĩnh mạch trung tâm còn có sự sít chặt trong sắp xếp các tế bào gan, không còn trật tự trong tế bào gan như ở mô gan nhóm cá đối chứng. Điều này có thể cho thấy khi sống trong môi trường phơi nhiễm Cd^{2+} gan cá bị hoại tử ở mức độ cao. Tổn thương lớn nhất ở mô gan được ghi nhận trên cá rô đồng (*Anabas testudineus*) khi phơi nhiễm CdCl_2 ở nồng độ 10 mg/L là sự thâm nhiễm nặng của tế bào lympho, đại thực bào và tế bào gan bị chuyển hóa thành không bào. Việc hình thành không bào được cho là một cơ chế bảo vệ tế bào của tế bào gan chống lại các chất ô nhiễm bằng cách tích tụ chúng trong các không bào, điều này cũng gây nên việc đẩy nhân ở vị trí trung tâm ra ngoại vi của tế bào gan. Bên cạnh đó sự thay đổi đáng chú ý ở gan còn là hạt nhân tế bào gan sẫm màu hơn, tế bào gan có dạng

bất thường với mao mạch máu giãn nở, điều này có thể giải thích cho màu sắc của mô gan cá đối chứng là màu hồng sáng thì mô gan cá phơi nhiễm Cd^{2+} 10 mg/L trong nghiên cứu có màu hồng sậm [98].

c. Tác động độc tính bán trường diễn của Cd^{2+} đến sự thay đổi cortisol trong huyết tương cá rô đồng

Ảnh hưởng của Cd^{2+} đến sự thay đổi cortisol trong huyết tương của cá rô đồng được trình bày trên Hình 3.28 và kết quả được trình bày trong Phụ lục 37. Phân tích phương sai một chiều (ANOVA), kiểm nghiệm LSD cho thấy nồng độ cortisol trong huyết tương cá rô đồng phơi nhiễm Cd^{2+} cao hơn đáng kể ($p < 0,05$) so với ở nhóm cá đối chứng.



Hình 3.28. (a) Sự thay đổi nồng độ cortisol trong huyết tương cá rô đồng đối chứng và cá rô đồng phơi nhiễm Cd^{2+} ; (b) Tỷ lệ thay đổi cortisol trong máu cá rô đồng giữa ngày thứ 28 so với ngày thứ 7 kể từ lúc bắt đầu phơi nhiễm Cd^{2+} và (c) Tỷ lệ tăng cortisol trong máu của cá rô đồng phơi nhiễm Cd^{2+} so với cá đối chứng

(Giá trị chính \pm SD, n = 3);

*Sự khác biệt đáng kể ($p < 0,05$) về nồng độ cortisol trong máu cá đối chứng và cá phơi nhiễm Cd^{2+}

- Nồng độ cortisol trong huyết tương cá đối chứng dao động khoảng từ $33,59 \pm 0,48$ đến $34,00 \pm 0,56$ ng/mL. Tác động tiêu cực của ion Cd đối với cá rô đồng là gây căng thẳng tăng sinh cortisol và nồng độ Cd^{2+} trong nước càng cao càng gây tăng sinh

cortisol. Phơi nhiễm ion Cd lâu dài gây rối loạn tiết cortisol, dẫn đến mức cortisol trong huyết tương cá rô đồng thay đổi bất thường.

- Cortisol trong huyết tương của nhóm cá phơi nhiễm Cd^{2+} 3 mg/L tăng cao tại ngày thứ 7 ($71,88 \pm 1,02$ ng/mL), gấp 2,1 lần so với cá đối chứng. Nồng độ cortisol đo được tại ngày thứ 14 giảm so với ngày thứ 7, sau đó tăng nhẹ đến ngày thứ 28. Mặc dù nồng độ cortisol trong huyết tương cá tăng tại ngày thứ 21 và 28 nhưng vẫn thấp hơn so với ngày thứ 7. Kết quả trên Hình 3.28a cho thấy, nồng độ cortisol đo được tại ngày thứ 14, 21 và 28 lần lượt là $53,36 \pm 0,86$; $58,34 \pm 0,87$ và $65,10 \pm 0,75$ ng/mL, cao hơn so với cá đối chứng từ 1,6 đến 1,9 lần. Với nhóm cá phơi nhiễm Cd^{2+} 5 mg/L, nồng độ cortisol trong huyết tương tăng cao tại ngày thứ 7 và giảm dần đến ngày thứ 21 sau đó tăng lên ở ngày thứ 28. Mặc dù, nồng độ cortisol trong huyết tương cá rô đồng từ ngày thứ 14 đến ngày thứ 21 giảm so với ngày thứ 7 kể từ lúc phơi nhiễm, nhưng vẫn cao hơn đáng kể so với cá đối chứng. Nồng độ cortisol trong huyết tương cá đo được tại ngày thứ 28 tăng cao nhưng vẫn thấp hơn so với ngày thứ 7. Nồng độ cortisol trong huyết tương nhóm cá phơi nhiễm Cd^{2+} 5 mg/L đo được tại ngày thứ 7 và ngày thứ 14 lần lượt là $88,26 \pm 0,75$ và $68,68 \pm 0,81$ ng/mL, cao gấp 2,6 và 2,0 lần so với nồng độ cortisol trong huyết tương cá đối chứng. Nồng độ cortisol đo được ở ngày thứ 21 và 28 lần lượt là $59,53 \pm 0,68$ và $67,95 \pm 1,01$ ng/mL cao hơn so với cá đối chứng từ 1,8 đến 2,0 lần.

Hình 3.28a cũng cho thấy, nồng độ cortisol trong huyết tương của nhóm cá phơi nhiễm Cd^{2+} 10 mg/L tăng cao đến ngày thứ 14 sau đó gần như không đổi cho đến khi kết thúc thí nghiệm. Nồng độ cortisol đo được trong huyết tương tại ngày thứ 7 và ngày thứ 14 lần lượt là $95,19 \pm 0,84$ và $104,09 \pm 1,05$ ng/mL, cao gấp 2,8 và 3,1 lần so với cá đối chứng. Lượng cortisol đo được tại ngày thứ 21 và 28 lần lượt là $102,42 \pm 1,18$ và $104,78 \pm 1,05$, gấp từ 3,0 đến 3,1 lần so với cá đối chứng.

Hình 3.28b trình bày tỷ lệ giảm cortisol trong huyết tương cá giữa ngày thứ 28 so với ngày thứ 7 kể từ lúc bắt đầu phơi nhiễm. Bởi vì sự chênh lệch về nồng độ cortisol giữa ngày thứ 28 và ngày thứ 7 không đáng kể nên tỷ lệ cortisol trong huyết tương cá đối chứng chỉ giảm khoảng $0,44 \pm 1,03$ %. Đối với nhóm cá phơi nhiễm Cd^{2+} 3 và 5 mg/L, nồng độ cortisol trong huyết tương ngày thứ 28 thấp hơn so với ngày thứ 7, với tỷ lệ giảm lần lượt $9,43 \pm 0,24$ và $23,01 \pm 0,60$ %. Đáng chú ý, nồng độ cortisol trong huyết tương nhóm cá phơi nhiễm Cd^{2+} 10 mg/L ngày thứ 28 tăng $10,08 \pm 0,16$ % so với ngày thứ 7.

Hình 3.28c trình bày tỷ lệ tăng sinh cortisol trong huyết tương cá phơi nhiễm ion Cd so với cá đối chứng. So với cá đối chứng, nồng độ cortisol trong huyết tương cá phơi nhiễm Cd^{2+} 3 mg/L tăng $113,14 \pm 6,86$ % ở ngày thứ 7, $58,62 \pm 5,17$ % ở ngày

thứ 14, $71,65 \pm 5,32$ % ở ngày thứ 21, và $93,86 \pm 4,84$ % ở ngày thứ 28. Nồng độ cortisol trong nhóm cá phơi nhiễm Cd^{2+} 5 mg/L đo được tại các ngày thứ 7, 14, 21 và 28 cao hơn so với cá đối chứng lần lượt $161,69 \pm 6,97$; $104,16 \pm 5,83$; $75,13 \pm 4,85$ và $102,38 \pm 5,81$ %. Nồng độ cortisol trong nhóm cá phơi nhiễm Cd^{2+} 10 mg/L cao hơn so với cá đối chứng là $182,20 \pm 4,09$ % ở ngày thứ 7, $209,32 \pm 2,21$ % ở ngày thứ 14, $201,25 \pm 2,34$ % ở ngày thứ 21 và $212,02 \pm 5,06$ % ở ngày thứ 28. Những phát hiện này chỉ ra rằng ion Cd ảnh hưởng đáng kể đến hoạt động tuyến thượng thận, gây rối loạn giải phóng cortisol. Vì vậy, lượng cortisol trong huyết tương cá rô đồng thay đổi tăng, giảm liên tục và kéo dài cho đến khi kết thúc thời gian sống trong nước ô nhiễm Cd^{2+} (28 ngày).

Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng trục HPI bị kiệt quệ là một hiện tượng phổ biến ở cá tiếp xúc lâu dài với tác nhân gây căng thẳng. Sự gia tăng nồng độ cortisol kéo dài có thể dẫn đến phản hồi tiêu cực trên trục HPI, nơi tuyến yên và vùng dưới đồi bị ức chế. Phản hồi tiêu cực liên tục có thể làm giảm giải phóng ACTH, dẫn đến giảm sản xuất cortisol và có khả năng teo tế bào trong tuyến yên và vỏ thượng thận [108]. Sự tăng lượng cortisol trong máu đã được tìm thấy đối với cá chình nước ngọt *Anguilla rostrata* (Lesueur) và cá rô phi đen (*Oreochromis mossombicus*) phơi nhiễm Cd [116, 156, 157]. Ngược lại, Cd gây căng thẳng giảm sinh cortisol đối với cá hồi vân (*Oncorhynchus mykiss*) và cá điêu hồng (*Oreochromis sp*) [158, 159]. Không có dấu hiệu rối loạn cortisol đối với cá hồi Đại Tây Dương (*Salmo salar*) và cá chép (*Cyprinus carpio*) phơi nhiễm Cd [160, 161].

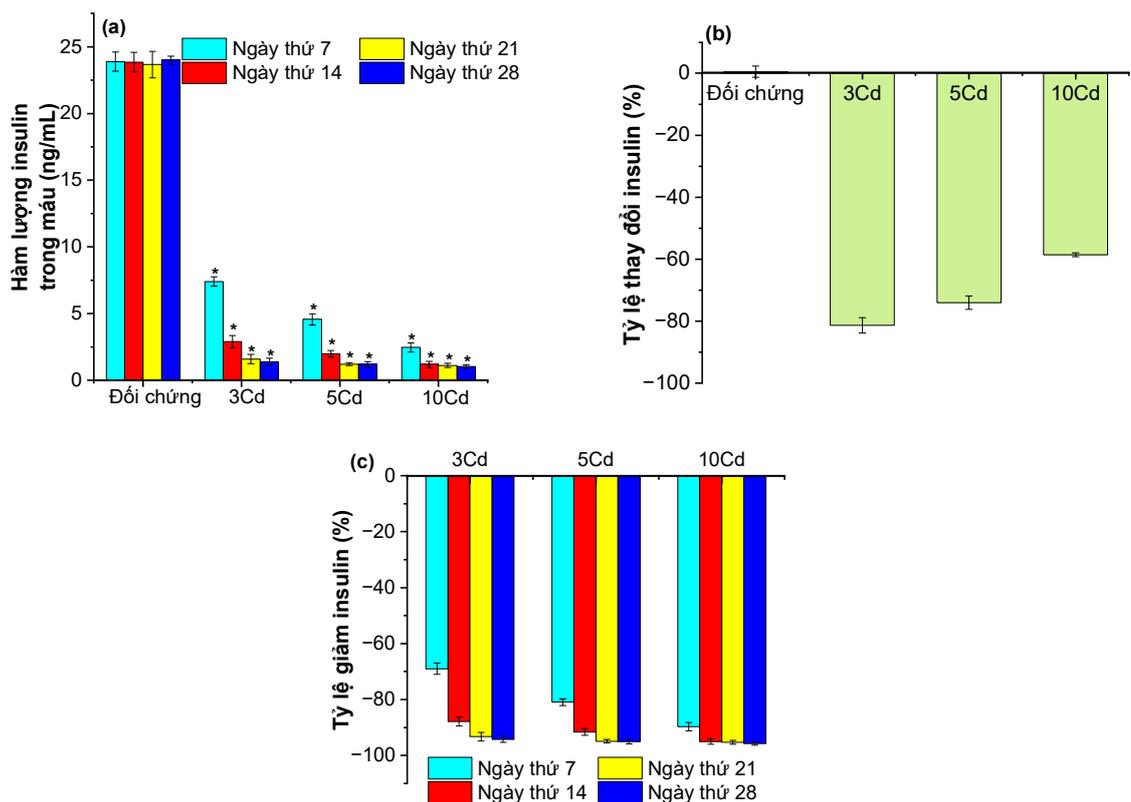
↳ Sự rối loạn tiết cortisol đối với cá rô đồng phơi nhiễm ion Cd của nghiên cứu này cho thấy, tiếp xúc lâu dài với ion Cd có thể dẫn đến phản hồi tiêu cực trên trục HPI và cuối cùng gây ra sự kiệt sức của trục HPI.

d. Tác động độc tính bán trường diễn của Cd^{2+} đến sự thay đổi insulin trong máu cá rô đồng

Ảnh hưởng của ion Cd đến sự thay đổi nồng độ insulin trong máu của cá rô đồng được trình bày trên Hình 3.29a và kết quả được trình bày trong Phụ lục 38. Kết quả phân tích thống kê cho thấy, nồng độ insulin trong máu cá rô đồng phơi nhiễm ion Cd thấp hơn đáng kể ($p < 0,05$) so với cá đối chứng. Nồng độ insulin trong máu cá đối chứng dao động khoảng từ $23,67 \pm 0,99$ đến $24,01 \pm 0,31$ ng/mL.

Cadimi là một kim loại không thiết yếu, không có chức năng sinh học và rất độc cho động vật thủy sinh. Căng thẳng độc hại do ion Cd gây ra đối với cá rô đồng là giảm sản xuất insulin và tiếp xúc lâu dài với ion Cd nồng độ càng cao thì lượng insulin trong máu càng thấp. Hình 3.29a cho thấy tình trạng cạn kiệt insulin đối với cá phơi nhiễm ion Cd. Đối với nhóm cá phơi nhiễm Cd^{2+} 3,0 mg/L, nồng độ insulin đo được ở ngày

thứ 7 và ngày thứ 14 lần lượt là $7,40 \pm 0,35$ và $2,90 \pm 0,46$ ng/mL, giảm 3,2 và 10,4 lần so với nồng độ insulin của cá đối chứng. Nồng độ insulin đo được ở ngày thứ 21 và ngày thứ 28 lần lượt là $1,59 \pm 0,34$ và $1,39 \pm 0,25$ ng/mL. So với cá đối chứng, nồng độ insulin của cá phơi nhiễm Cd^{2+} 3 mg/L giảm 14,9 lần ở ngày thứ 21 và giảm 17,3 lần ở ngày thứ 28. Đối với nhóm cá phơi nhiễm Cd^{2+} 5 mg/L, nồng độ insulin đo được ở ngày thứ 7 và ngày thứ 14 lần lượt là $4,56 \pm 0,43$ và $1,99 \pm 0,24$ ng/mL, giảm 5,2 và 12 lần so với nồng độ insulin của cá đối chứng. Khi kéo dài thời gian tiếp xúc với Cd^{2+} , nồng độ insulin càng thấp. Ngày thứ 21 và ngày thứ 28, nồng độ insulin đo được lần lượt là $1,20 \pm 0,12$ và $1,19 \pm 0,20$ ng/mL, giảm 19,7 và 20,2 lần so với nồng độ insulin của cá đối chứng. Nồng độ insulin trong máu nhóm cá phơi nhiễm Cd^{2+} 10 mg/L đo được ở ngày thứ 7 và ngày thứ 14 lần lượt là $2,46 \pm 0,35$ và $1,18 \pm 0,24$ ng/mL. So với cá đối chứng, nồng độ insulin của cá phơi nhiễm Cd^{2+} 10 mg/L giảm 9,7 lần ở ngày thứ 7 và giảm 20,2 lần ở ngày thứ 14. Nồng độ insulin đo được ở ngày thứ 21 và ngày thứ 28 lần lượt là $1,11 \pm 0,16$ và $1,02 \pm 0,13$ ng/mL, giảm 21,32 và 23,5 lần so với insulin của cá đối chứng.



Hình 3.29. (a) Sự thay đổi nồng độ insulin trong máu cá rô đồng đối chứng và cá rô đồng phơi nhiễm Cd^{2+} ; (b) Tỷ lệ thay đổi insulin trong máu cá rô đồng giữa ngày thứ 28 so với ngày thứ 7 kể từ lúc bắt đầu phơi nhiễm Cd^{2+} và (c) Tỷ lệ giảm insulin trong máu của cá rô đồng phơi nhiễm Cd^{2+} so với cá đối chứng

(Giá trị chính \pm SD, n = 3);

*Sự khác biệt đáng kể ($p < 0,05$) về lượng insulin trong máu cá đối chứng và cá phơi nhiễm Cd^{2+}

Hình 3.29b trình bày tỷ lệ thay đổi insulin trong máu cá giữa ngày thứ 28 so với ngày thứ 7 kể từ lúc bắt đầu phơi nhiễm. Bởi vì sự chênh lệch về nồng độ insulin giữa ngày thứ 28 và ngày thứ 7 không đáng kể nên tỷ lệ insulin trong máu cá đối chứng tăng khoảng $0,50 \pm 1,80$ %. Đối với cá rô đồng phơi nhiễm Cd^{2+} 3 và 5 mg/L, nồng độ insulin trong máu đo được tại ngày thứ 28 thấp hơn đáng kể so với ngày thứ 7, với tỷ lệ giảm lần lượt $81,34 \pm 2,49$ và $74,00 \pm 2,18$ %. Tỷ lệ giảm insulin trong máu cá phơi nhiễm Cd^{2+} 10 mg/L của ngày thứ 28 so với ngày thứ 7 là $58,56 \pm 0,64$ %. Cá rô đồng sống trong nước ô nhiễm Cd^{2+} nồng độ càng cao thì sự lượng insulin trong máu càng thấp. Mặc dù, không có cá chết do nhiễm Cd^{2+} , nhưng sự giảm đáng kể về lượng insulin cho thấy căng thẳng do ion Cd gây ảnh hưởng đáng kể đến hoạt động tuyến tụy kết quả là ức chế giải phóng insulin.

Hình 3.29c trình bày tỷ lệ giảm lượng insulin trong máu cá phơi nhiễm ion Cd so với cá đối chứng. So với cá đối chứng, nồng độ insulin trong máu cá phơi nhiễm Cd^{2+} 3 mg/L giảm $69,01 \pm 1,97$ % ở ngày thứ 7; giảm $87,87 \pm 1,66$ % ở ngày thứ 14; giảm $93,27 \pm 1,56$ % ở ngày thứ 21 và giảm $94,22 \pm 1,06$ % ở ngày thứ 28. Nồng độ insulin trong máu cá phơi nhiễm Cd^{2+} 5 mg/L giảm so với cá đối chứng lần lượt là $80,94 \pm 1,22$; $91,65 \pm 1,20$; $94,92 \pm 0,58$ và $95,05 \pm 0,78$ % tương ứng với các ngày thứ 7; 14; 21 và 28. So với cá đối chứng, nồng độ insulin trong máu cá phơi nhiễm Cd^{2+} 10 mg/L giảm $89,71 \pm 1,52$ % ở ngày thứ 7; giảm $95,05 \pm 0,98$ % ở ngày thứ 14; giảm $95,32 \pm 0,68$ % ở ngày thứ 21 và giảm $95,77 \pm 0,52$ % ở ngày thứ 28.

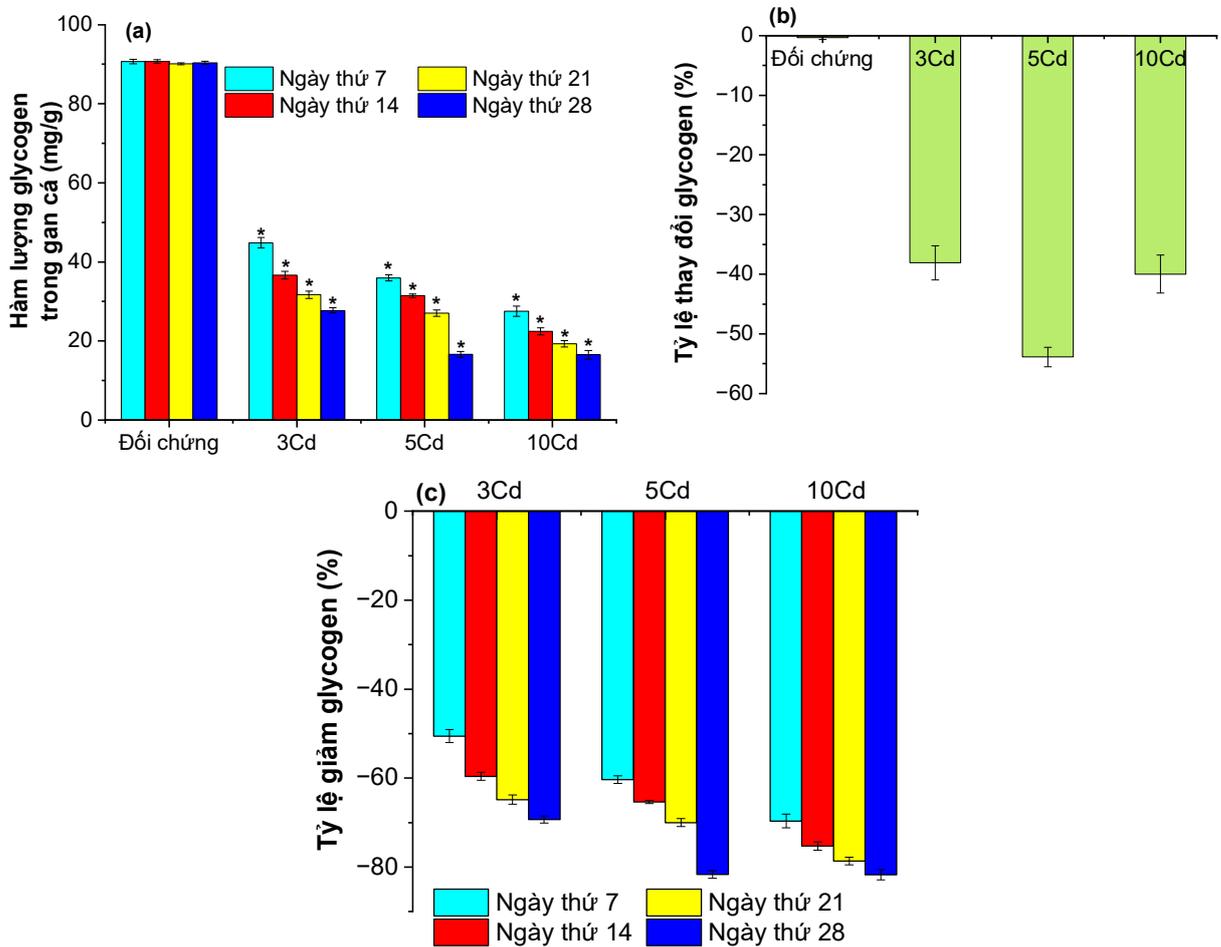
Những phát hiện này chỉ ra rằng ion Cd ảnh hưởng đáng kể đến hoạt động tuyến tụy, gây ức chế quá trình giải phóng insulin. Carbohydrate trong thức ăn sẽ được cơ thể chuyển hóa thành glucose, đi vào máu. Đây lại là nguyên nhân khởi đầu cho quá trình sản xuất và giải phóng hormone insulin của các tế bào beta của đảo Langerhans của tuyến tụy [162]. Insulin thúc đẩy các cơ quan đích (gan và cơ) hấp thụ glucose để tạo năng lượng hoặc và chuyển đổi nó thành glycogen dự trữ [162]. Căng thẳng do phơi nhiễm ion Cd kéo dài có thể thúc đẩy tuyến thượng thận giải phóng hormone catecholamine kích thích thụ thể α của tuyến tụy [113], điều này giải thích cho hiện tượng cạn kiệt insulin trong cá phơi nhiễm ion Cd đến ngày thứ 28.

↪ Các kết quả về sự thay đổi insulin trong máu cá rô đồng của nghiên cứu này cho thấy, tiếp xúc lâu dài với ion Cd ở nồng độ cao gây ra phản ứng căng thẳng, ảnh hưởng tiêu cực đến hoạt động của tuyến tụy, dẫn đến giảm sản xuất insulin.

e. Tác động độc tính bán trường diễn của Cd^{2+} đến sự thay đổi glycogen trong gan cá rô đồng

Glycogen là một trong những nguồn năng lượng dự trữ luôn có sẵn cho hoạt động vận động của cơ thể, tình trạng bơi lội kém và phản ứng chậm của cá rô đồng

phơi nhiễm Cd^{2+} có thể là do căng thẳng và thiếu hụt năng lượng dự trữ. Ảnh hưởng của ion Cd đến sự thay đổi glycogen trong gan cá rô đồng được trình bày trên Hình 3.30a và kết quả được trình bày trong Phụ lục 39.



Hình 3.30. (a) Sự thay đổi hàm lượng glycogen trong gan cá rô đồng đối chứng và cá rô đồng phơi nhiễm Cd^{2+} ; (b) Tỷ lệ giảm glycogen trong gan cá rô đồng giữa ngày thứ 28 so với ngày thứ 7 kể từ lúc bắt đầu phơi nhiễm Cd^{2+} và (c) Tỷ lệ giảm glycogen trong gan của cá rô đồng phơi nhiễm Cd^{2+} so với cá đối chứng

(Giá trị chính \pm SD, n = 3);

*Sự khác biệt đáng kể ($p < 0,05$) về lượng glycogen trong gan cá đối chứng và cá phơi nhiễm Cd^{2+}

Kết quả phân tích thống kê cho thấy, sự khác biệt đáng kể ($p < 0,05$) về lượng glycogen trong gan cá rô đồng đối chứng so với cá rô đồng phơi nhiễm ion Cd. Lượng glycogen trong gan cá rô đồng đối chứng trong 28 ngày thí nghiệm được ghi nhận trong khoảng $90,09 \pm 0,27$ đến $90,69 \pm 0,47$ mg/g. Cá rô đồng tiếp xúc lâu dài với ion Cd nồng độ càng cao thì lượng glycogen trong gan càng thấp. Vào ngày thứ 7 và ngày thứ 14 kể từ bắt đầu thí nghiệm, lượng glycogen trong gan cá phơi nhiễm Cd^{2+} 3 mg/L đo được $44,83 \pm 1,30$ và $36,65 \pm 0,96$ mg/g, thấp so với cá đối chứng lần lượt là 2,0 và 2,5 lần. Lượng glycogen trong gan đo được vào ngày thứ 21 là $31,68 \pm 0,90$ mg/g, thấp

hơn 2,8 lần so với glycogen trong gan cá đối chứng. Vào ngày thứ 28, lượng glycogen trong gan cá phơi nhiễm Cd^{2+} đo được là $27,72 \pm 0,64$ mg/g, giảm 3,3 lần so với ở cá đối chứng.

Hình 3.30a cho thấy lượng glycogen trong gan nhóm cá phơi nhiễm Cd^{2+} 5 mg/L đo được $35,95 \pm 0,75$ mg/g ở ngày thứ 7, giảm 2,5 lần so với cá đối chứng. Ngày thứ 14, lượng glycogen trong gan đo được là $31,44 \pm 0,46$ mg/g, giảm 2,9 lần so với cá đối chứng. Ngày thứ 21 và 28, lượng glycogen trong gan cá phơi nhiễm Cd^{2+} 5 mg/L đo được lần lượt là $27,03 \pm 0,84$ và $16,58 \pm 0,76$, giảm 3,3 và 5,4 lần so với cá đối chứng. Đối với nhóm cá phơi nhiễm Cd^{2+} 10 mg/L, lượng glycogen trong gan đo được ở ngày thứ 7 và ngày thứ 14 lần lượt là giảm $27,52 \pm 1,32$ và $22,45 \pm 0,88$ mg/g, giảm 3,3 và 4,0 lần so với glycogen trong gan cá đối chứng. Lượng glycogen trong gan đo được ở ngày thứ 21 và ngày thứ 28 lần lượt là giảm $19,27 \pm 0,81$ và $16,51 \pm 1,09$ mg/g, giảm 4,7 và 5,5 lần so với cá đối chứng. Sự giảm hàm lượng glycogen trong gan cá phơi nhiễm ion Cd cho thấy cơ thể đang huy động dự trữ glycogen để đáp ứng nhu cầu năng lượng tăng lên do căng thẳng. Những phát hiện của nghiên cứu này phù hợp với các nghiên cứu trước đây.

Sự giảm liên tục hàm lượng glycogen dự trữ trong cá lóc đốm (*C. Perfuscus*) phơi nhiễm ZnSO_4 dưới mức gây chết cũng đã được báo cáo [116, 117]. Sự cạn kiệt glycogen trong gan của cá rô phi đen (*Oreochromis mossambicus*) và cá ngựa vằn (*Danio rerio*) phơi nhiễm Cd và Hg cũng đã được báo cáo [163, 164].

Hình 3.30b trình bày tỷ lệ giảm glycogen trong gan cá giữa ngày thứ 28 so với ngày thứ 7 kể từ lúc bắt đầu phơi nhiễm. Bởi vì sự chênh lệch về hàm lượng glycogen trong gan cá đối chứng giữa ngày thứ 28 và ngày thứ 7 không đáng kể nên tỷ lệ glycogen trong gan cá đối chứng giảm khoảng $0,35 \pm 0,32$ %. Kết quả trên Hình 3.30b cho thấy, lượng glycogen trong gan cá phơi nhiễm Cd^{2+} đo được tại ngày thứ 28 thấp hơn nhiều so với ngày thứ 7, với tỷ lệ giảm $38,10 \pm 2,88$ % đối với cá phơi nhiễm Cd^{2+} 3 mg/L, $53,89 \pm 1,64$ % đối với cá phơi nhiễm Cd^{2+} 5 mg/L và $39,98 \pm 3,16$ % đối với cá phơi nhiễm Cd^{2+} 10 mg/L.

Hình 3.30c trình bày tỷ lệ giảm glycogen trong gan cá phơi nhiễm ion Cd so với cá đối chứng. So với gan cá đối chứng, lượng glycogen trong gan cá phơi nhiễm Cd^{2+} 3 – 10 mg/L giảm từ $50,54 \pm 1,47$ đến $69,64 \pm 1,53$ % tại ngày thứ 7; giảm từ $59,59 \pm 0,91$ đến $75,25 \pm 0,94$ % tại ngày 14, giảm từ $64,83 \pm 1,02$ đến $78,61 \pm 0,87$ % tại ngày 21 và giảm từ $69,31 \pm 0,77$ đến $81,72 \pm 1,13$ % tại ngày 28. Những kết quả này chỉ ra rằng căng thẳng do phơi nhiễm Cd^{2+} dẫn đến rối loạn chuyển hóa ở gan của cá rô đồng. Nghiên cứu trước đây cho thấy ion Cd không chỉ ảnh hưởng đến quá trình chuyển hóa năng lượng mà còn gây tổn thương ty thể, là vị trí chuyển hóa năng lượng chính ở trong

gan [154]. Do đó, phơi nhiễm ion Cd có thể phá vỡ quá trình chuyển hóa carbohydrate ở cá, dẫn đến giảm dự trữ glycogen và thay đổi hoạt động của enzyme gan. Kho dự trữ glycogen ở gan là nguồn cung cấp glucose chủ yếu cho máu. Glycogen ở gan có thể bị phá vỡ bằng cách phân giải thành glucose-6-P và enzyme glucose-6-phosphatase sau đó xúc tác chuyển glucose-6-P thành glucose. Glucose này sau đó có thể được vận chuyển ra khỏi tế bào để cung cấp cho máu [165]. Các phân tử glucose trong máu được các chất vận chuyển glucose đưa vào các tế bào khắp cơ thể, bên trong tế bào glucose có thể bị oxy hóa để tạo năng lượng.

↳ Sự giảm đáng kể glycogen dự trữ ở gan đối với cá rô đồng phơi nhiễm ion Cd của nghiên cứu này cho thấy, căng thẳng do tiếp xúc với ion Cd dẫn đến rối loạn chuyển hóa, đòi hỏi cơ thể phải sử dụng glycogen (glucose dự trữ) để tạo năng lượng.

3.3.2.2. Cá rô đồng thôi nhiễm Cd^{2+}

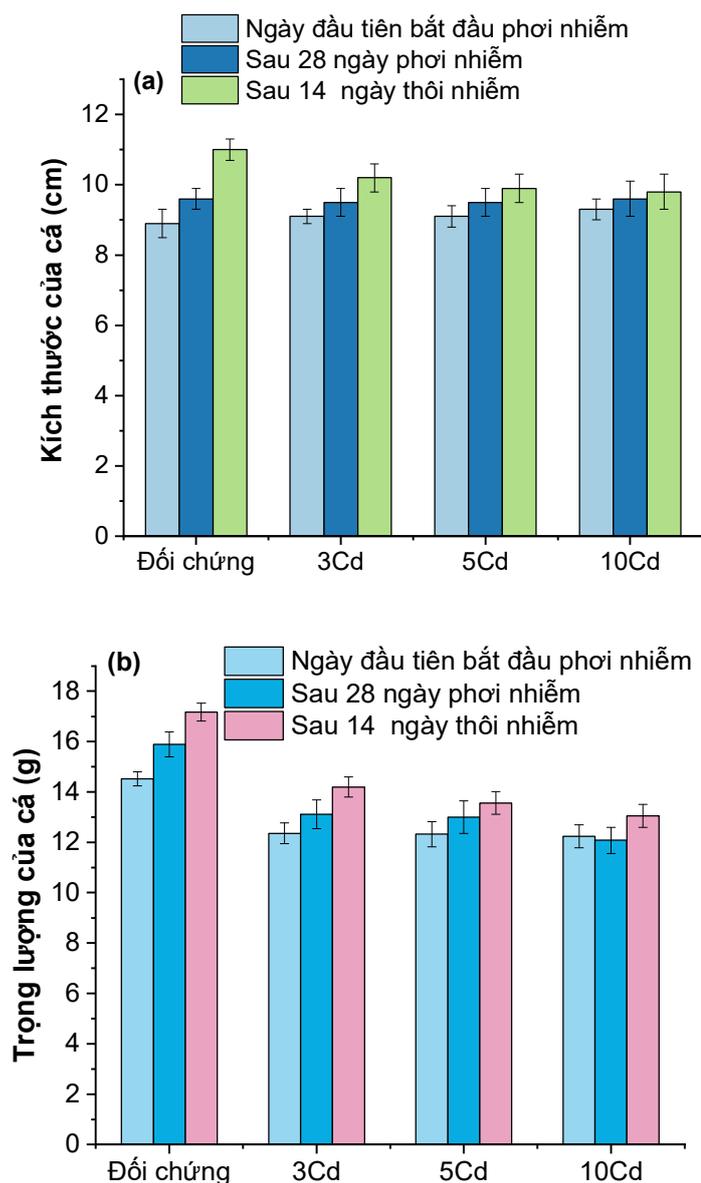
a. Sự thay đổi trọng lượng và kích thước

Sau 14 ngày thôi sống trong nước ô nhiễm Cd^{2+} , sự thay đổi về kích thước và trọng lượng của cá rô đồng được trình bày trên Hình 3.31 và trong Phụ lục 40.

Sau 42 ngày thí nghiệm bao gồm 28 ngày phơi nhiễm và 14 ngày thôi nhiễm, cá đối chứng vẫn khỏe mạnh, phản ứng nhanh, ăn tốt và phát triển bình thường. So với ngày bắt đầu phơi nhiễm (ngày bắt đầu thí nghiệm), kích thước của cá đối chứng tăng 22,50% và trọng lượng cá đối chứng tăng 18,25 %. Kích thước và trọng lượng của cá đối chứng trong 28 ngày của giai đoạn phơi nhiễm tăng lần lượt là 8,20 và 9,44 %. Kích thước và trọng lượng của cá đối chứng trong 14 ngày của giai đoạn thôi nhiễm tăng lần lượt là 13,20 và 8,06 %. Kết quả này cho thấy điều kiện nuôi là hợp lý và không làm ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của cá rô đồng.

Tác động tiêu cực của ion Cd đối với cá rô đồng được thể hiện rõ ràng qua tình trạng phục hồi chậm. Cá rô đồng đã từng phơi nhiễm ion Cd nồng độ càng cao thì mức độ tăng trưởng (kích thước, trọng lượng) càng chậm, kể cả khi được sống trong nước sạch. Mặc dù, ion Cd có ảnh hưởng nhất định đến sức khỏe và khả năng phục hồi của cá rô đồng phơi nhiễm, tuy nhiên sau 3 ngày được sống trong nước sạch thì phản ứng của cá trở nên linh hoạt hơn và ăn nhiều thực phẩm hơn vì vậy kích thước và trọng lượng của cá đã từng phơi nhiễm Cd^{2+} vẫn có xu hướng tăng.

+ Đối với nhóm cá đã từng phơi nhiễm Cd^{2+} 3,0 mg/L, kích thước và trọng lượng của cá tại ngày thứ 14 giai đoạn thôi nhiễm (ngày kết thúc thí nghiệm) tăng lần lượt là 12,50 và 13,98 % so với kích thước và trọng lượng của cá tại thời điểm bắt đầu thí nghiệm. Trong đó, giai đoạn phơi nhiễm (28 ngày), kích thước và trọng lượng của nhóm cá này tăng lần lượt là 5,30 % và 6,07 %. Giai đoạn thôi nhiễm (14 ngày), kích thước và trọng lượng của nhóm cá này tăng lần lượt là 6,80 % và 8,31 %.



Hình 3.31. Sự thay đổi (a) kích thước và (b) trọng lượng của cá rô đồng tại các thời điểm bắt đầu phơi nhiễm và thôi nhiễm Cd^{2+} , ngày thứ 28 phơi nhiễm và ngày thứ 14 thôi nhiễm

+ Đối với nhóm cá đã từng phơi nhiễm Cd^{2+} 5,0 mg/L, kích thước và trọng lượng của cá trong suốt quá trình thí nghiệm (42 ngày) tăng lần lượt là 7,90 và 10,03 %. Trong đó, giai đoạn phơi nhiễm (28 ngày), kích thước và trọng lượng của nhóm cá này tăng lần lượt là 3,60 % và 5,49 %. Giai đoạn thôi nhiễm (14 ngày), kích thước và trọng lượng của nhóm cá này tăng lần lượt là 4,10 % và 4,31 %.

+ Đối với nhóm cá đã từng phơi nhiễm Cd^{2+} 10,0 mg/L, kích thước và trọng lượng của cá trong 42 ngày thí nghiệm tăng lần lượt là 5,50 và 6,62 %. Trong đó, giai đoạn 28 ngày phơi nhiễm, kích thước và trọng lượng của nhóm cá này tăng lần lượt là

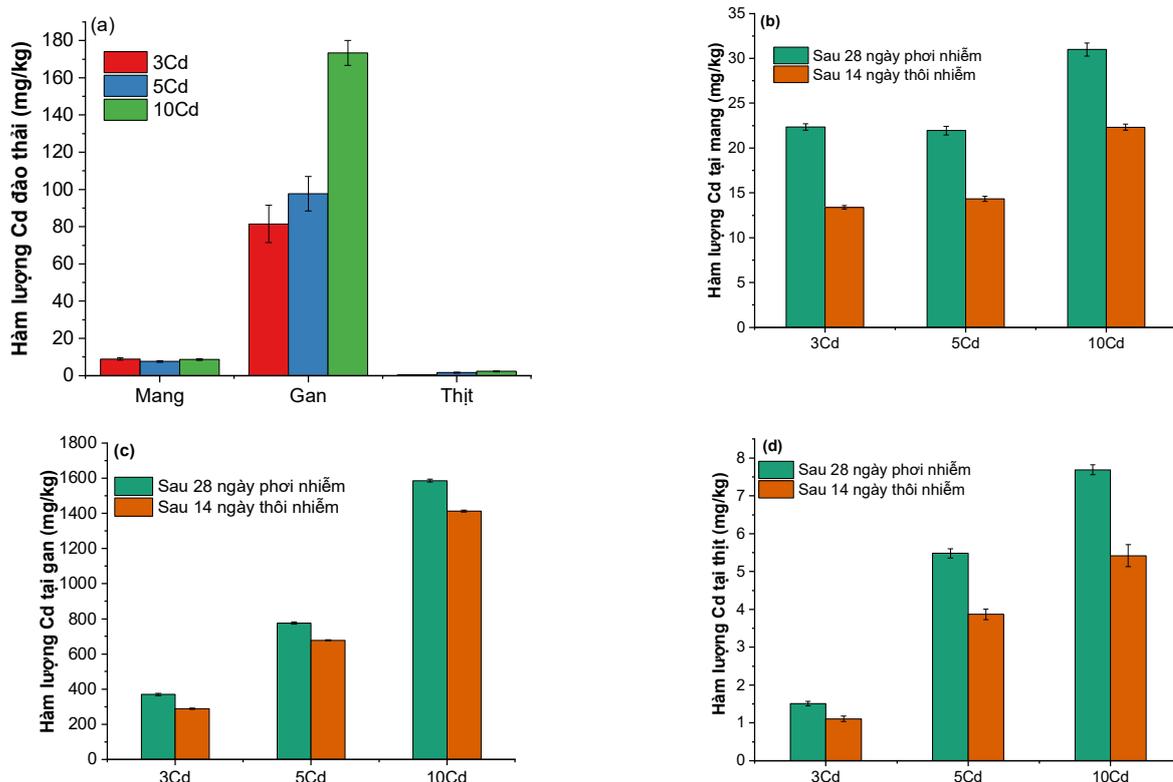
3,00 % và 4,58 %. Giai đoạn 14 ngày thôi nhiễm, kích thước và trọng lượng của nhóm cá này tăng lần lượt là 2,40 % và 1,95 %.

b. Sự đào thải Cd^{2+} của cá rô đồng ô nhiễm

Sự thay đổi hàm lượng ion Cd trong mang, gan và thịt cá đã từng phơi nhiễm sau 14 ngày sống trong nước sạch so với hàm lượng ion Cd tích lũy trong cá khi mới bắt đầu sống trong nước sạch được trình bày trên Hình 3.32 và kết quả thí nghiệm trong Phụ lục 41. Hàm lượng Cd^{2+} được đào thải ra khỏi các mô của cá phơi nhiễm sau 14 ngày sống trong nước sạch được trình bày trong Bảng 3.6.

Bảng 3.6. Hàm lượng Cd^{2+} đào thải ở các mô của cá rô đồng sau 14 ngày thôi nhiễm

Mô cá	Hàm lượng Cd^{2+} đào thải (mg/kg)		
	3Cd	5Cd	10Cd
Mang	8,95 ± 0,56	7,63 ± 0,42	8,67 ± 0,44
Gan	81,48 ± 10,04	97,78 ± 9,28	173,33 ± 6,71
Thịt	0,41 ± 0,06	1,62 ± 0,27	2,27 ± 0,22



Hình 3.32. Hàm lượng Cd^{2+} ở mang, gan và thịt của cá rô đồng (a) Lượng Cd^{2+} được đào thải, (b) Lượng Cd^{2+} tại mang, (c) Lượng Cd^{2+} tại gan và (d) Lượng Cd^{2+} tại thịt ở ngày thứ 28 của giai đoạn phơi nhiễm và ngày thứ 14 của giai đoạn thôi nhiễm

Hàm lượng ion Cd trong mang, gan và thịt cá đã từng phơi nhiễm ion Cd giảm tương đối sau 14 ngày sống trong nước sạch. Quá trình đào thải Cd^{2+} ra khỏi mang, gan và thịt cá sau 28 ngày phơi nhiễm ion Cd chủ yếu phụ thuộc vào chức năng của từng loại mô.

Đào thải Cd^{2+} từ mang: Mức độ đào thải ion Cd ở mang của nhóm cá đã từng phơi nhiễm Cd^{2+} 3,0 mg/L và Cd^{2+} 10,0 mg/L nhiều hơn so nhóm cá đã từng phơi nhiễm Cd^{2+} 5,0 mg/L. Với nhóm cá đã từng phơi nhiễm Cd^{2+} 3,0 và 10,0 mg/L hàm lượng đào thải lần lượt là $8,95 \pm 0,56$ mg/kg và $8,67 \pm 0,44$ mg/kg trong khi nhóm cá đã từng phơi nhiễm Cd^{2+} 5,0 mg/L là $7,63 \pm 0,42$ mg/kg.

Đào thải Cd^{2+} từ gan: Mức độ đào thải ion Cd ở gan của nhóm cá đã từng phơi nhiễm Cd^{2+} 10,0 mg/L là nhiều nhất, tiếp theo là nhóm cá đã từng phơi nhiễm Cd^{2+} 5,0 mg/L và cuối cùng là nhóm cá đã từng phơi nhiễm Cd^{2+} 3,0 mg/L. Hàm lượng đào thải ion Cd ra khỏi gan là $173,33 \pm 6,71$; $97,78 \pm 9,28$ và $81,48 \pm 10,04$ mg/kg lần lượt tương ứng với các nhóm cá đã từng phơi nhiễm Cd^{2+} 10,0; 5,0 và 3,0 mg/L

Đào thải Cd^{2+} từ thịt: Mức độ đào thải ion Cd ở thịt của nhóm cá đã từng phơi nhiễm Cd^{2+} 10,0 mg/L là nhiều nhất, tiếp theo là nhóm cá đã từng phơi nhiễm Cd^{2+} 5,0 và 3,0 mg/L. Hàm lượng đào thải ion Cd ra khỏi thịt là $0,41 \pm 0,06$ mg/kg đối với nhóm cá đã từng phơi nhiễm Cd^{2+} 3,0 mg/L; $1,62 \pm 0,27$ mg/kg đối với nhóm cá đã từng phơi nhiễm Cd^{2+} 5,0 mg/L và $2,27 \pm 0,22$ mg/kg đối với nhóm cá đã từng phơi nhiễm Cd^{2+} 10,0 mg/L.

Quy luật đào thải của ion Cd ra khỏi các mô mang, gan và thịt của cá rô đồng đã từng sống phơi nhiễm sau 14 ngày sống trong nước sạch theo thứ tự như sau Gan >> Mang > Thịt.

Cadimi là kim loại độc hại không có chức năng sinh học, sự tích tụ sinh học và khuếch đại của Cd^{2+} dọc theo chuỗi và lưới thức ăn trong các hệ sinh thái gây ra rủi ro sức khỏe cho con người. Độ độc cấp tính của ion Cd đối với cá rô đồng là 38 mg/L. Ion Cd ảnh hưởng lâu dài đến sự tăng trọng lượng và kích thước của cá rô đồng mặc dù cá phơi nhiễm được sống trong nước sạch. Mức độ tích lũy Cd^{2+} trong cá rô đồng tăng theo nồng độ ion Cd trong nước và thời gian phơi nhiễm. Quy luật phân bố và tích lũy ion Cd trong cá rô đồng như sau: Gan >> Mang > Thịt. Căng thẳng độc hại của ion Cd là gây rối loạn nội tiết, suy giảm chức năng tuyến tụy và suy giảm chức năng gan trong cá rô đồng dẫn đến tăng lượng cortisol, giảm lượng insulin và phân giải glycogen dự trữ trong gan. Mặc dù, mức độ loại bỏ ion Cd ra khỏi mang, gan và thịt cá rô đồng đã từng phơi nhiễm là có nhưng mức độ không đáng kể. Có thể thấy khi kim loại độc hại này tích tụ trong các mô của cá thì rất khó để loại bỏ hoàn toàn ra khỏi cơ thể.

3.4. SO SÁNH TÁC ĐỘNG ĐỘC HẠI CỦA Pb VÀ Cd ĐỐI VỚI CÁ RÔ ĐỒNG (*Anabas testudineus*)

Chì (Pb) và Cadimi (Cd) đều là những kim loại độc hại có khả năng tích lũy sinh học trong cơ thể cá rô đồng, tuy nhiên mức độ và cơ chế tác động của chúng có những điểm khác biệt nhất định. Ở cả giai đoạn phơi nhiễm và thôi nhiễm, các ion Pb và Cd đều có các tác động độc hại lên cá rô đồng, Bảng 3.7 trình bày kết quả thống kê và so sánh các biểu hiện độc tính của hai kim loại này đối với cá rô đồng trong cả hai giai đoạn nghiên cứu.

Bảng 3.7. So sánh tác động độc hại của Pb^{2+} và Cd^{2+} đối với cá rô đồng

Các tác động độc hại		Pb^{2+}	Cd^{2+}
Tác động độc cấp tính (LC ₅₀ 96 giờ)		120,0 mg/L	38,0 mg/L
Tác động độc tính bán trường diễn - Phơi nhiễm 28 ngày	<i>Sự phát triển</i>	Tiếp xúc lâu dài (28 ngày) với Pb^{2+} (20 – 40 mg/L) và Cd^{2+} (3 – 10 mg/L) ở nồng độ dưới ngưỡng gây chết đã làm cá rô đồng chậm phát triển. Kích thước và trọng lượng của cá rô đồng phơi nhiễm ion Pb và ion Cd tăng nhưng không đáng kể so với cá đối chứng.	
	<i>Sự tích lũy giống nhau</i>	Tích lũy Pb^{2+} và Cd^{2+} trong cá phơi nhiễm tăng theo thời gian và nồng độ Pb^{2+} và Cd^{2+} trong nước.	
	<i>Sự tích lũy khác nhau</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Thứ tự phân bố và tích lũy ion Pb như sau: Mang >> Gan > Thịt. - Tích tụ ion Pb trên mang từ $97,57 \pm 2,33$ đến $471,84 \pm 3,92$ mg/kg mang khô. - Tích tụ ion Pb trong gan từ $18,00 \pm 1,65$ đến $174,45 \pm 5,55$ mg/kg gan khô. - Tích tụ ion Pb trong thịt từ $9,67 \pm 3,15$ đến $153,60 \pm 5,78$ mg/kg thịt khô. 	<ul style="list-style-type: none"> - Thứ tự phân bố và tích lũy ion Cd như sau: Gan >> Mang > Thịt. - Tích tụ ion Cd trên mang từ $5,24 \pm 0,14$ đến $30,99 \pm 0,73$ mg/kg mang khô. - Tích tụ ion Cd trong gan từ $208,84 \pm 6,87$ đến $1586,10 \pm 8,07$ mg/kg gan khô. - Tích tụ ion Cd trong thịt từ $0,60 \pm 0,05$ đến $7,69 \pm 0,13$ mg/kg thịt khô.
	<i>Cortisol trong máu</i>	Tiếp xúc lâu dài với ion Pb và Cd đã làm gián đoạn đến hoạt động bình thường của trục hạ đồi – tuyến yên – liên thận (trục HPI), dẫn đến tình trạng sản xuất cortisol quá mức.	

Các tác động độc hại		Pb ²⁺	Cd ²⁺
	Rối loạn insulin trong máu	Tiếp xúc lâu dài với ion Pb và Cd đã làm suy yếu chức năng của các tế bào beta tuyến tụy, dẫn đến tình trạng dẫn đến giảm sản xuất insulin (thiếu hụt insulin).	
	Phân hủy glycogen gan	Tiếp xúc lâu dài với ion Pb và Cd đã làm suy yếu chức năng gan, cản trở quá trình tiêu hóa và phá vỡ các con đường trao đổi chất, dẫn đến phân giải glycogen dự trữ ở gan.	
Tác động độc tính bán trường diễn - Thôi nhiễm 14 ngày	Sự phát triển	Phơi nhiễm ion Pb và Cd kéo dài đã gây ra căng thẳng độc hại, ảnh hưởng mạnh đến khả năng hồi phục của cá rô đồng. Ngay cả khi được nuôi trong môi trường nước sạch sự tăng trưởng về trọng lượng và kích thước của nhóm cá này vẫn chậm hơn đáng kể so với nhóm đối chứng, điều này cho thấy tác động lâu dài của ion Pb và Cd lên cá.	
	Sự đào thải giống nhau	Có sự đào thải tương đối ion Pb và Cd ra khỏi mang và gan nhưng ít hơn ở thịt của cá rô đồng đã từng phơi nhiễm.	
	Sự đào thải khác nhau	<ul style="list-style-type: none"> - Thứ tự đào thải ion Pb như sau: Mang >> Gan > Thịt. - Đào thải ion Pb ra khỏi mang từ $89,99 \pm 5,77$ đến $292,19 \pm 6,40$ mg/kg mang khô. - Đào thải ion Pb ra khỏi gan từ $26,42 \pm 5,59$ đến $35,53 \pm 5,70$ mg/kg gan khô. - Đào thải ion Pb ra khỏi thịt từ $16,19 \pm 5,68$ đến $20,53 \pm 5,50$ mg/kg thịt khô. 	<ul style="list-style-type: none"> - Thứ tự đào thải ion Cd như sau: Gan >> Mang > Thịt. - Đào thải ion Cd ra khỏi mang từ $7,63 \pm 0,42$ đến $8,95 \pm 0,56$ mg/kg mang khô. - Đào thải ion Cd ra khỏi gan từ $81,48 \pm 10,04$ đến $173,33 \pm 6,71$ mg/kg gan khô. - Đào thải ion Cd ra khỏi thịt từ $0,41 \pm 0,06$ đến $2,27 \pm 0,22$ mg/kg thịt khô.

Chương 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. KẾT LUẬN

Trên cơ sở nghiên cứu mức độ tích lũy, đào thải cũng như tác động của Pb và Cd đến ba chỉ tiêu sinh hóa cortisol, insulin và glycogen của cá rô đồng (*Anabas testudineus*), luận án có những kết luận sau:

1. Độ độc cấp tính của Pb và Cd (LC₅₀ 96 giờ) đối với cá rô đồng lần lượt là 120 và 38 mg/L.

2. Đã xác định được quy luật phân bố và tích lũy Pb và Cd đối với cá rô đồng. Trong đó, ở Pb quy luật này là Mang >> Gan > Thịt cá và ở Cd là Gan >> Mang > Thịt cá. Hàm lượng tích lũy Pb và Cd trong cá thí nghiệm tăng theo nồng độ Pb và Cd trong nước và thời gian phơi nhiễm.

3. Đã tìm thấy quy luật đào thải Pb và Cd đối với cá rô đồng. Trong đó, quy luật đào thải đối với cá đã từng phơi nhiễm Pb là Mang > Gan > Thịt và đối với cá đã từng phơi nhiễm Cd là Gan >> Mang > Thịt.

4. Căng thẳng độc hại của Pb và Cd đối với cá rô đồng là làm gián đoạn hoạt động bình thường của trục HPI dẫn đến tăng sản xuất cortisol, làm suy yếu chức năng tế bào beta tuyến tụy dẫn đến giảm sản xuất insulin và suy yếu chức năng gan dẫn đến phân giải glycogen dự trữ ở gan.

5. Căng thẳng độc hại của Pb và Cd đã làm cho cá rô đồng chậm phát triển trong giai đoạn phơi nhiễm (28 ngày) và chậm phục hồi trong giai đoạn thôi nhiễm (14 ngày).

Qua đó có thể thấy mức độ gây độc của Cadimi so với Chì là mạnh hơn (khoảng 3,16 lần) trên cơ thể cá rô đồng điều này cảnh báo mức độ nguy hiểm của Cadimi ở môi trường. Mặt khác, hàm lượng Pb²⁺ và Cd²⁺ tích lũy tại thịt cá rô đồng là tương đối thấp, đây là một tín hiệu tốt giúp hạn chế rủi ro cho sức khỏe người tiêu dùng khi không may tiêu thụ phải cá bị phơi nhiễm Pb²⁺ hoặc Cd²⁺. Bên cạnh đó kết quả của 03 chỉ tiêu sinh hóa trong nghiên cứu là cortisol, insulin và glycogen đều bị ảnh hưởng nhất định khi có mặt ion Pb hay ion Cd, điều này mở ra một hướng nghiên cứu về việc sử dụng chỉ tiêu sinh lý để đánh giá sơ bộ hoặc chuyên sâu mức độ ô nhiễm của kim loại nặng đến môi trường.

4.2. KIẾN NGHỊ

Từ những kết quả nghiên cứu được có thể thấy kim loại nặng có tác động không nhỏ đến mức độ tích lũy và đào thải ở cá nói riêng và loài thủy sinh nói chung, điều này gây ảnh hưởng lớn đến chuỗi thức ăn của con người. Do đó luận án có những đề xuất sau:

- Nghiên cứu chuyên sâu về cơ chế chuyển dạng của các kim loại nặng (Pb, Cd) trong các mô của cá rô đồng.

- Nghiên cứu ảnh hưởng hiệp đồng của Pb và Cd lên các mô trong cơ thể cá rô đồng và tác động lên chỉ tiêu sinh hóa của cá rô đồng.

- Nghiên cứu ảnh hưởng của quá trình đào thải kim loại nặng (như Pb, Cd, ...) đến hệ nội tiết của cá rô đồng và các loài thủy sản thường được người dân và ngành thủy sản quan tâm.

- Nghiên cứu thử nghiệm các chỉ tiêu sinh học (cortisol, insulin, glucagon, glucose, glycogen, ...) ở một vài loài cá như một công cụ đánh giá và giám sát mức độ ô nhiễm môi trường.

- Điều tra mức độ tích lũy kim loại nặng trong cá rô đồng sống trong môi trường tự nhiên nhằm cảnh báo nguy cơ ô nhiễm kim loại nặng đến chuỗi thức ăn.

- Nghiên cứu sự tích lũy, đào thải của Pb và Cd đối với loài thủy sinh khác, đặc biệt là những loài thường có mặt trong chuỗi thức ăn hoặc các loài có giá trị thương phẩm cao và được ngành thủy sản quan tâm.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

Tạp chí SCIE

1. **Dang Nguyen Nha Khanh**, Ngo Thi Tuong Vy, Tran Ha Phuong, Pham Tuan Nhi, Nguyen Quoc Thang, Do Trung Sy, Nguyen Thi Kim Phuong, “**Effects of Cadmium and Lead on Muscle and Liver Glycogen Levels of Climbing Perch (*Anabas testudineus*)**”, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, Vol.108, pp. 854 – 860, 2022 (H-Index 90,Q2);

2. **D. N. Nha Khanh**, N. T. Tuong Vy, N. Quoc Thang, D. Trung Sy, B. Quang Minh, N. The Anh, D. V. Bao Tran, L. Khue Tu & N. T. Kim Phuong, “**Accumulation and response to stress in climbing perch (*Anabas testudineus*) on exposure to high concentrations of lead and cadmium in water**”, *The European Zoological Journal*, Vol. 89(1), pp. 877 – 887, 2022 (H-Index 47 – Q2).

Hội thảo trong nước

1. **Dang Nguyen Nha Khanh**, Ngo Thi Tuong Vy, Doan Thi Minh Phuong, Nguyen Quoc Thang, Nguyen Thi Kim Phuong, “**A rapid HPLC combined with UV method for the determination of blood insulin and the evaluation of the effect of Pb on insulin secretion in climbing perch (*Anabas testudineus*)**”, *Conference Proceedings of analytica Vietnam 2025*, session 2: Pharmaceutical analysis and Health science, pp. 363 – 371, 2025.

DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hulla J. E., Navarro L., 2014, *Toxicity, Subchronic and Chronic*, in *Encyclopedia of Toxicology (Third Edition)*, Academic Press; Oxford. 626–633.
2. Bá Lê Huy, 2008, *Độc học môi trường cơ bản*, NXB Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh,
3. *Độc tính bán trường diễn là gì? Các nghiên cứu khoa học*. Available from: <https://scholarhub.vn/topic/%C4%91%E1%BB%99c%20t%C3%ADnh%20b%C3%A1n%20tr%C6%B0%E1%BB%9Dng%20di%E1%BB%85n>.
4. Rebecca Fisher David R. Fox , Andrew P. Negri , Joost van Dam , Florita Flores , Darren Koppel, 2023, Methods for estimating no-effect toxicity concentrations in ecotoxicology, *Integrated Environmental Assessment and Management*, 20, 279–293.
5. Michael A. Dorato Jeffery A. Engelhardt, 2005, The no-observed-adverse-effect-level in drug safety evaluations: Use, issues, and definition(s), *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 42, 265–274.
6. *Biomagnification and Bioaccumulation: Definition, Differences, Importance*. Available from: <https://www.careerpower.in/school/biology/difference-between-biomagnification-and-bioaccumulation>.
7. Fuchylo Ulyana, Alharbi Hattan A., 2022, Inflammation of Gill Epithelia in Fish Causes Increased Permeation of Petrogenic Polar Organic Chemicals via Disruption of Tight Junctions, *Environmental Science & Technology*, 56(3), 1820–1829.
8. David A. Wright Pamela Welbourn, 2002, *Environmental Toxicology*, Cambridge University Press,
9. Streit Bruno, 1998, *Bioaccumulation of contaminants in fish*, in *Fish Ecotoxicology*, Birkhäuser Basel; Basel. 353–387.
10. Tang Song, Luo Simin, 2024, Association between blood heavy metal exposure levels and risk of metabolic dysfunction associated fatty liver disease in adults: 2015–2020 NHANES large cross-sectional study, *Frontiers in Public Health*, Volume 12 - 2024.
11. Kumar V. Santhana, Sarkar Dhruba Jyoti, 2025, Utilizing microalgae biofilm for reducing arsenic toxicity on fish grown in contaminated waters: An innovative solution for safer and cleaner aquaculture in arsenic endemic areas, *Aquaculture*, 599, 742121.
12. Daniel Schlenk Malin Celander, Evan Gallagher, Stephen George, Margaret James, Seth Kullman, Peter van den Hurk, and Kristie Willett, 2008, *Biotransformation in Fishes*, Taylor & Francis Group, LLC.
13. Topić Popović Natalija, Čižmek Lara, 2023, Fish liver damage related to the wastewater treatment plant effluents, *Environmental Science and Pollution Research*, 30(17), 48739–48768.
14. Martinez C. B. R.; Nagae, M. Y.; Zaia, C. T. B. V.; Zaia, D. A. M, 2004, Acute morphological and physiological effects of lead in the neotropical fish *Prochilodus lineatus*, *Brazilian Journal of Biology*, 64, 797–807.

15. Jamil Emon F Rohani MF, Sumaiya N, Tuj Jannat MF, Akter Y, Shahjahan M, Abdul Kari Z, Tahiluddin AB, Goh KW, 2023, Bioaccumulation and Bioremediation of Heavy Metals in Fishes-A Review, *Toxics*, 11, 510.
16. Ray Suryapratap Vashishth Rahul, 2024, From water to plate: Reviewing the bioaccumulation of heavy metals in fish and unraveling human health risks in the food chain, *Emerging Contaminants*, 10(4), 100358.
17. Ju-Wook Lee A-Hyun Jo, Yue-Jai Kang, Dain Lee, Cheol-Young Choi, Ju-Chan Kang, Jun-Hwan Kim, 2025, Review of Cadmium Bioaccumulation in Fish Exposed to Cadmium, *Toxics*, 13, 1–16.
18. Lee Ju-Wook, Choi Hoon, 2019, Toxic effects of lead exposure on bioaccumulation, oxidative stress, neurotoxicity, and immune responses in fish: A review, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 68, 101–108.
19. Hananeh Azar Mohammad Forouhar Vajargah, 2023, Investigating the effects of accumulation of lead and cadmium metals in fish and its impact on human health, *Journal of Aquaculture & Marine Biology*, 12, 209–213.
20. Zhong Bin, Wang Xiangqin, 2017, A mechanism underlies fish GRP78 protection against Pb²⁺ toxicity, *Fish & Shellfish Immunology*, 66, 185–188.
21. Rice Clinton, Ghorai Jugal K., 2011, Developmental lead exposure causes startle response deficits in zebrafish, *Aquatic Toxicology*, 105(3), 600–608.
22. Kim Jun-Hwan Kang Ju-Chan, 2015, The lead accumulation and hematological findings in juvenile rock fish *Sebastes schlegelii* exposed to the dietary lead (II) concentrations, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 115, 33–39.
23. Hwang In-Ki, Kim Kyeong-Wook, 2016, Toxic effects and depuration after the dietary lead(II) exposure on the bioaccumulation and hematological parameters in starry flounder (*Platichthys stellatus*), *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 45, 328–333.
24. Kim Jun-Hwan Kang Ju-Chan, 2014, The selenium accumulation and its effect on growth, and haematological parameters in red sea bream, *Pagrus major*, exposed to waterborne selenium, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 104, 96–102.
25. Khan Zaman, Elahi Amina, 2022, Cadmium sources, toxicity, resistance and removal by microorganisms-A potential strategy for cadmium eradication, *Journal of Saudi Chemical Society*, 26(6), 101569.
26. Zahran Eman, Mamdouh Al-Zahraa, 2025, The impact of heavy metal pollution: bioaccumulation, oxidative stress, and histopathological alterations in fish across diverse habitats, *Aquaculture International*, 33(5), 371.
27. Chang Xulu, Chen Yongyan, 2021, Amelioration of Cd-induced bioaccumulation, oxidative stress and immune damage by probiotic *Bacillus coagulans* in common carp (*Cyprinus carpio* L.), *Aquaculture Reports*, 20, 100678.
28. Lee Deok-Chan, Choi Young Jae, 2022, Toxic effects of waterborne cadmium exposure on hematological parameters, oxidative stress, neurotoxicity, and heat

- shock protein 70 in juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, *Fish & Shellfish Immunology*, 122, 476–483.
29. Nordberg MonicaNordberg Gunnar F. *Metallothionein and Cadmium Toxicology—Historical Review and Commentary*. *Biomolecules*, 2022. **12**, DOI: 10.3390/biom12030360.
 30. Kalamarz-Kubiak Hanna, 2017, *Cortisol in Correlation to Other Indicators of Fish Welfare, in Corticosteroids*, IntechOpen; Rijeka.
 31. Boulton Kay, *Coping with stress: personality, life history and social dominance in swordtail fishes, Xiphophorus sp.* 2014.
 32. Wilcox G., 2005, Insulin and insulin resistance, *Clin Biochem Rev*, 26(2), 19–39.
 33. Jiaojiao Yu, Sun Caifeng, 2018, Applying emerging technologies to improve diabetes treatment, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 108, 1225–1236.
 34. Liang Wang Qinghua Liua, Mengmeng Wang, Yan Du, Xinle Tan, Bingju Xu, Ut Cheung, Enpeng Li, Robert G. Gilbert, Daoquan Tang, 2020, Effects of fasting on liver glycogen structure in rats with type 2 diabetes, *Carbohydrate Polymers*, 237, 116144.
 35. *Glycogen*. 2019; Available from: <https://biologydictionary.net/glycogen/>.
 36. Khan Manon Md Rased, Alam Asraful, 2023, Intraspecific phenotypic differences in climbing perch *Anabas testudineus* (Bloch, 1792) populations may be linked to habitat adaptations, *Heliyon*, 9(7), e17685.
 37. Ánh Nguyễn. *Cá rô đồng - Tìm hiểu về loài cá đồng quê trứ danh*. 2025; Available from: <https://dongvat.edu.vn/ca-ro-dong>.
 38. Nguyễn Văn Khánh Trần Duy Vinh, Lê Hà Yến Nhi, 2014, Hàm lượng kim loại nặng (Hg, Cd, Pb, Cr) trong các loài động vật hai mảnh vỏ ở một số cửa sông tại khu vực miền Trung, Việt Nam, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Biển*, 14, 385–391.
 39. Phạm Kim Đăng Bùi Thị Bích, Vũ Đức Lợi, 2015, Sự tích lũy một số kim loại trong cá chép (*Cyprinus carpio*) nuôi tại trại nuôi trồng thủy sản, Học viện nông nghiệp Việt Nam, *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 13, 394–405.
 40. 2020, Khảo sát ô nhiễm kim loại nặng trong các loài ngao và hào nuôi tại Vân Đồn - Quảng Ninh, miền Bắc Việt Nam, *Tạp chí phân tích Hóa, Lý và Sinh học* 25.
 41. Vo T. V., Tran, Y. T., & Hoang, A. V., 2020, Assessment of heavy metals content and consumer health risk to *Siganus fuscescens* (Houttuyn, 1782) from Quang Binh province, *The Journal of Agriculture and Development*, 19, 46–54.
 42. Đỗ Thị Hiền Lê Bảo Linh, Trịnh Thị Thủy, Trịnh Thị Thắm, 2024, Đánh giá mức độ tích lũy một số kim loại nặng trong trầm tích mặt tại một số cửa sông ven biển tỉnh Thái Bình, *Tạp chí Môi trường*, IV/2024, 37–34.
 43. Đàm Minh Anh Phạm Thị Phương, Trần Ngọc Sơn, Trịnh Đăng Mậu, Nguyễn Khắc Hưng, 2024, Nghiên cứu hiện trạng kim loại nặng tại một số cửa sông thuộc tỉnh Quảng Nam và TP. Đà Nẵng, *Tạp chí Môi trường*, 3/2024, 7–10.

44. Tariang Kermi-u, Ramanujam Sunkam N., 2019, Effect of arsenic (As) and lead (Pb) on glycogen content and on the activities of selected enzymes involved in carbohydrate metabolism in freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis*, *International Aquatic Research*, 11(3), 253–266.
45. Gopi Narayanan, Vijayakumar Sekar, 2019, Chronic exposure of *Oreochromis niloticus* to sub-lethal copper concentrations: Effects on growth, antioxidant, non-enzymatic antioxidant, oxidative stress and non-specific immune responses, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 55, 170–179.
46. Botwe Benjamin O., 2021, Heavy metal concentrations in five fish species from the Gulf of Guinea and their human health implications, *Regional Studies in Marine Science*, 44, 101763.
47. Ullah Sana, Li Zhongqiu, 2021, Heavy metals bioaccumulation and subsequent multiple biomarkers based appraisal of toxicity in the critically endangered *Tor putitora*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 228, 113032.
48. Sonia Aslam Ali Muhammad Yousafzai & Aleena Javed, 2022, Bioaccumulation of Hexavalent Chromium in Commercially Edible Fish Grass Carp, *Ctenopharyngodon idella*, *Sains Malaysiana*, 51, 2757–2762.
49. Zhang Jianlu, Zhu Mingzhen *The Combined Use of Copper Sulfate and Trichlorfon Exerts Stronger Toxicity on the Liver of Zebrafish*. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023. **24**, DOI: 10.3390/ijms241311203.
50. Habib Syed Sikandar, Maqaddas Sawera, 2024, Evaluation of lead exposure effects on tissue accumulation, behavior, morphological and hemato-biochemical changes in common carp, *Cyprinus carpio*, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 86, 127523.
51. Yuichi Iwasaki Tomoko Oguri, Kazutoshi Ueda, Kentaro Morita, 2025, Significant metal accumulation in fish in a metal-contaminated river without detectable effects on fish and macroinvertebrate communities, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 44, 1228–1234.
52. J. G. Nickum Chair, H. L. Bart, Jr, P. R. Bowser, I. E. Greer, C. Hubbs, J. A. Jenkins, J. R. MacMillan, J. W. Rachlin, J. D. Rose, P. W. Sorensen, and J. R. Tomasso, *Guidelines for the Use of Fishes in Research*, A.I.o.F.R.B. American Fisheries Society, American Society of Ichthyologists and Herpetologists, Editor. 2004.
53. Long Dương Nhật, 2003, *Giáo trình Kỹ thuật nuôi thủy sản nước ngọt*, NXB Đại học Cần Thơ,
54. Nguyen Quoc Thang Bui The Huy, Le Van Tan, Nguyen Thi Kim Phuong, 2017, Lead and Arsenic Accumulation and Its Effects on Plasma Cortisol Levels in *Oreochromis sp*, *Bull Environ Contam Toxicol*, 99, 187–193.
55. Babiker A. Elamin Abdulmajeed Al-Maleki, Mohammad A. Ismael, Mohammed Akli Ayoub, 2014, Purification and functional characterization of pancreatic insulin from camel (*Camelus dromedarius*), *Saudi Journal of Biological Sciences*, 21, 574–581.

56. Krisman Clara R., 1962, A method for the colorimetric estimation of glycogen with Iodine, *Analytical Biochemistry*, 4, 17–23.
57. Gupta V.B., Shrivastava, A., 2011, Methods for the Determination of Limit of Detection and Limit of Quantitation of the Analytical Methods, *Chronicles of Young Scientist*, 2, 21–25.
58. Eduardo Kinio Sugawara Luciane Maria Ribeiro Neto, Ieda Terezinha do Nascimento Verreschi, 2010, Determination of free urinary cortisol on cushing's syndrome using reversed-phase high performance liquid chromatography *Química Nova*, 33, 447–450.
59. Caldarell A. M., E. George, Reardon and Ernesto Canalis, 1982, Analysis for Cortisol in Serum by Liquid Chromatography, *Clinical Chemistry*, 28(3), 538–543.
60. Sugawara E. K., L. M. R. Neto e Ieda Terezinha do Nascimento Verreschi, 2010, Determination of free urinary cortisol in cushing's syndrome using reversed-phase high performance liquid chromatography, *Química Nova*, 32(2), 447–450.
61. Taylor R.L., D. Machacek, R. J. Singh, 2002, Validation of a high-throughput liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for urinary cortisol and cortisone, *Clinical Chemistry*, 48, 1511–1519.
62. Furuta T., C. Mori, A. Suzuki, H. Shibasaki, A. Yokokawa, Y. Kasuya, 2004, Simultaneous determination of 6- beta-hydroxycortisol and cortisol in human urine by liquid chromatography with ultraviolet absorbance detection for phenotyping the CYP3A activity determined by the cortisol 6-beta-hydroxylation clearance, *Journal Chromatography B*, 801(2), 165–171.
63. Hu Z., Q. Gong, X. Hu, L. Wang, Y. Cao, W. Cao, Q. Yu, Z. Cheng, 2005, Simultaneous determination of 6-beta-hydroxycortisol and cortisol in human urine and plasma by liquid chromatography with ultraviolet absorbance detection for phenotyping the CYP3A activity, *Journal Chromatography B*, 826(1), 238–243.
64. Zhang Y., H. L. Wu, Y. J. Ding, A. L. Xia, H. Cui, R. Q. Yu, 2006, Simultaneous determination of cortisol and prednisolone in body fluids by using HPLC-DAD coupled with second-order calibration based on alternating trilinear decomposition, *Journal Chromatography B*, 840(2), 116–123.
65. Nassar A. E., N. Varshney, T. Getek, L. Cheng, 2001, Quantitative analysis of hydrocortisone in human urine using a high-performance liquid chromatographic-tandem mass spectrometric-atmospheric-pressure chemical ionization method, *Journal Chromatography, Science*, 39, 59–64.
66. Emami Jaber, Haghighi, Maryam, Rostami, Mahboobeh, Minaiyan, Mohsen, 2022, Development and validation of a new robust RP-HPLC method for simultaneous quantitation of insulin and pramlintide in non-invasive and smart glucose-responsive microparticles, *Research in Pharmaceutical Sciences*, 17, 594–611.

67. Moslemi Payam, Najafabadi Abdolhossein Rouholamini, 2003, A rapid and sensitive method for simultaneous determination of insulin and A21-desamido insulin by high-performance liquid chromatography, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 33(1), 45–51.
68. Najjar Ahmad, Alawi Mahmoud, 2014, A Rapid, Isocratic HPLC Method for Determination of Insulin and Its Degradation Product, *Advances in Pharmaceutics*, 2014(1), 749823.
69. L.W. Bennett R.W. Keirs, E.D. Peebles, P.D. Gerard 2007, Methodologies of Tissue Preservation and Analysis of the Glycogen Content of the Broiler Chick Liver, *Poultry Science*, 86, 2653–2665.
70. Hak-Jae Kim Shahid Mahboob, Ponnuswamy Viayaraghavan, Khalid Abdullah Al-Ghanim, Fahad Al-Misned Young Ock Kim, Zubair Ahmed, 2020, Determination of toxic effects of lead acetate on different sizes of zebra fish (*Danio rerio*) in soft and hard water, *Journal of King Saud University – Science*, 1390–1394.
71. Min-Jung Kim Kyung Mi Lee, Sung-Pyo Hur, Cheol Young Choi, Jun-Hwan Kim, 2025, Toxic Effects of Waterborne Pb Exposure on Hematological Parameters and Plasma Components in Starry Flounder, *Platichthys stellatus*, *Animals*, 15, 932.
72. Vardi Venkateswarlu Chenji Venkatrayulu, 2020, Bioaccumulation of heavy metal lead (Pb) in different tissues of brackish water fish *Mugil cephalus* (Linnaeus, 1758), *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 8, 1–5.
73. Saili Paul Anuradha Mandal, Piyasi Bhattacharjee, Shatarupa Chakraborty, Rituparna Paul, Biplab Kumar Mukhopadhyay, 2019, Evaluation of water quality and toxicity after exposure of lead nitrate in fresh water fish, major source of water pollution, *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 45, 345–351.
74. Thăng Nguyễn Quốc, *Nghiên cứu quá trình tích lũy và đào thải kim loại nặng (As, Cd, Pb) và khả năng ảnh hưởng của chúng đến hàm lượng cortisol trong cá diêu hồng (Oreochromis sp.)*, in *Hóa học*. 2017, Học viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.
75. Hesni Majid Askari, Dadolahi-Sohrab Ali. *Study the Acute Toxicity of Lead Nitrate Metal Salt on Behavioral Changes of the Milkfish (Chanos chanos)*. 2011.
76. Saha N.C.; Chatterjee, A.; Banerjee, P.; Bhattacharya, R.; Sadhu, A.; Pastorino, P.; Saha, S, 2024, Toxic Effects of Lead Exposure on Freshwater Climbing Perch, *Anabas testudineus*, and Bioremediation Using *Ocimum sanctum* Leaf Powder, *Toxics*, 12, 927.
77. Lei Zhao Ya-Guang Zheng, Yong-Hui Feng, Mu-Yang Li, Gui-Qin Wang, Yan-Fen Ma, 2020, Toxic effects of waterborne lead (Pb) on bioaccumulation, serum biochemistry, oxidative stress and heat shock protein-related genes expression in *Channa argus*, *Chemosphere*, 261, 127714.

78. McDonald Scott D. Reid and D. G., 1991, Metal Binding Activity of the Gills of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48, 1061–1068.
79. Tanhan Phanwimol, Kanjana Imsilp, 2023, Oxidative response to Cd and Pb accumulation in coastal fishes of Pattani Bay, *Italian Journal of Animal Science*, 22(1), 148–156.
80. Sivakumar Rajeshkumar Xiaoyu Li, 2018, Bioaccumulation of heavy metals in fish species from the Meiliang Bay, Taihu Lake, China, *Toxicology Reports*, 5, 288–295.
81. Mustafa Canli Gülüzar Atli, 2003, The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species, *Environmental Pollution*, 121, 129–136.
82. Kh. M. El-Moselhy A.I. Othman, H. Abd El-Azem, M.E.A. El-Metwally 2014, Bioaccumulation of heavy metals in some tissues of fish in the Red Sea, Egypt, *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 1, 97–105.
83. Katarina Jovičić Dragica M. Nikolić, Željka Višnjić-Jeftić, Vesna Đikanović, Stefan Skorić, Srđan M. Stefanović, Mirjana Lenhardt, Aleksandar Hegediš, Jasmina Krpo-Ćetković & Ivan Jarić, 2015, Mapping differential elemental accumulation in fish tissues: assessment of metal and trace element concentrations in wels catfish (*Silurus glanis*) from the Danube River by ICP-MS, *Environmental Science and Pollution Research* 22, 3820–3827.
84. Shinn C., Dauba F., 2009, Temporal variation of heavy metal contamination in fish of the river lot in southern France, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(7), 1957–1965.
85. Ana Rosa Linde Dominik Klein, Karl Heinz Summer, 2005, Phenomenon of Hepatic Overload of Copper in *Mugil cephalus*: Role of Metallothionein and Patterns of Copper Cellular Distribution, *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 97, 230–235.
86. Ivan Jarić Željka Višnjić-Jeftić, Gorčin Cvijanović, Zoran Gačić, Ljubinko Jovanović, Stefan Skorić, Mirjana Lenhardt 2011, Determination of differential heavy metal and trace element accumulation in liver, gills, intestine and muscle of sterlet (*Acipenser ruthenus*) from the Danube River in Serbia by ICP-OES, *Microchemical Journal*, 98, 77–81.
87. Ghada Y. Zaghloul Hoda A. Eissa, Amira Y. Zaghloul, Mahmoud S. Kelany, Mohamed A. Hamed, Khalid M. El Moselhy, 2024, Impact of some heavy metal accumulation in different organs on fish quality from Bardawil Lake and human health risks assessment, *Geochemical Transactions*, 25.
88. PJ Kotze, *Aspects of water quality, metal contamination of sediment and fish in the Oilfants River, Mpumalanga*. 1997, Rand African University South Africa.
89. Kah Hin Low Sharifuddin Md. Zain & Mhd. Radzi Abas 2011, Evaluation of Metal Concentrations in Red Tilapia (*Oreochromis spp*) from Three Sampling Sites in Jelebu, Malaysia Using Principal Component Analysis, *Food Analytical Methods*, 4, 276–285.

90. Allen Paul, 1993, Accumulation profiles of lead and the influence of Cadmium and Mercury in *Oreochromis aureus* (Steindachner) during Chronic exposure, *Toxicological & Environmental Chemistry*, 44, 101–112.
91. S. J. Tulasi P. U. M. Reddy, J. V. Ramanarao, 1992, Accumulation of Lead and Effects on Total Lipids and Lipid Derivatives in the Freshwater Fish *Anabas testudineus* Bloch), *Ecotoxicology and Environmental safety*, 23, 33–38.
92. Wong C. K., Wong P. P. K., 2001, Heavy Metal Concentrations in Marine Fishes Collected from Fish Culture Sites in Hong Kong, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 40(1), 60–69.
93. Altındağ A.Yiğit S., 2005, Assessment of heavy metal concentrations in the food web of lake Beyşehir, Turkey, *Chemosphere*, 60(4), 552–556.
94. Karadede-Akin H.Unlü E., 2007, Heavy metal concentrations in water, sediment, fish and some benthic organisms from tigris river, Turkey, *Environmental monitoring and assessment*, 131(1-3), 323–337.
95. Evans David H., Piermarini Peter M., 2005, The Multifunctional Fish Gill: Dominant Site of Gas Exchange, Osmoregulation, Acid-Base Regulation, and Excretion of Nitrogenous Waste, *Physiological Reviews*, 85(1), 97–177.
96. Sumi N., Chitra, K.C, 2019, Impact of fullerene C60 on behavioral and hematological changes in the freshwater fish, *Anabas testudineus* (Bloch, 1792), *Applied Nanoscience*, 9, 2147–2167.
97. Nayak S., Patnaik, L, 2023, Histopathological and Biochemical Changes in the Gills of *Anabas testudineus* on Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Naphthalene, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 195, 2414–2431.
98. Patnaik L., Nayak, S, 2025, Histological Alterations in Liver of *Anabas testudineus* on Short Term Exposure to Naphthalene, Polycyclic Aromatic Hydrocarbon, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 114, 91.
99. Ganesh C.B., 2021, The stress – Reproductive axis in fish: The involvement of functional neuroanatomical systems in the brain, *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 112, 101904.
100. James N. Fryer & Lederis, K, 1986, Control of Corticotropin Secretion in Teleost Fishes, *American Zoologist*, 26, 1017–1026.
101. Mommsen T.P., Vijayan, M.M. & Moon, T.W, 1999, Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation, *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 9, 211–268.
102. T G Pottinger E Mosuwe, 1994, The corticosteroidogenic response of brown and rainbow trout alevins and fry to environmental stress during a "critical period", *General and Comparative Endocrinology*, 95, 350–362.
103. A. Hontela, 1997, Endocrine and physiological responses of fish to xenobiotics: Role of glucocorticosteroid hormones, *Reviews in Toxicology*, 1, 1–46.
104. Neelakanteswar Aluru Even H Jorgensen, Alec G Maule, Mathilakath M Vijayan, 2004, PCB disruption of the hypothalamus-pituitary-interrenal axis involves brain glucocorticoid receptor downregulation in anadromous Arctic

- charr, *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 287, 787–793.
105. Bonga S E Wendelaar, 1997, The stress response in fish, *Physiological reviews*, 77, 591–625.
 106. Alice Hontela Joseph B. Rasmussen, Céline Audet & Gaston Chevalier, 1992, Impaired cortisol stress response in fish from environments polluted by PAHs, PCBs, and mercury, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 22, 278–283.
 107. Pottinger Tom G., 2017, Modulation of the stress response in wild fish is associated with variation in dissolved nitrate and nitrite, *Environmental Pollution*, 225, 550–558.
 108. Julie R. Marentette Stephanie Tong, Sigal Balshine, 2012, The cortisol stress response in male round goby (*Neogobius melanostomus*): effects of living in polluted environments?, *Environmental Biology of Fishes* 96, 723–733.
 109. Carol Jones Christopher Gwenin, 2020, Cortisol level dysregulation and its prevalence - Is it nature's alarm clock, *Physiological Reports*, 8, 14644.
 110. Leila Soledade Lemos Leo Moreira Angarica, Rachel Ann Hauser-Davis, Natalia Quinete, 2023, Cortisol as a Stress Indicator in Fish: Sampling Methods, Analytical Techniques, and Organic Pollutant Exposure Assessments, 20, 6237.
 111. Shen Yixiao, Prinyawiwatkul Witoon, 2019, Insulin: a review of analytical methods, *Analyst*, 144(14), 4139–4148.
 112. Diana Putri Renitasari Andi Kurniawan, Ardana Kurniaji, 2021, Blood glucose of tilapia fish *Oreochromis mossambica* as a water bioindicator in the downstream of Brantas Waters, East Java *AAFL Bioflux*, 14, 2040–2049.
 113. Porte D Jr Robertson RP, 1973, Control of insulin secretion by catecholamines, stress, and the sympathetic nervous system, *Federation Proceedings*, 32, 1792–1796.
 114. R. James K. Sampath, S. Alagurathnam, 1996, Effects of Lead on Respiratory Enzyme Activity, Glycogen and Blood Sugar Levels of the Teleost *Oreochromis mossambicus* (Peters) during Accumulation and Depuration, *Asian Fisheries Science*, 9, 87–100.
 115. Maruthi Y.Rao M. V., 2000, Effect of distillery effluent on biochemical parameters of fish, *Channa punctatus* (Bloch), *Environmental Pollution*, 7, 111–113.
 116. Ricard A. C., Daniel C., 1998, Effects of Subchronic Exposure to Cadmium Chloride on Endocrine and Metabolic Functions in Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 34(4), 377–381.
 117. Srivastava R.Srivastava N., 2008, Changes in nutritive value of fish, *Channa punctatus* after chronic exposure to zinc, *Journal of environmental biology*, 29(3), 299–302.
 118. James R., Sampath K., 1996, Effects of Lead on Respiratory Enzyme Activity, Glycogen and Blood Sugar Levels of the Teleost *Oreochromis mossambicus*

- (Peters) during Accumulation and Depuration, *Asian fisheries science*, 9, 87–100.
119. Aruljothi B. Sivanandan M. and Sankar Samipillai S., 1996, Effect of arsenic on protein and carbohydrate metabolism of fresh water fish, *labeo rohita*, *International Journal of Current Research*, 95(5), 1332–1335.
 120. Galina I. Izvekova Evgeny I. Izvekov, 2013, *Muscle and Liver glycogen in helminth-infected fish*, in *Glycogen: Structure, Functions in the Body and Role in Disease*, Nova Science Publishers, Inc. 81–108.
 121. Dai Yafan, Shen Yubang, 2024, Glycolysis and gluconeogenesis are involved of glucose metabolism adaptation during fasting and re-feeding in black carp (*Mylopharyngodon piceus*), *Aquaculture and Fisheries*, 9(2), 226–233.
 122. Bediicicik Kenan Engin, 2005, The Effects of Cadmium on Levels of Glucose in Serum and Glycogen Reserves in the Liver and Muscle Tissues of *Cyprinus carpio* (L., 1758), *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 29, 113–117.
 123. Tewari S Bajpai S, Tripathi M, 2019, Effect of cadmium on glycogen content in muscle, liver, gill and kidney tissues of freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch), *Journal of Applied and Natural Science*, 11, 575–580.
 124. Karataş Tayfun, 2018, Effect of Short-Term Starvation on Serum Metabolites, Antioxidant Enzymes and Endogenous Reserves of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, *Pakistan Journal of Zoology*, 50, 1723–1729.
 125. Kalay M., Canli, M, 2000, Elimination of essential (Cu, Zn) and non-essential (Cd, Pb) metals from tissues of a freshwater fish *Tilapia zilli*, *Turkish Journal of Zoology* 24, 429–436.
 126. F. Kargin H. Y. Çoğun, 1999, Metal Interactions During Accumulation and Elimination of Zinc and Cadmium in Tissues of the Freshwater Fish *Tilapia nilotica*, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 63, 511–519.
 127. Sadam Hussain Junejo Jameel Ahmed Baig, Tasneem Gul Kazi, Hassan Imran Afridi, 2019, Cadmium and Lead Hazardous Impact Assessment of Pond Fish Species, *Biological Trace Element Research*, 191, 502–511.
 128. Mani Ramalingam, Meena Boominathan. *Determination of LC50 of Cadmium Chloride in marine Catfish Arius*. 2013.
 129. Asim Ullah Hameed Ur Rehman, Waqar Saeed, Muhammad Faheem Quraish, Zakir Ullah, Haroon, Riaz Ur Rehman, Sajid Awais, Raqeebullah, Waqar Ahmad and Kausar Saeed, 2016, Determination of 96-hr LC50 value of cadmium for a fish, *Labeo rohita*, *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4, 380–382.
 130. Saikat Roy Debasish Karmakar, Sarmila Pal, 2022, Acute Toxicity Bioassay and Determination of LC₅₀ of Cadmium Chloride in *Trichogaster (Colisa) fasciata*, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 194, 3890–3900.
 131. Md Golam Ambiya Sumit Nath, Salma Haque, Kausik Mondal, 2024, Studies on the Effect of Cadmium Chloride on the Behavioral and Histopathological

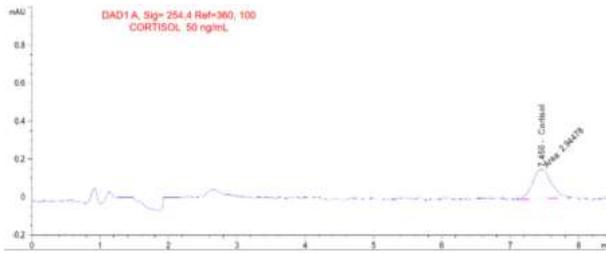
- Changes in *Cyprinus carpio* : A Short-Term Bioassay, *Environment and Ecology*, 42, 790–800.
132. Rangsayatorn N., Kruatrachue M., 2004, Ultrastructural changes in various organs of the fish *Puntius gonionotus* fed cadmium-enriched cyanobacteria, *Environmental Toxicology*, 19(6), 585–593.
 133. Baldisserotto M.J. Chowdhury, Chris M. Wood, 2005, Effects of dietary calcium and cadmium on cadmium accumulation, calcium and cadmium uptake from the water, and their interactions in juvenile rainbow trout, *Aquatic Toxicology*, 72, 99–117.
 134. Seong-Gil Kim Jung-Hoon Jee, Ju-Chan Kang, 2004, Cadmium accumulation and elimination in tissues of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus* after sub-chronic cadmium exposure, *Environmental Pollution*, 127, 117–123.
 135. Kargın F.Çoğun H. Y., 1999, Metal Interactions During Accumulation and Elimination of Zinc and Cadmium in Tissues of the Freshwater Fish *Tilapia nilotica*, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 63(4), 511–519.
 136. Dural Meltem, Göksu M. Ziya Lugal, 2007, Investigation of heavy metal levels in economically important fish species captured from the Tuzla lagoon, *Food Chemistry*, 102(1), 415–421.
 137. A. A. Bawuro R. B. Voegborlo, A. A. Adimado, 2018, Bioaccumulation of Heavy Metals in Some Tissues of Fish in Lake Geriyo, Adamawa State, Nigeria, *Environmental and Public Health*, 2018, 1854892.
 138. Rangsayatorn N., Kruatrachue, M., Pokethitiyook, P., Upatham, E.S., Lanza, G.R. and Singhakaew, S, 2004, Ultrastructural changes in various organs of the fish *Puntius gonionotus* fed cadmium-enriched cyanobacteria, *Environ. Toxicol.*, 19, 585–593.
 139. Rahman Z., Ahmad, I. and Rashid, I., 2018, Effects of Cadmium Exposure on Growth and Survival and Accumulation in Various Organs of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus), *Journal of Agriculture and Aquaculture*, 1.
 140. Linde A. R., Klein D., 2005, Phenomenon of hepatic overload of copper in *Mugil cephalus*: role of metallothionein and patterns of copper cellular distribution, *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 97(4), 230–235.
 141. Jarić Ivan, Visnjic Zeljka, 2011, Determination of differential heavy metal and trace element accumulation in liver, gills, intestine and muscle of sterlet (*Acipenser ruthenus*) from the Danube River in Serbia by ICP-OES, *Microchemical Journal*, 98, 77–81.
 142. Amiard J. C., Amiard-Triquet C., 2006, Metallothioneins in aquatic invertebrates: their role in metal detoxification and their use as biomarkers, *Aquatic toxicology*, 76(2), 160–202.
 143. Canli MustafaAtli Gülüzar, 2003, The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species, *Environmental Pollution*, 121(1), 129–136.

144. El-Moselhy Khalid, Othman Azza, 2014, Bioaccumulation of heavy metals in some tissues of fish in the Red Sea, Egypt, *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 1.
145. Jovičić K., Nikolić D. M., 2015, Mapping differential elemental accumulation in fish tissues: assessment of metal and trace element concentrations in wels catfish (*Silurus glanis*) from the Danube River by ICP-MS, *Environmental science and pollution research international*, 22(5), 3820–3827.
146. Agah H., Leermakers M., 2009, Accumulation of trace metals in the muscle and liver tissues of five fish species from the Persian Gulf, *Environmental monitoring and assessment*, 157(1-4), 499–514.
147. Randall D.J. Brauner C.J., Thurston R.V., Neuman J.F., 1996, Water chemistry at the gill surfaces of fish and the uptake of xenobiotics. *Toxicology of Aquatic Pollution: Physiological, Molecular and Cellular Approaches*, Cambridge University Press, 1–16.
148. Claiborne J. B., Edwards S. L., 2002, Acid-base regulation in fishes: cellular and molecular mechanisms, *The Journal of experimental zoology*, 293(3), 302–319.
149. Burcu Yesilbudak Cahit Erdem, 2014, Cadmium Accumulation in Gill, Liver, Kidney and Muscle Tissues of Common Carp, *Cyprinus carpio*, and Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 92, 546–550.
150. Jian Li Yulian Yan, Xiaojun Xie, 2018, Tissue-Specific Antioxidative Responses and Cadmium Accumulation in *Silurus meridionalis* Under Chronic Waterborne Cadmium Exposure, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 100, 485–491.
151. Wei Luo Yibo Zhang, Shoudong Zhang, Kunpu Sun, Ke Li, Feifei He, Jixian Huang, Shiyong Yang, Zongjun Du, 2024, Cadmium accumulation characteristics and dietary risks in three aquatic animals with different habitat characteristics in a rice-fish co-culture system, *Aquaculture Reports*, 39, 102417.
152. Frank Thévenod Wing-Kee Lee, *Toxicology of Cadmium and Its Damage to Mammalian Organs*, Springer Dordrecht Heidelberg New York London.
153. T.N.D. Pham J.A. Ségui, C. Fortin, P.G.C. Campbell, F. Denizeau, C. Jumarie, 2004, Cadmium Uptake in Rat Hepatocytes in Relation to Speciation and to Complexation With Metallothionein and Albumin, *Journal of Cellular Physiology*, 201, 320–330.
154. Yinai Liu Qianqian Chen, Yaoqi Li, Liuliu Bi, Libo Jin, Renyi Peng, 2022, Toxic Effects of Cadmium on Fish, *Toxics*, 10, 622.
155. A.J. Dangre S. Manning, M. Brouwer, 2010, Effects of cadmium on hypoxia-induced expression of hemoglobin and erythropoietin in larval sheepshead minnow, *Cyprinodon variegatus*, *Aquatic Toxicology*, 99, 168–175.

156. Gill T. S., Leitner G., 1993, Response of plasma cortisol to environmental cadmium in the eel, *Anguilla rostrata* LeSueur, *Comparative biochemistry and physiology. C, Comparative pharmacology and toxicology*, 104(3), 489–495.
157. Pelgrom S., Lock R., 1995, Effects of combined waterborne Cd and Cu exposures on ionic composition and plasma cortisol in tilapia, *Oreochromis mossambicus*, *Comparative Biochemistry Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology Endocrinology*, 111, 227–235.
158. A. C. Ricard C. Daniel, P. Anderson & A. Hontela 1998, Effects of Subchronic Exposure to Cadmium Chloride on Endocrine and Metabolic Functions in Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 34, 377–381.
159. Nguyen Quoc Thang Nguyen Thi Kim Phuong, Le Van Tan, 2017, Endocrine stress response in *Oreochromis* sp. from exposure to waterborne cadmium: the plasma cortisol analysis, *Toxicological & Environmental Chemistry* 99, 285–293.
160. Aldoghachi Mohammed A. Jasim, 2022, Effect of water-borne cadmium toxicity on some biochemical parameters and histopathological alterations in common carp, *Cyprinus carpio*, *Iranian Journal of Ichthyology*, 9, 205–210.
161. Z.C. Dang M.H.G. Berntssen, A.K. Lundebye, G. Flik, S.E. Wendelaar Bonga, R.A.C. Lock, 2001, Metallothionein and cortisol receptor expression in gills of Atlantic salmon, *Salmo salar*, exposed to dietary cadmium, *Aquatic Toxicology*, 53, 91–101.
162. Hiller-Sturmhöfel S.Bartke A., 1998, The endocrine system: an overview, *Alcohol health and research world*, 22(3), 153–164.
163. Macirella R., Guardia A., 2016, Effects of Two Sublethal Concentrations of Mercury Chloride on the Morphology and Metallothionein Activity in the Liver of Zebrafish (*Danio rerio*), *International journal of molecular sciences*, 17(3), 361.
164. Yu-Siang Lin Shu-Chuan Tsai, Hui-Chen Lin, Chung-Der Hsiao, Su Mei Wu, 2011, Changes of glycogen metabolism in the gills and hepatic tissue of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) during short-term Cd exposure, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 154, 296–304.
165. Jensen R., Nielsen J., 2020, Inhibition of glycogenolysis prolongs action potential repriming period and impairs muscle function in rat skeletal muscle, *Journal of physiology*, 598(4), 789–803.

PHỤ LỤC

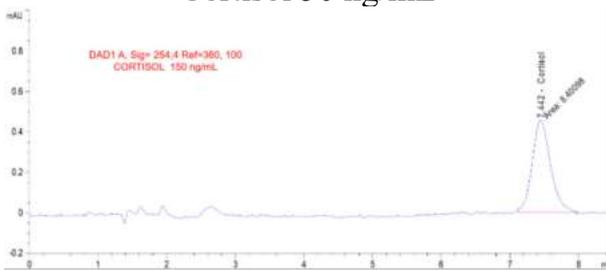
Phụ lục 1. Sắc ký đồ các mẫu cortisol chuẩn từ 50ng/mL đến 250ng/mL



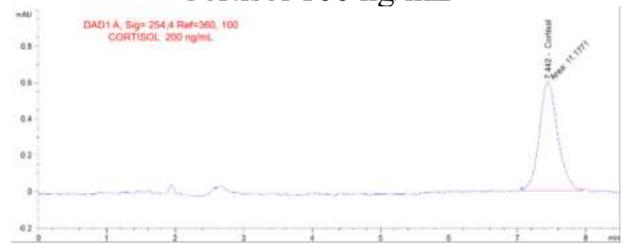
Cortisol 50 ng/mL



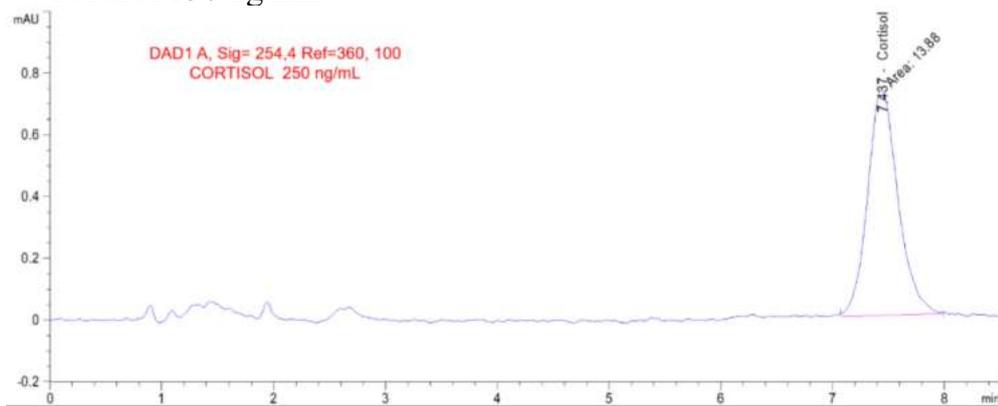
Cortisol 100 ng/mL



Cortisol 150 ng/mL



Cortisol 200 ng/mL



Cortisol 250 ng/mL

Phụ lục 2. Thông số xác định phương trình hồi quy của cortisol

		Value	Standard Error
B	Intercept	0.05246	0.03983
	Slope	0.05547	2.63108E-4

Statistics

	B
Number of Points	6
Degrees of Freedom	4
Residual Sum of Squares	0.01211
Pearson's r	0.99996
Adj. R-Square	0.99989

Summary

	Intercept		Slope		Statistics
	Value	Standard Error	Value	Standard Error	Adj. R-Square
B	0.05246	0.03983	0.05547	2.63108E-4	0.99989

ANOVA

		DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
B	Model	1	134.63193	134.63193	44453.0573	3.03587E-9
	Error	4	0.01211	0.00303		
	Total	5	134.64405			

Phụ lục 3. Khảo sát sai số của đường chuẩn cortisol

<i>Nồng độ (ng/mL)</i>	<i>Chuẩn</i>	<i>Diện tích đỉnh</i>	<i>Diện tích trung bình (\bar{X})</i>	<i>Độ lệch chuẩn (SD)</i>	<i>RSD (%)</i>
50	Chuẩn 1	2,891	2,926	0,030	1,03
	Chuẩn 2	2,942			
	Chuẩn 3	2,944			
100	Chuẩn 1	5,591	5,605	0,032	0,57
	Chuẩn 2	5,582			
	Chuẩn 3	5,641			
150	Chuẩn 1	8,323	8,332	0,055	0,66
	Chuẩn 2	8,391			
	Chuẩn 3	8,282			
200	Chuẩn 1	11,151	11,179	0,075	0,67
	Chuẩn 2	11,123			
	Chuẩn 3	11,264			
250	Chuẩn 1	13,941	13,855	0,085	0,61
	Chuẩn 2	13,852			
	Chuẩn 3	13,771			

Với $SD^2 = \sum_{i=1}^3 \frac{x_i - \bar{x}}{n-1}$ trong đó $n = 3$ là số lần phân tích lặp lại

Độ lệch chuẩn tương đối: $RSD(\%) = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\%$

Phụ lục 4. Kết quả độ lặp lại và độ tái lặp của cortisol

Nồng độ chuẩn (ng/mL)	Số lần đo	S (mAU)	
		Phân tích trong ngày	Phân tích giữa các ngày
50,0	1	2,81725	2,75940
	2	2,77097	2,71312
	3	2,73626	2,67841
	4	2,84039	2,63213
	5	2,80568	2,68998
	6	2,72469	2,74204
	Trung bình	2,78254	2,70251
	SD	0,04628	0,04605
	RSD (%)	1,66	1,70
98,8	1	5,19958	5,28190
	2	5,25592	5,18171
	3	5,32352	5,25963
	4	5,28972	5,31529
	5	5,30098	5,22067
	6	5,22493	5,17615
	Trung bình	5,26577	5,23923
	SD	0,04753	0,05595
	RSD (%)	0,90	1,07

Với $SD^2 = \sum_{i=1}^6 \frac{x_i - \bar{x}}{n-1}$ trong đó n = 6 là số lần phân tích lặp lại.

Độ lệch chuẩn tương đối $RSD(\%) = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\%$

Phụ lục 5. Số liệu về độ chụm và độ đúng (n = 6) trong phân tích cortisol

Thông số	Nồng độ cortisol			
	Chuẩn 50,0 ng/mL		Chuẩn 98,8 ng/mL	
	Đo trong ngày	Đo giữa các ngày	Đo trong ngày	Đo giữa các ngày
1	49,84	48,80	92,79	94,28
2	49,01	47,97	93,81	92,47
3	48,38	47,34	95,03	93,87
4	50,26	46,51	94,42	94,88
5	49,63	47,55	94,62	93,17
6	48,17	48,49	93,25	92,37
Trung bình	49,22	47,77	93,98	93,51
SD	0,83	0,83	0,86	1,01
RSD (%) của độ chụm	1,70	1,74	0,91	1,08
Độ đúng (%)	98,43	95,55	95,13	94,64

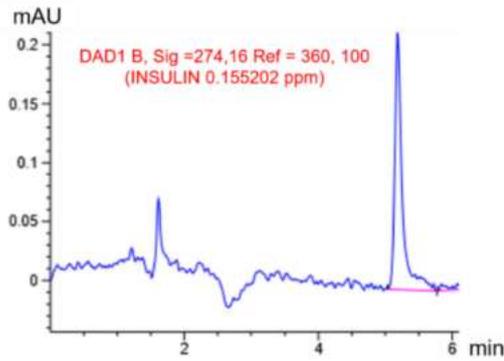
Với $SD^2 = \sum_{i=1}^6 \frac{x_i - \bar{x}}{n-1}$ trong đó n = 6 là số lần phân tích lặp lại.

Độ lệch chuẩn tương đối $RSD(\%) = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\%$

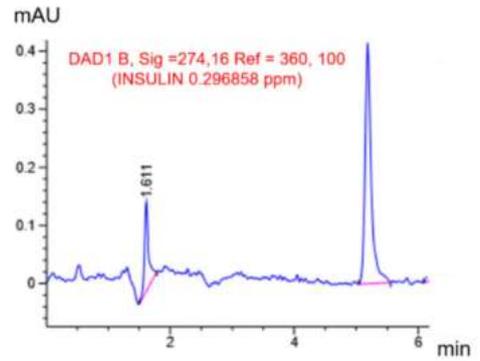
Phụ lục 6. Hiệu suất thu hồi cortisol từ mẫu huyết tương cá rô đồng (n = 3)

Mẫu	Nồng độ cortisol trong máu cá (ng/mL)	Nồng độ cortisol chuẩn thêm vào (ng/mL)	Nồng độ cortisol đo được (ng/mL)	Hiệu suất thu hồi (%)
1	52,40	98,80	149,93	98,72
2	51,64		147,15	96,67
3	51,57		148,70	98,31
Trung bình	51,87		148,59	97,90
SD	0,46		1,39	1,08
RSD (%)	0,89		0,94	1,11

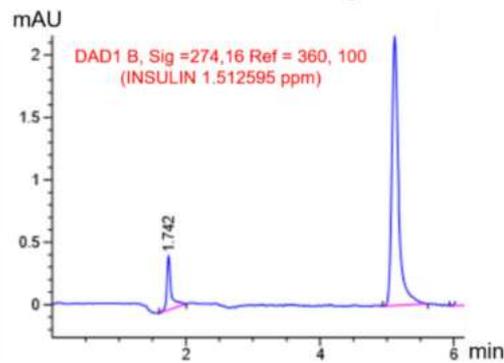
Phụ lục 7. Sắc ký đồ các mẫu insulin chuẩn từ 0,155 mg/L đến 3,029 mg/L



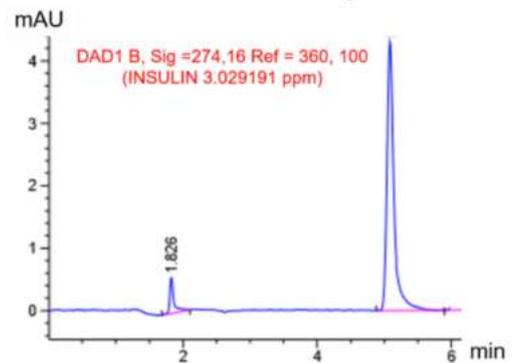
Insulin 0,155 mg/L



Insulin 0,297 mg/L



Insulin 1,513 mg/L



Insulin 3,029 mg/L

Phụ lục 8. Thông số xác định phương trình hồi quy của insulin

		Value	Standard Error
B	Intercept	-0.02519	0.12169
	Slope	10.16743	0.07998

Statistics

	B
Number of Points	5
Degrees of Freedom	3
Residual Sum of Squares	0.12642
Pearson's r	0.99991
Adj. R-Square	0.99975

Summary

B	Intercept		Slope		Statistics
	Value	Standard Error	Value	Standard Error	Adj. R-Square
B	-0.02519	0.12169	10.16743	0.07998	0.99975

ANOVA

		DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
B	Model	1	681.06918	681.06918	16161.50942	1.07313E-6
	Error	3	0.12642	0.04214		
	Total	4	681.19561			

Phụ lục 9. Khảo sát sai số của đường chuẩn insulin

<i>Nồng độ (mg/L)</i>	<i>Chuẩn</i>	<i>Diện tích đỉnh</i>	<i>Diện tích trung bình (\bar{X})</i>	<i>Độ lệch chuẩn (SD)</i>	<i>RSD (%)</i>
0,155	Chuẩn 1	1,7218	1,653	0,070	4,22
	Chuẩn 2	1,5825			
	Chuẩn 3	1,6546			
0,297	Chuẩn 1	2,9393	2,970	0,097	3,28
	Chuẩn 2	2,8910			
	Chuẩn 3	3,0785			
1,513	Chuẩn 1	15,0833	15,041	0,196	1,31
	Chuẩn 2	15,2123			
	Chuẩn 3	14,8264			
3,029	Chuẩn 1	30,9059	30,622	0,747	2,44
	Chuẩn 2	31,1852			
	Chuẩn 3	29,7751			

Với $SD^2 = \sum_{i=1}^3 \frac{x_i - \bar{x}}{n-1}$ trong đó $n = 3$ là số lần phân tích lặp lại

Độ lệch chuẩn tương đối: $RSD(\%) = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\%$

Phụ lục 10. Kết quả độ lặp lại và độ tái lặp của insulin

Nồng độ chuẩn (mg/L)	Số lần đo	S (mAU)	
		Phân tích trong ngày	Phân tích giữa các ngày
0,297	1	2,83925	2,79312
	2	2,98536	2,81221
	3	2,95991	2,89190
	4	3,13925	3,02257
	5	3,19523	3,11231
	6	3,01993	2,91257
	Trung bình	3,02315	2,92411
	SD	0,12833	0,12326
	RSD (%)	4,25	4,22
1,513	1	15,18372	15,08372
	2	14,81127	14,61212
	3	14,78321	14,67321
	4	15,23782	15,00222
	5	15,42781	15,12715
	6	14,73270	14,67322
	Trung bình	15,02942	14,86194
	SD	0,29059	0,23360
	RSD (%)	1,93	1,57

Với $SD^2 = \sum_{i=1}^n \frac{x_i - \bar{x}}{n-1}$ trong đó n = 6 là số lần phân tích lặp lại.

Độ lệch chuẩn tương đối $RSD(\%) = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\%$

Phụ lục 11. Số liệu về độ chụm và độ đúng (n = 6) trong phân tích insulin

Thông số	Nồng độ insulin			
	Chuẩn 303,0 ng/mL		Chuẩn 1515,0 ng/mL	
	Đo trong ngày	Đo giữa các ngày	Đo trong ngày	Đo giữa các ngày
1	282,44	277,90	1496,25	1486,42
2	296,81	279,78	1459,63	1440,05
3	294,30	287,62	1456,87	1446,05
4	311,94	300,46	1501,57	1478,40
5	317,44	309,29	1520,25	1490,69
6	300,21	289,65	1451,90	1446,05
Trung bình	300,52	290,78	1481,08	1464,61
SD	12,62	12,12	28,57	22,97
RSD (%) của độ chụm	4,20	4,17	1,93	1,57
Độ đúng (%)	99,18	97,76	95,97	96,67

Với $SD^2 = \sum_{i=1}^n \frac{x_i - \bar{x}}{n-1}$ trong đó n = 6 là số lần phân tích lặp lại.

Độ lệch chuẩn tương đối $RSD(\%) = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\%$

Phụ lục 12. Hiệu suất thu hồi insulin từ mẫu máu cá rô đồng (n = 3)

Mẫu	Nồng độ insulin trong máu cá (ng/mL)	Nồng độ insulin chuẩn thêm vào (ng/mL)	Nồng độ insulin đo được (ng/mL)	Hiệu suất thu hồi (%)
1	33,32	1515,0	1521,94	98,26
2	28,62		1491,25	96,54
3	30,32		1532,94	99,18
Trung bình	30,75		1515,38	98,00
SD	2,38		21,60	1,34
RSD (%)	7,74		1,43	1,37

Phụ lục 13. Chuẩn bị dãy dung dịch glycogen-IKI chuẩn khảo sát ở bước sóng 460nm

	Bình 1	Bình 2	Bình 3	Bình 4	Bình 5	Bình 6	Bình 7
$V_{\text{glycogen (0,5 mg/mL)}}$ (mL)	0	0,1	0,2	0,5	1,0	1,2	1,4
$V_{\text{H}_2\text{O}}$ (mL)	5	4,8	4,7	4,4	3,9	3,7	3,5
$V_{\text{thuốc thử IKI}}$ (mL)	0,1 mL						
Lắc vortex để yên trong 20 phút, đo ở bước sóng 460 nm							
C_{glycogen} (mg/L)	0	10,0	20,0	50,0	100,0	120,0	140,0

Phụ lục 14. Thông số xác định phương trình hồi quy của glycogen

		Value	Standard Error
B	Intercept	5.00217E-8	1.0642E-5
	Slope	0.00781	1.29377E-4

Statistics

	B
Number of Points	7
Degrees of Freedom	5
Residual Sum of Squares	5.66265
Pearson's r	0.99932
Adj. R-Square	0.99836

Summary

	Intercept		Slope		Statistics
	Value	Standard Error	Value	Standard Error	Adj. R-Square
B	5.00217E-8	1.0642E-5	0.00781	1.29377E-4	0.99836

ANOVA

		DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
B	Model	1	4132.21488	4132.21488	3648.65761	2.3534E-8
	Error	5	5.66265	1.13253		
	Total	6	4137.87753			

Phụ lục 15. Kết quả độ lặp lại và độ tái lặp của glycogen

Nồng độ glycogen chuẩn (mg/L)	Số lần đo	Abs	
		Phân tích trong ngày	Phân tích giữa các ngày
10,0	1	0,080	0,078
	2	0,074	0,073
	3	0,072	0,071
	4	0,073	0,075
	5	0,074	0,072
	6	0,081	0,078
	Trung bình	0,076	0,075
	SD	0,004	0,003
	RSD (%)	5,061	4,049
50,0	1	0,379	0,372
	2	0,400	0,387
	3	0,386	0,384
	4	0,390	0,378
	5	0,395	0,376
	6	0,370	0,368
	Trung bình	0,387	0,378
	SD	0,011	0,007
	RSD (%)	2,822	1,894

Với $SD^2 = \sum_{i=1}^6 \frac{x_i - \bar{x}}{n-1}$ trong đó n = 6 là số lần phân tích lặp lại.

Độ lệch chuẩn tương đối: $RSD(\%) = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\%$

Phụ lục 16. Số liệu về độ chụm và độ đúng (n = 6) phân tích glycogen

Thông số	Nồng độ glycogen			
	Chuẩn 10,0 mg/L		Chuẩn 50,0 mg/L	
	Đo trong ngày	Đo giữa các ngày	Đo trong ngày	Đo giữa các ngày
1	10,24	9,987	48,528	47,631
2	9,48	9,347	51,216	49,552
3	9,22	9,091	49,424	49,168
4	9,35	9,603	49,936	48,399
5	9,48	9,219	50,576	48,143
6	10,37	9,987	47,375	47,119
Trung bình	9,69	9,539	49,509	48,335
SD	0,49	0,39	1,40	0,915
RSD (%) của độ chụm	5,06	4,05	2,82	1,89
Độ đúng (%)	96,88	95,39	99,02	96,67

Với $SD^2 = \sum_{i=1}^n \frac{x_i - \bar{x}}{n-1}$ trong đó n = 6 là số lần phân tích lặp lại.

Độ lệch chuẩn tương đối: $RSD(\%) = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\%$

Phụ lục 17. Hiệu suất thu hồi glycogen từ mẫu gan cá rô đồng (n = 3)

Mẫu	Nồng độ glycogen trong gan cá (mg/L)	Nồng độ glycogen chuẩn thêm vào (mg/L)	Nồng độ glycogen đo được (mg/L)	Hiệu suất thu hồi (%)
1	44,27	10,0	53,71	98,26
2	45,76		54,97	96,54
3	43,44		52,90	99,18
Trung bình	44,49		53,86	93,70
SD	1,18		1,04	1,39
RSD (%)	2,64		1,94	1,48

Phụ lục 18. Độ chụm quy trình xử lý mẫu xác định Pb

Kim loại	Bộ phận	Lần phân tích			RSD (%)
		Lần 1	Lần 2	Lần 3	
Pb ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Mang	192,4	183,4	200,1	4,4
	Gan	105,7	113,7	110,5	3,7
	Thịt	53,1	50,8	55,4	4,3

Phụ lục 19. Hiệu suất thu hồi quy trình mẫu xác định Pb

Lần phân tích	Nồng độ Pb trong mẫu phân tích ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Nồng độ Pb chuẩn thêm vào ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Nồng độ Pb tìm thấy ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Nồng độ thu hồi ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Hiệu suất thu hồi %
Lần 1	11,65	50,00	57,28	9,126	91,26
Lần 2	13,03		60,08	9,410	94,10
Lần 3	12,82		58,44	9,124	91,24
Trung bình				9,220	92,20
SD				0,165	1,645
RSD (%)				1,785	

Phụ lục 20. Độ chụm quy trình xử lý mẫu xác định Cd

Kim loại	Bộ phận	Lần phân tích			RSD (%)
		Lần 1	Lần 2	Lần 3	
Cd ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Mang	11,20	11,60	12,80	9,00
	Gan	11,50	12,70	12,90	6,10
	Thịt	9,20	8,40	9,90	8,20

Phụ lục 21. Hiệu suất thu hồi quy trình mẫu xác định Cd

<i>Lần phân tích</i>	<i>Nồng độ Cd trong mẫu phân tích ($\mu\text{g}/\text{kg}$)</i>	<i>Nồng độ Cd chuẩn thêm vào ($\mu\text{g}/\text{kg}$)</i>	<i>Nồng độ Cd tìm thấy ($\mu\text{g}/\text{kg}$)</i>	<i>Nồng độ thu hồi ($\mu\text{g}/\text{kg}$)</i>	<i>Hiệu suất thu hồi %</i>
Lần 1	10,08	50,0	55,58	9,10	91,0
Lần 2	9,36		56,41	9,41	94,1
Lần 3	8,04		57,09	9,81	98,1
Trung bình				9,440	94,40
SD				0,356	3,559
RSD (%)				3,771	

Phụ lục 22. Tỷ lệ cá rô đồng chết trong 96 giờ ở các nồng độ Pb^{2+} khác nhau

Nồng độ Pb^{2+}	Thí nghiệm	% cá thí nghiệm chết theo thời gian				
		0 giờ	24 giờ	48 giờ	72 giờ	96 giờ
30 mg/L	Lần 1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Lần 2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Lần 3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Lần 4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Mean \pm SD	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
75 mg/L	Lần 1	0,00	0,00	0,00	6,67	26,67
	Lần 2	0,00	0,00	0,00	6,67	20,00
	Lần 3	0,00	0,00	0,00	6,67	33,33
	Lần 4	0,00	0,00	0,00	6,67	26,67
	Mean \pm SD	0,00	0,00	0,00	6,67 \pm 0,00	26,67 \pm 5,44
90 mg/L	Lần 1	0,00	0,00	0,00	13,33	33,33
	Lần 2	0,00	0,00	0,00	13,33	26,67
	Lần 3	0,00	0,00	0,00	13,33	40,00
	Lần 4	0,00	0,00	0,00	13,33	33,33
	Mean \pm SD	0,00	0,00	0,00	13,33 \pm 0,00	33,33 \pm 5,44
100 mg/L	Lần 1	0,00	0,00	20,00	33,33	46,67
	Lần 2	0,00	0,00	33,33	33,33	33,33
	Lần 3	0,00	0,00	33,33	40,00	46,67
	Lần 4	0,00	0,00	20,00	26,67	33,33
	Mean \pm SD	0,00	0,00	26,67 \pm 7,70	33,33 \pm 5,44	40,00 \pm 7,70
150 mg/L	Lần 1	0,00	0,00	33,33	60,00	66,67
	Lần 2	0,00	0,00	33,33	46,67	66,67
	Lần 3	0,00	0,00	46,67	53,33	73,33
	Lần 4	0,00	0,00	46,67	53,33	60,00
	Mean \pm SD	0,00	0,00	40,00 \pm 7,70	53,33 \pm 5,44	66,67 \pm 5,44

Nồng độ Pb^{2+}	Thí nghiệm	% cá thí nghiệm chết theo thời gian				
		0 giờ	24 giờ	48 giờ	72 giờ	96 giờ
175 mg/L	Lần 1	0,00	0,00	40,00	60,00	80,00
	Lần 2	0,00	0,00	33,33	73,33	93,33
	Lần 3	0,00	0,00	46,67	73,33	73,33
	Lần 4	0,00	0,00	40,00	60,00	73,33
	Mean \pm SD	0,00	0,00	40,00 \pm 5,44	66,67 \pm 7,70	80,00 \pm 9,43
200 mg/L	Lần 1	0,00	33,33	86,67	93,33	93,33
	Lần 2	0,00	26,67	86,67	93,33	93,33
	Lần 3	0,00	40,00	73,33	86,67	93,33
	Lần 4	0,00	33,33	73,33	93,33	93,33
	Mean \pm SD	0,00	33,33 \pm 5,44	80,00 \pm 7,70	91,67 \pm 3,33	93,33 \pm 0,00

Phụ lục 23. Ảnh hưởng của Pb^{2+} đến sự phát triển của cá rô đồng (Giá trị chính \pm Độ lệch chuẩn, $n = 3$)

Thời gian	Kích thước (cm)				Trọng lượng (g)			
	Đôi chứng	20Pb	30Pb	40Pb	Đôi chứng	20Pb	30Pb	40Pb
Bắt đầu nuôi ô nhiễm	8.9 \pm 0.4	8.4 \pm 0.3	9.3 \pm 0.4	9.2 \pm 0.2	14,52 \pm 0,28	12,92 \pm 0,51	12,49 \pm 0,46	13,05 \pm 0,33
Ngày thứ 7	8.9 \pm 0.4 (\uparrow 0%) ^(a)	8.6 \pm 0.6 (\uparrow 2.4%) ^(a)	9.60 \pm 0.5 (\uparrow 3.2%) ^(a)	9.4 \pm 0.3 (\uparrow 2.2%) ^(a)	15.33 \pm 0.48 (\uparrow 5.58%) ^(a)	12.76 \pm 0.44 (\downarrow 1.24%) ^(a)	12.35 \pm 0.25 (\downarrow 1.12%) ^(a)	12.59 \pm 0.28 (\downarrow 3.52%) ^(a)
Ngày thứ 14	9.1 \pm 0.2 (\uparrow 2.2%) ^(a)	8.7 \pm 0.7 (\uparrow 3.6%) ^(a)	9.60 \pm 0.5 (\uparrow 3.2%) ^(a)	9.4 \pm 0.4 (\uparrow 2.2%) ^(a)	15.36 \pm 0.48 (\uparrow 5.79%) ^(a)	12.75 \pm 0.30 (\downarrow 1.32%) ^(a)	12.46 \pm 0.32 (\downarrow 0.24%) ^(a)	12.72 \pm 0.34 (\downarrow 2.53%) ^(a)
Ngày thứ 21	9.2 \pm 0.3 (\uparrow 3.7%) ^(a)	8.8 \pm 0.6 (\uparrow 4.8%) ^(a)	9.7 \pm 0.5 (\uparrow 4.3%) ^(a)	9.4 \pm 0.3 (\uparrow 2.5%) ^(a)	16.20 \pm 0.44 (\uparrow 11.57%) ^(a)	13.65 \pm 0.43 (\uparrow 5.65%) ^(a)	13.13 \pm 0.42 (\uparrow 5.12%) ^(a)	13.37 \pm 0.35 (\uparrow 2.45%) ^(a)
Ngày thứ 28	9.6 \pm 0.3 (\uparrow 8.2%) ^(a)	8.9 \pm 0.6 (\uparrow 6.0%) ^(a)	9.60 \pm 0.5 (\uparrow 3.2%) ^(a)	9.4 \pm 0.4 (\uparrow 2.5%) ^(a)	15.89 \pm 0.49 (\uparrow 9.44%) ^(a)	13.89 \pm 0.38 (\uparrow 7.51%) ^(a)	13.03 \pm 0.25 (\uparrow 4.32%) ^(a)	13.51 \pm 0.39 (\uparrow 3.52%) ^(a)

(a): Tỷ lệ tăng trưởng của cá sau thời gian phơi nhiễm so với thời gian bắt đầu nuôi ô nhiễm

Phụ lục 24. Hàm lượng Pb^{2+} tích lũy tại mang cá rô đồng trong 28 ngày phơi nhiễm (Giá trị chính \pm Độ lệch chuẩn, n = 3)

<i>Thí nghiệm</i>		<i>Tích lũy Pb^{2+} tại mang cá (mg/kg mang khô)</i>			
		<i>Ngày thứ 7</i>	<i>Ngày thứ 14</i>	<i>Ngày thứ 21</i>	<i>Ngày thứ 28</i>
Đối chứng	L1	20,89	23,10	20,30	21,09
	L2	18,75	20,10	23,80	23,42
	L3	22,40	19,50	18,10	17,50
	Mean \pm SD	20,68 \pm 1,83	20,90 \pm 1,93	20,73 \pm 2,87	20,67 \pm 2,98
20 mgPb/L	L1	97,57	191,05	231,81	283,71
	L2	95,25	187,16	235,89	289,10
	L3	99,90	194,95	227,72	278,32
	Mean \pm SD	97,57 \pm 2,33	191,05 \pm 3,90	231,81 \pm 4,09	283,71 \pm 5,39
30 mgPb/L	L1	151,35	252,25	281,05	296,22
	L2	145,35	248,67	276,67	289,20
	L3	157,36	255,82	285,42	303,25
	Mean \pm SD	151,35 \pm 6,01	252,25 \pm 3,58	281,05 \pm 4,38	296,22 \pm 7,03
40 mgPb/L	L1	146,27	176,98	297,06	471,84
	L2	153,40	170,92	305,34	475,75
	L3	139,15	183,03	288,78	467,92
	Mean \pm SD	146,27 \pm 7,13	176,98 \pm 6,06	297,06 \pm 8,28	471,84 \pm 3,92

Phụ lục 25. Hàm lượng Pb^{2+} tích lũy tại gan cá rô đồng trong 28 ngày phơi nhiễm
(Giá trị chính \pm Độ lệch chuẩn, n = 3)

<i>Thí nghiệm</i>		<i>Tích lũy Pb^{2+} tại gan cá (mg/kg gan khô)</i>			
		<i>Ngày thứ 7</i>	<i>Ngày thứ 14</i>	<i>Ngày thứ 21</i>	<i>Ngày thứ 28</i>
Đối chứng	L1	0,53	0,56	0,50	0,48
	L2	0,47	0,45	0,75	0,55
	L3	0,69	0,71	0,49	0,70
	Mean \pm SD	0,56 \pm 0,11	0,57 \pm 0,13	0,58 \pm 0,15	0,58 \pm 0,11
20 mgPb/L	L1	18,12	79,27	116,37	123,39
	L2	19,59	84,17	121,33	119,62
	L3	16,30	77,37	113,42	129,69
	Mean \pm SD	18,00 \pm 1,65	80,27 \pm 3,51	117,04 \pm 4,00	124,23 \pm 5,09
30 mgPb/L	L1	36,06	92,49	125,12	127,69
	L2	33,58	98,85	129,36	120,39
	L3	38,92	89,11	117,43	132,23
	Mean \pm SD	36,19 \pm 2,67	93,48 \pm 4,95	123,97 \pm 6,05	126,77 \pm 5,97
40 mgPb/L	L1	35,75	98,71	124,58	173,15
	L2	40,12	91,36	131,12	169,67
	L3	32,91	103,32	119,78	180,53
	Mean \pm SD	36,26 \pm 3,63	97,80 \pm 6,03	125,16 \pm 5,69	174,45 \pm 5,55

Phụ lục 26. Hàm lượng Pb^{2+} tích lũy tại thịt cá rô đồng trong 28 ngày phơi nhiễm
(Giá trị chính \pm Độ lệch chuẩn, n = 3)

<i>Thí nghiệm</i>		<i>Tích lũy Pb^{2+} tại thịt cá (mg/kg thịt khô)</i>			
		<i>Ngày thứ 7</i>	<i>Ngày thứ 14</i>	<i>Ngày thứ 21</i>	<i>Ngày thứ 28</i>
Đối chứng	L1	0,56	0,49	0,57	0,44
	L2	0,47	0,55	0,50	0,64
	L3	0,65	0,68	0,70	0,73
	Mean \pm SD	0,56 \pm 0,09	0,57 \pm 0,10	0,59 \pm 0,10	0,60 \pm 0,15
20 mgPb/L	L1	28,65	59,21	68,39	65,83
	L2	27,15	54,76	63,67	63,31
	L3	33,20	66,30	76,14	74,35
	Mean \pm SD	29,67 \pm 3,15	60,09 \pm 5,82	69,40 \pm 6,30	67,83 \pm 5,79
30 mgPb/L	L1	39,37	63,78	89,17	74,18
	L2	47,59	69,70	95,84	80,53
	L3	36,15	60,69	86,60	72,11
	Mean \pm SD	41,04 \pm 5,90	64,72 \pm 4,58	90,54 \pm 4,77	75,61 \pm 4,39
40 mgPb/L	L1	34,59	89,90	93,10	151,28
	L2	39,83	95,90	89,59	149,33
	L3	30,72	86,80	100,84	160,18
	Mean \pm SD	35,05 \pm 4,57	90,87 \pm 4,63	94,51 \pm 5,76	153,60 \pm 5,78

Phụ lục 27. Hàm lượng cortisol trong huyết tương cá rô đồng sau 28 ngày sống trong môi trường ô nhiễm Pb^{2+}

<i>Thí nghiệm</i>		<i>Lượng cortisol trong huyết tương (ng/mL)</i>			
		<i>Ngày thứ 7</i>	<i>Ngày thứ 14</i>	<i>Ngày thứ 21</i>	<i>Ngày thứ 28</i>
Đối chứng	L1	33,06	33,14	33,37	33,23
	L2	34,23	34,27	34,42	34,13
	L3	33,92	33,55	34,21	33,40
	Mean \pm SD	33,74 \pm 0,61	33,65 \pm 0,57	34,00 \pm 0,56	33,59 \pm 0,48
20 mgPb/L	L1	76,69	67,97	65,88	48,79
	L2	77,92	66,86	67,23	49,32
	L3	77,29	67,51	66,24	49,67
	Mean \pm SD	77,30 \pm 0,62	67,45 \pm 0,56	66,45 \pm 0,70	49,26 \pm 0,44
30 mgPb/L	L1	89,53	72,04	60,48	71,63
	L2	90,15	73,13	58,55	71,00
	L3	88,76	73,54	59,46	70,59
	Mean \pm SD	89,48 \pm 0,70	72,90 \pm 0,78	59,50 \pm 0,97	71,07 \pm 0,52
40 mgPb/L	L1	92,83	82,32	54,82	81,91
	L2	92,15	81,06	56,47	80,59
	L3	91,16	81,76	55,90	81,04
	Mean \pm SD	92,05 \pm 0,84	81,71 \pm 0,63	55,73 \pm 0,84	81,18 \pm 0,67

Phụ lục 28. Hàm lượng insulin trong máu cá rô đồng sau 28 ngày phơi nhiễm Pb²⁺

<i>Thí nghiệm</i>		<i>Lượng insulin trong máu (ng/mL)</i>			
		<i>Ngày thứ 7</i>	<i>Ngày thứ 14</i>	<i>Ngày thứ 21</i>	<i>Ngày thứ 28</i>
Đối chứng	L1	24,71	24,65	23,13	24,32
	L2	23,32	23,67	24,81	23,71
	L3	23,67	23,23	23,06	24,00
	Mean ± SD	23,90 ± 0,72	23,85 ± 0,73	23,67 ± 0,99	24,01 ± 0,31
20 mgPb/L	L1	8,89	3,55	4,78	5,83
	L2	8,24	4,14	5,22	5,17
	L3	8,13	3,32	5,16	5,06
	Mean ± SD	8,42 ± 0,41	3,67 ± 0,42	5,05 ± 0,24	5,35 ± 0,42
30 mgPb/L	L1	4,37	2,91	4,61	4,83
	L2	3,74	2,45	4,18	4,10
	L3	4,10	2,30	4,13	4,34
	Mean ± SD	4,07 ± 0,32	2,55 ± 0,32	4,31 ± 0,26	4,42 ± 0,37
40 mgPb/L	L1	3,23	1,21	3,77	3,80
	L2	3,15	1,81	3,70	3,99
	L3	3,94	1,30	3,21	4,25
	Mean ± SD	3,44 ± 0,43	1,44 ± 0,32	3,56 ± 0,31	4,01 ± 0,23

Phụ lục 29. Hàm lượng glycogen trong gan cá rô đồng sau 28 ngày phơi nhiễm Pb^{2+}

<i>Thí nghiệm</i>		<i>Lượng glycogen (mg/g)</i>			
		<i>Ngày thứ 7</i>	<i>Ngày thứ 14</i>	<i>Ngày thứ 21</i>	<i>Ngày thứ 28</i>
Đối chứng	L1	90,88	90,92	90,15	90,68
	L2	90,00	90,15	89,80	89,90
	L3	91,05	91,00	90,32	90,40
	Mean \pm SD	90,64 \pm 0,56	90,69 \pm 0,47	90,09 \pm 0,27	90,33 \pm 0,40
20 mgPb/L	L1	68,36	58,44	58,58	57,25
	L2	68,05	58,12	58,23	57,00
	L3	68,77	58,78	59,00	57,60
	Mean \pm SD	68,39 \pm 0,36	58,45 \pm 0,33	58,60 \pm 0,39	57,28 \pm 0,30
30 mgPb/L	L1	55,54	44,22	45,10	45,29
	L2	55,05	43,78	45,45	45,00
	L3	56,10	44,90	45,87	45,83
	Mean \pm SD	55,56 \pm 0,53	44,30 \pm 0,56	45,47 \pm 0,39	45,37 \pm 0,42
40 mgPb/L	L1	45,31	37,32	38,45	38,55
	L2	45,54	36,90	38,98	38,88
	L3	44,96	37,73	37,90	38,00
	Mean \pm SD	45,27 \pm 0,29	37,32 \pm 0,42	38,44 \pm 0,54	38,48 \pm 0,44

Phụ lục 30. Kích thước và trọng lượng của cá rô đồng sau 14 ngày thời nhiễm Pb²⁺ (Giá trị chính ± độ lệch chuẩn, n = 3)

Thí nghiệm	Kích thước của cá rô đồng (cm)		Trọng lượng của cá rô đồng (g)	
	Ngày đầu tiên bắt đầu phơi nhiễm	Ngày thứ 28 (phơi nhiễm)	Ngày đầu tiên bắt đầu phơi nhiễm	Ngày thứ 28 (phơi nhiễm)
Đối chứng	8,90 ± 0,40	9,63 ± 0,30 (↑8,20%) ^a	14,52 ± 0,28	15,89 ± 0,49 (↑9,44%) ^a
20Pb	8,40 ± 0,30	8,90 ± 0,60 (↑6,00%) ^a	12,92 ± 0,51	13,89 ± 0,38 (↑7,51%) ^a
30Pb	9,30 ± 0,40	9,60 ± 0,50 (↑3,20%) ^a	12,49 ± 0,46	13,03 ± 0,25 (↑4,32%) ^a
40Pb	9,17 ± 0,20	9,40 ± 0,40 (↑2,50%) ^a	13,05 ± 0,33	13,51 ± 0,39 (↑3,52%) ^a
		10,90 ± 0,30 (↑22,50%) ^a (↑13,20%) ^b		17,17 ± 0,35 (↑18,25%) ^b (↑8,06%) ^c
		9,70 ± 0,30 (↑15,10%) ^a (↑8,70%) ^b		14,68 ± 0,28 (↑13,62%) ^b (↑5,69%) ^c
		10,10 ± 0,30 (↑8,90%) ^a (↑5,50%) ^b		13,55 ± 0,48 (↑8,49%) ^b (↑3,99%) ^c
		9,80 ± 0,20 (↑6,50%) ^a (↑3,90%) ^b		13,77 ± 0,31 (↑5,52%) ^b (↑1,92%) ^c

^a: Tăng so với ngày bắt đầu phơi nhiễm Pb²⁺;

^b: Tăng so với ngày thứ 28 của giai đoạn phơi nhiễm.

Phụ lục 31. Hàm lượng Pb^{2+} trong các mô của cá rô đồng sau 14 ngày phơi nhiễm

<i>Thí nghiệm</i>		<i>Hàm lượng Pb^{2+} còn trong mô cá (mg/kg)</i>		
		<i>Mang cá</i>	<i>Gan cá</i>	<i>Thịt cá</i>
Sau 28 ngày phơi nhiễm				
20 mgPb/L	L1	283,71	123,39	65,83
	L2	289,10	119,62	63,31
	L3	278,32	129,69	74,35
	Mean \pm SD	283,71 \pm 5,39	124,23 \pm 5,09	67,83 \pm 5,79
30 mgPb/L	L1	296,22	127,69	74,18
	L2	289,20	120,39	80,53
	L3	303,25	132,23	72,11
	Mean \pm SD	296,22 \pm 7,03	126,77 \pm 5,97	75,61 \pm 4,39
40 mgPb/L	L1	471,84	173,15	151,28
	L2	475,75	169,67	149,33
	L3	467,92	180,53	160,18
	Mean \pm SD	471,84 \pm 3,92	174,45 \pm 5,55	153,60 \pm 5,78
Sau 14 ngày phơi nhiễm				
20 mgPb/L	L1	191,05	88,72	49,21
	L2	195,16	92,17	45,15
	L3	194,95	97,37	47,53
	Mean \pm SD	193,72 \pm 2,31	92,75 \pm 4,35	47,30 \pm 2,04
30 mgPb/L	L1	252,25	102,49	56,78
	L2	248,67	98,85	60,37
	L3	255,82	99,71	53,69
	Mean \pm SD	252,25 \pm 3,58	100,35 \pm 1,90	56,95 \pm 3,34
40 mgPb/L	L1	176,98	140,97	139,17
	L2	178,92	137,36	135,54
	L3	183,03	138,42	137,50
	Mean \pm SD	179,64 \pm 3,09	138,92 \pm 1,86	137,40 \pm 1,82

Phụ lục 32. Tỷ lệ cá rô đồng chết trong 96 giờ ở các nồng độ Cd^{2+} khác nhau

Nồng độ Cd^{2+}	Thí nghiệm	% cá thí nghiệm chết theo thời gian				
		0 giờ	24 giờ	48 giờ	72 giờ	96 giờ
3 mg/L	Lần 1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Lần 2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Lần 3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Lần 4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Mean \pm SD	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5 mg/L	Lần 1	0,00	0,00	0,00	6,67	6,67
	Lần 2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Lần 3	0,00	0,00	0,00	13,33	13,33
	Lần 4	0,00	0,00	0,00	6,67	6,67
	Mean \pm SD	0,00	0,00	0,00	6,67 \pm 5,44	6,67 \pm 5,44
10 mg/L	Lần 1	0,00	6,67	20,00	20,00	20,00
	Lần 2	0,00	6,67	6,67	20,00	20,00
	Lần 3	0,00	6,67	13,33	26,67	26,67
	Lần 4	0,00	6,67	13,33	13,33	13,33
	Mean \pm SD	0,00	6,67 \pm 0,00	13,33 \pm 5,44	20,00 \pm 5,44	20,00 \pm 5,44
20 mg/L	Lần 1	0,00	13,33	13,33	13,33	33,33
	Lần 2	0,00	6,67	6,67	26,67	33,33
	Lần 3	0,00	13,33	13,33	20,00	20,00
	Lần 4	0,00	20,00	20,00	20,00	20,00
	Mean \pm SD	0,00	13,33 \pm 5,44	13,33 \pm 5,44	20,00 \pm 5,44	26,67 \pm 7,70
30 mg/L	Lần 1	0,00	13,33	26,67	26,67	53,33
	Lần 2	0,00	6,67	33,33	40,00	40,00
	Lần 3	0,00	20,00	26,67	40,00	46,67
	Lần 4	0,00	13,33	20,00	26,67	46,67
	Mean \pm SD	0,00	13,33 \pm 5,44	26,67 \pm 5,44	33,33 \pm 7,70	46,67 \pm 5,44

Nồng độ Cd^{2+}	Thí nghiệm	% cá thí nghiệm chết theo thời gian				
		0 giờ	24 giờ	48 giờ	72 giờ	96 giờ
40 mg/L	Lần 1	0,00	20,00	40,00	53,33	60,00
	Lần 2	0,00	20,00	33,33	60,00	66,67
	Lần 3	0,00	20,00	40,00	40,00	53,33
	Lần 4	0,00	20,00	46,67	60,00	60,00
	Mean \pm SD	0,00	20,00 \pm 0,00	40,00 \pm 5,44	53,33 \pm 9,43	60,00 \pm 5,44
50 mg/L	Lần 1	0,00	40,00	53,33	53,33	80,00
	Lần 2	0,00	33,33	40,00	53,33	66,67
	Lần 3	0,00	46,67	53,33	73,33	73,33
	Lần 4	0,00	40,00	40,00	60,00	73,33
	Mean \pm SD	0,00	40,00 \pm 5,44	46,67 \pm 7,70	60,00 \pm 9,43	73,33 \pm 5,44
75 mg/L	Lần 1	0,00	80,00	80,00	93,33	93,33
	Lần 2	0,00	73,33	80,00	86,67	86,67
	Lần 3	0,00	86,67	86,67	93,33	93,33
	Lần 4	0,00	80,00	100,00	100,00	100,00
	Mean \pm SD	0,00	80,00 \pm 5,44	86,67 \pm 9,43	93,33 \pm 5,44	93,33 \pm 5,44

Phụ lục 33. Ảnh hưởng của Cd^{2+} đến sự phát triển của cá rô đồng (Giá trị chính \pm Độ lệch chuẩn, $n = 3$)

Thời gian	Kích thước (cm)				Trọng lượng (g)			
	Đôi chứng	3Cd	5Cd	10Cd	Đôi chứng	3Cd	5Cd	10Cd
Bắt đầu nuôi ô nhiễm	8,90 \pm 0,40	9,10 \pm 0,20	9,10 \pm 0,30	9,30 \pm 0,30	14,52 \pm 0,28	12,36 \pm 0,41	12,32 \pm 0,50	12,24 \pm 0,46
Ngày thứ 7	8,90 \pm 0,40 (\uparrow 0%) ^(a)	9,10 \pm 0,20 (\uparrow 0,40%) ^(a)	9,20 \pm 0,50 (\uparrow 1,10%) ^(a)	9,40 \pm 0,50 (\uparrow 0,90%) ^(a)	15,33 \pm 0,48 (\uparrow 5,58%) ^(a)	12,68 \pm 0,43 (\uparrow 2,59%) ^(a)	12,50 \pm 0,46 (\uparrow 1,43%) ^(a)	12,36 \pm 0,47 (\uparrow 0,97%) ^(a)
Ngày thứ 14	9,10 \pm 0,20 (\uparrow 2.2%) ^(a)	9,20 \pm 0,30 (\uparrow 1,40%) ^(a)	9,20 \pm 0,30 (\uparrow 0,50%) ^(a)	9,40 \pm 0,50 (\uparrow 1,10%) ^(a)	15,36 \pm 0,48 (\uparrow 5,79%) ^(a)	12,92 \pm 0,41 (\uparrow 4,53%) ^(a)	12,74 \pm 0,34 (\uparrow 3,38%) ^(a)	12,52 \pm 0,57 (\uparrow 2,29 %) ^(a)
Ngày thứ 21	9,20 \pm 0,30 (\uparrow 3,70%) ^(a)	9,30 \pm 0,30 (\uparrow 2,40%) ^(a)	9,30 \pm 0,40 (\uparrow 1,80%) ^(a)	9,40 \pm 0,60 (\uparrow 1,50%) ^(a)	16,20 \pm 0,44 (\uparrow 11,57%) ^(a)	13,02 \pm 0,48 (\uparrow 5,34%) ^(a)	12,86 \pm 0,37 (\uparrow 4,35%) ^(a)	12,68 \pm 0,48 (\uparrow 3,59%) ^(a)
Ngày thứ 28	9,60 \pm 0,30 (\uparrow 8,20%) ^(a)	9,50 \pm 0,40 (\uparrow 5,30%) ^(a)	9,50 \pm 0,40 (\uparrow 3,60%) ^(a)	9,60 \pm 0,50 (\uparrow 3,00%) ^(a)	15,89 \pm 0,49 (\uparrow 9,44%) ^(a)	13,11 \pm 0,57 (\uparrow 6,07%) ^(a)	13,00 \pm 0,65 (\uparrow 5,49%) ^(a)	12,80 \pm 0,52 (\uparrow 4,58%) ^(a)

(a): Tỷ lệ tăng trưởng của cá sau thời gian phơi nhiễm so với thời gian bắt đầu nuôi ô nhiễm

Phụ lục 34. Hàm lượng Cd^{2+} tích lũy tại mang cá rô đồng trong 28 ngày phơi nhiễm (Giá trị chính \pm Độ lệch chuẩn, n = 3)

<i>Thí nghiệm</i>		<i>Tổng lượng Cd^{2+} tích lũy tại mang cá (mg/kg mang khô)</i>			
		<i>Ngày thứ 7</i>	<i>Ngày thứ 14</i>	<i>Ngày thứ 21</i>	<i>Ngày thứ 28</i>
Đối chứng	L1	2,16	2,21	2,25	2,13
	L2	2,05	1,93	2,10	2,30
	L3	2,00	2,10	2,05	2,10
	Mean \pm SD	2,07 \pm 0,08	2,08 \pm 0,14	2,13 \pm 0,10	2,18 \pm 0,11
3 mgCd/L	L1	5,10	6,13	15,05	21,95
	L2	5,25	5,80	15,66	22,44
	L3	5,37	5,90	15,90	22,63
	Mean \pm SD	5,24 \pm 0,14	5,94 \pm 0,17	15,54 \pm 0,44	22,34 \pm 0,35
5 mgCd/L	L1	12,28	13,19	17,42	21,86
	L2	11,90	13,78	18,13	22,46
	L3	12,67	13,38	18,30	21,52
	Mean \pm SD	12,28 \pm 0,39	13,45 \pm 0,30	17,95 \pm 0,47	21,95 \pm 0,48
10 mgCd/L	L1	19,73	25,90	30,53	30,70
	L2	20,42	26,64	30,82	31,82
	L3	20,07	26,15	31,44	30,45
	Mean \pm SD	20,07 \pm 0,35	26,23 \pm 0,38	30,93 \pm 0,46	30,99 \pm 0,73

Phụ lục 35. Hàm lượng Cd^{2+} tích lũy tại gan cá rô đồng trong 28 ngày phơi nhiễm
(Giá trị chính \pm Độ lệch chuẩn, n = 3)

Thí nghiệm		Tổng lượng Cd^{2+} tích lũy tại gan cá (mg/kg gan khô)			
		Ngày thứ 7	Ngày thứ 14	Ngày thứ 21	Ngày thứ 28
Đối chứng	L1	0,33	0,34	0,33	0,43
	L2	0,38	0,36	0,40	0,32
	L3	0,37	0,33	0,38	0,34
	Mean \pm SD	0,36 \pm 0,03	0,34 \pm 0,02	0,37 \pm 0,04	0,36 \pm 0,06
3 mgCd/L	L1	201,57	286,20	312,82	375,51
	L2	215,22	277,10	324,67	370,43
	L3	209,73	280,15	320,73	362,87
	Mean \pm SD	208,84 \pm 6,87	281,15 \pm 4,63	319,41 \pm 6,03	369,60 \pm 6,36
5 mgCd/L	L1	397,54	570,23	628,53	783,16
	L2	410,12	564,90	638,79	773,32
	L3	400,67	560,33	634,51	771,33
	Mean \pm SD	402,78 \pm 6,55	565,15 \pm 4,95	633,94 \pm 5,15	775,94 \pm 6,33
10 mgCd/L	L1	540,00	698,43	1071,25	1595,39
	L2	530,15	703,24	1084,66	1582,10
	L3	532,19	690,65	1075,33	1580,80
	Mean \pm SD	534,11 \pm 5,20	697,44 \pm 6,35	1077,08 \pm 6,87	1586,10 \pm 8,07

Phụ lục 36. Hàm lượng Cd^{2+} tích lũy tại thịt cá rô đồng trong 28 ngày phơi nhiễm
(Giá trị chính \pm Độ lệch chuẩn, n = 3)

<i>Thí nghiệm</i>		<i>Tổng lượng Cd^{2+} tích lũy tại thịt cá (mg/kg thịt khô)</i>			
		<i>Ngày thứ 7</i>	<i>Ngày thứ 14</i>	<i>Ngày thứ 21</i>	<i>Ngày thứ 28</i>
Đối chứng	L1	0,03	0,03	0,02	0,03
	L2	0,03	0,03	0,03	0,03
	L3	0,03	0,03	0,03	0,03
	Mean \pm SD	0,03 \pm 0,00	0,03 \pm 0,00	0,03 \pm 0,00	0,03 \pm 0,00
3 mgCd/L	L1	0,55	1,05	1,39	1,49
	L2	0,61	0,94	1,54	1,58
	L3	0,64	1,01	1,48	1,47
	Mean \pm SD	0,60 \pm 0,05	1,00 \pm 0,06	1,47 \pm 0,08	1,51 \pm 0,06
5 mgCd/L	L1	1,76	1,94	2,52	5,44
	L2	1,85	2,08	2,61	5,62
	L3	1,80	2,21	2,67	5,39
	Mean \pm SD	1,80 \pm 0,05	2,08 \pm 0,14	2,60 \pm 0,08	5,48 \pm 0,12
10 mgCd/L	L1	3,57	4,13	5,51	7,56
	L2	3,28	4,21	5,30	7,81
	L3	3,32	4,40	5,40	7,70
	Mean \pm SD	3,39 \pm 0,16	4,25 \pm 0,14	5,40 \pm 0,11	7,69 \pm 0,13

Phụ lục 37. Hàm lượng cortisol trong huyết tương cá rô đồng sau 28 ngày sống trong môi trường ô nhiễm Cd^{2+}

<i>Thí nghiệm</i>		<i>Lượng cortisol trong huyết tương (ng/mL)</i>			
		<i>Ngày thứ 7</i>	<i>Ngày thứ 14</i>	<i>Ngày thứ 21</i>	<i>Ngày thứ 28</i>
Đối chứng	L1	33,06	33,14	33,37	33,23
	L2	34,23	34,27	34,42	34,13
	L3	33,92	33,55	34,21	33,40
	Mean ± SD	33,74 ± 0,61	33,65 ± 0,57	34,00 ± 0,56	33,59 ± 0,48
3 mgCd/L	L1	72,95	54,31	59,21	65,89
	L2	70,93	52,62	57,47	64,40
	L3	71,76	53,15	58,34	65,00
	Mean ± SD	71,88 ± 1,02	53,36 ± 0,86	58,34 ± 0,87	65,10 ± 0,75
5 mgCd/L	L1	89,10	69,34	60,23	68,90
	L2	87,67	67,78	58,88	66,89
	L3	88,00	68,93	59,47	68,07
	Mean ± SD	88,26 ± 0,75	68,68 ± 0,81	59,53 ± 0,68	67,95 ± 1,01
10 mgCd/L	L1	94,43	103,05	101,32	103,77
	L2	95,05	105,14	103,67	104,72
	L3	96,09	104,07	102,27	105,86
	Mean ± SD	95,19 ± 0,84	104,09 ± 1,05	102,42 ± 1,18	104,78 ± 1,05

Phụ lục 38. Hàm lượng insulin trong máu cá rô đồng sau 28 ngày phơi nhiễm Cd²⁺

<i>Thí nghiệm</i>		<i>Lượng insulin trong máu (ng/mL)</i>			
		<i>Ngày thứ 7</i>	<i>Ngày thứ 14</i>	<i>Ngày thứ 21</i>	<i>Ngày thứ 28</i>
Đối chứng	L1	24,71	24,65	23,13	24,32
	L2	23,32	23,67	24,81	23,71
	L3	23,67	23,23	23,06	24,00
	Mean ± SD	23,90 ± 0,72	23,85 ± 0,73	23,67 ± 0,99	24,01 ± 0,31
3 mgCd/L	L1	7,17	3,36	1,97	1,23
	L2	7,23	2,45	1,50	1,25
	L3	7,80	2,88	1,30	1,68
	Mean ± SD	7,40 ± 0,35	2,90 ± 0,46	1,59 ± 0,34	1,39 ± 0,25
5 mgCd/L	L1	5,05	1,88	1,33	1,40
	L2	4,34	1,82	1,16	1,16
	L3	4,29	2,26	1,11	1,01
	Mean ± SD	4,56 ± 0,43	1,99 ± 0,24	1,20 ± 0,12	1,19 ± 0,20
10 mgCd/L	L1	2,32	1,15	0,93	0,97
	L2	2,20	1,43	1,15	0,92
	L3	2,85	0,96	1,24	1,16
	Mean ± SD	2,46 ± 0,35	1,18 ± 0,24	1,11 ± 0,16	1,02 ± 0,13

Phụ lục 39. Hàm lượng glycogen trong gan cá rô đồng sau 28 ngày phơi nhiễm Cd²⁺

<i>Thí nghiệm</i>		<i>Lượng glycogen (mg/g)</i>			
		<i>Ngày thứ 7</i>	<i>Ngày thứ 14</i>	<i>Ngày thứ 21</i>	<i>Ngày thứ 28</i>
Đối chứng	L1	90,88	90,92	90,15	90,68
	L2	90,00	90,15	89,80	89,90
	L3	91,05	91,00	90,32	90,40
	Mean ± SD	90,64 ± 0,56	90,69 ± 0,47	90,09 ± 0,27	90,33 ± 0,40
3 mgCd/L	L1	43,41	36,32	32,67	27,95
	L2	45,11	35,90	31,48	28,22
	L3	45,96	37,73	30,90	27,00
	Mean ± SD	44,83 ± 1,30	36,65 ± 0,96	31,68 ± 0,90	27,72 ± 0,64
5 mgCd/L	L1	36,72	31,45	27,88	16,82
	L2	35,90	30,98	26,21	17,19
	L3	35,23	31,90	27,00	15,73
	Mean ± SD	35,95 ± 0,75	31,44 ± 0,46	27,03 ± 0,84	16,58 ± 0,76
10 mgCd/L	L1	28,64	23,44	20,18	17,75
	L2	27,85	22,12	18,63	15,70
	L3	26,07	21,78	19,00	16,09
	Mean ± SD	27,52 ± 1,32	22,45 ± 0,88	19,27 ± 0,81	16,51 ± 1,09

Phụ lục 40: Kích thước và trọng lượng của cá rô đồng sau 14 ngày thời nhiễm (Giá trị chính ± độ lệch chuẩn, n = 3)

Thí nghiệm	Kích thước của cá rô đồng (cm)			Trọng lượng của cá rô đồng (g)		
	Ngày đầu tiên nhiễm đầu phơi nhiễm	Ngày thứ 28 (phơi nhiễm)	Sau 14 ngày thời nhiễm	Ngày đầu tiên bắt đầu phơi nhiễm	Ngày thứ 28 (phơi nhiễm)	Sau 14 ngày thời nhiễm
Đối chứng	8,90 ± 0,40	9,60 ± 0,30 (↑8,20%) ^a	10,90 ± 0,30 (↑22,50%) ^a (↑13,20%) ^b	14,52 ± 0,28	15,89 ± 0,49 (↑9,44%) ^a	17,17 ± 0,35 (↑18,25%) ^b (↑8,06%) ^c
3Cd	9,10 ± 0,20	9,50 ± 0,40 (↑5,30%) ^a	10,20 ± 0,40 (↑12,50%) ^a (↑6,80%) ^b	12,36 ± 0,41	13,11 ± 0,57 (↑6,07%) ^a	14,20 ± 0,48 (↑13,98%) ^a (↑8,31%) ^b
5Cd	9,10 ± 0,30	9,50 ± 0,40 (↑3,60%) ^a	9,90 ± 0,40 (↑7,90%) ^a (↑4,10%) ^b	12,32 ± 0,50	13,00 ± 0,65 (↑5,49%) ^a	13,56 ± 0,45 (↑10,03%) ^a (↑4,31%) ^b
10Cd	9,30 ± 0,30	9,60 ± 0,50 (↑3,00%) ^a	9,80 ± 0,50 (↑5,50%) ^a (↑2,40%) ^b	12,24 ± 0,46	12,08 ± 0,52 (↓4,58%) ^a	13,05 ± 0,46 (↑6,62%) ^a (↑1,95%) ^b

^a: Tăng so với ngày bắt đầu phơi nhiễm Cd²⁺;

^b: Tăng so với ngày thứ 28 của giai đoạn phơi nhiễm.

Phụ lục 41. Hàm lượng Cd²⁺ còn trong các mô của cá rô đồng sau 14 ngày phơi nhiễm

<i>Thí nghiệm</i>		<i>Hàm lượng Cd²⁺ còn trong mô cá (mg/kg)</i>		
		<i>Mang cá</i>	<i>Gan cá</i>	<i>Thịt cá</i>
Sau 28 ngày phơi nhiễm				
3 mgCd/L	L1	21,95	375,51	1,49
	L2	22,44	370,43	1,58
	L3	22,63	362,87	1,47
	Mean ± SD	22,34 ± 0,35	369,60 ± 6,36	1,51 ± 0,06
5 mgCd/L	L1	21,86	783,16	5,44
	L2	22,46	773,32	5,62
	L3	21,52	771,33	5,39
	Mean ± SD	21,95 ± 0,48	775,94 ± 6,33	5,48 ± 0,12
10 mgCd/L	L1	30,70	1595,39	7,56
	L2	31,82	1582,10	7,81
	L3	30,45	1580,80	7,70
	Mean ± SD	30,99 ± 0,73	1586,10 ± 8,07	7,69 ± 0,13
Sau 14 ngày phơi nhiễm				
3 mgCd/L	L1	13,64	284,69	1,15
	L2	13,26	287,67	1,14
	L3	13,28	292,01	1,03
	Mean ± SD	13,39 ± 0,21	288,12 ± 3,68	1,11 ± 0,07
5 mgCd/L	L1	14,01	674,70	3,94
	L2	14,57	681,68	3,70
	L3	14,38	678,08	3,96
	Mean ± SD	14,32 ± 0,28	678,15 ± 3,49	3,87 ± 0,14
10 mgCd/L	L1	22,35	1416,51	5,10
	L2	22,64	1406,87	5,48
	L3	21,96	1414,93	5,67
	Mean ± SD	22,32 ± 0,34	1412,77 ± 5,17	5,42 ± 0,29

1. Quyết định 1063/QĐ-HVKHCN ngày 13/10/2025 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ V/v Thành lập Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện;
2. Danh sách thành viên Hội đồng;
3. 07 bản nhận xét của các thành viên Hội đồng;
4. Biên bản của Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện ngày 03/12/2025;
5. Quyết nghị của Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện ngày 03/12/2025;
6. Bản giải trình chỉnh sửa, bổ sung luận án tiến sĩ cấp Học viện ngày 09/12/2025.

Số: 1063/QĐ-HVKHCN

Hà Nội, ngày 13 tháng 10 năm 2025

QUYẾT ĐỊNH
Về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện

GIÁM ĐỐC
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

Căn cứ Quyết định số 364/QĐ-VHL ngày 01/03/2025 của Chủ tịch Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam về việc ban hành Quy chế Tổ chức và hoạt động của Học viện Khoa học và Công nghệ;

Căn cứ Thông tư số 08/2017/TT-BGDĐT ngày 04/4/2017 của Bộ Giáo dục và Đào tạo về việc ban hành Quy chế Tuyển sinh và Đào tạo trình độ Tiến sĩ;

Căn cứ Quyết định số 1948/QĐ-HVKHCN ngày 28/12/2018 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc ban hành Quy định đào tạo trình độ tiến sĩ tại Học viện Khoa học và Công nghệ;

Căn cứ Quyết định số 2019/QĐ-HVKHCN ngày 10/12/2020 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận nghiên cứu sinh chương trình thông thường đợt 2 năm 2020;

Căn cứ Quyết định số 1380/QĐ-HVKHCN ngày 26/11/2024 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc gia hạn thời gian học tập lần 2: (12 tháng từ ngày 10/12/2024 đến ngày 10/12/2025) cho NCS. Đặng Nguyễn Nhã Khanh;

Xét đề nghị của Trưởng phòng Đào tạo.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Thành lập Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện cho nghiên cứu sinh Đặng Nguyễn Nhã Khanh với đề tài:

“Nghiên cứu quá trình tích lũy, đào thải và ảnh hưởng của chì (Pb), cadimi (Cd) đến lượng glycogen, insulin, cortisol trong cá rô đồng (*Anabas testudineus*)”

Ngành: Hóa vô cơ

Mã số: 9 44 01 13

Danh sách thành viên Hội đồng đánh giá luận án kèm theo Quyết định này.

Điều 2. Hội đồng có trách nhiệm đánh giá luận án tiến sĩ theo đúng quy chế hiện hành của Bộ Giáo dục và Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ.

Quyết định có hiệu lực tối đa 90 ngày kể từ ngày ký và phải đảm bảo thời hạn đào tạo theo quy định của Học viện Khoa học và Công nghệ. Hội đồng tự giải thể sau khi hoàn thành nhiệm vụ.

Điều 3. Trưởng phòng Tổ chức - Hành chính, Trưởng phòng Đào tạo, Trưởng phòng Kế toán, các thành viên có tên trong danh sách Hội đồng và nghiên cứu sinh có tên tại Điều 1 chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này. /.

Nơi nhận:

- Như Điều 3;
- Lưu hồ sơ NCS;
- Lưu: VT, ĐT. TN16.

GIÁM ĐỐC



G.S. TS. Vũ Đình Lâm

**DANH SÁCH HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ
CẤP HỌC VIỆN**



(Kèm theo Quyết định số 1063/QĐ-HVKHCN ngày 13/10/2025
của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ)

Cho luận án của nghiên cứu sinh: Đặng Nguyễn Nhã Khanh

* Về đề tài: “Nghiên cứu quá trình tích lũy, đào thải và ảnh hưởng của chì (Pb),
Cadimi (Cd) đến lượng glycogen, insulin, Cortisol trong cá rô đồng (*Anabas testudineus*)”

Ngành: Hóa vô cơ

Mã số: 9 44 01 13

Người hướng dẫn: PGS.TS. Nguyễn Thị Kim Phượng – Học viện Khoa học và
Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

TT	Họ và tên, học hàm, học vị	Chuyên ngành	Cơ quan công tác	Trách nhiệm trong Hội đồng
1	GS.TS. Nguyễn Cửu Khoa	Hóa hữu cơ	Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KHCNVN	Chủ tịch
2	PGS.TS. Bạch Long Giang	Kỹ thuật hóa học	Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, Bộ Giáo dục và Đào tạo	Phản biện 1
3	PGS.TS. Nguyễn Văn Cường	Vật liệu tiên tiến	Trường Đại học Công nghiệp TP. HCM, Bộ Công thương	Phản biện 2
4	PGS.TS. Trần Hoàng Phương	Hóa hữu cơ	Trường Đại học KHTN, Đại học Quốc gia TP. HCM	Phản biện 3
5	TS. Đào Phạm Duy Quang	Hóa ứng dụng	Viện Công nghệ tiên tiến, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên - Thư ký
6	PGS.TS. Trần Ngọc Quyên	Hóa hữu cơ	Viện Công nghệ tiên tiến, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên
7	PGS.TS. Trần Quang Hiếu	Kỹ thuật hóa học	Trường Đại học công nghệ Sài Gòn, Bộ Giáo dục và Đào tạo	Ủy viên

Hội đồng gồm 07 thành viên./.



BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Người nhận xét luận án: NGUYỄN CỬU KHOA

Học hàm, học vị: GS.TS.

Cơ quan công tác: Học Viện Khoa Học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa Học và Công Nghệ Việt Nam

Họ và tên NCS: **ĐẶNG NGUYỄN NHẢ KHANH**

Tên đề tài: **NGHIÊN CỨU QUÁ TRÌNH TÍCH LŨY, ĐÀO THẢI VÀ ẢNH HƯỞNG CỦA CHÌ (Pb), CADIMI (Cd) ĐẾN LƯỢNG GLYCOGEN, INSULIN, CORTISOL TRONG CÁ RÔ ĐỒNG (*Anabas testudineus*)**

Chuyên ngành: Hóa vô cơ

Mã số: 9440113

NỘI DUNG NHẬN XÉT

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận án

Cá là nguồn thức ăn quan trọng và là nguồn thủy sản xuất khẩu hàng đầu của nước ta, đặc biệt là của vùng Đồng bằng sông Cửu long. Tuy nhiên do nguồn nước ở nước ta ngày càng có nguy cơ bị ô nhiễm, đặc biệt là ô nhiễm kim loại nặng. Đó là rào cản rất khó trong quá trình xuất khẩu cũng như trong quá trình cung cấp thực phẩm cho người dân.

Cá rô đồng (*Anabas testudineus*) là loài cá có giá trị kinh tế cao đối với ngành nuôi trồng thủy sản ở Việt Nam. Tuy nhiên, do chúng thường được nuôi trong ruộng lúa, ao hồ nước đọng (là những nơi có thể bị ô nhiễm kim loại nặng từ phân bón, thuốc trừ sâu, nước thải công nghiệp hay từ quá trình khai thác khoáng sản trong khu vực) nên chúng rất dễ hấp thu kim loại nặng. Mặc dù, cá rô đồng rất quan trọng ở Việt Nam, nhưng có tương đối ít thông tin về tác động của Pb và Cd, đặc biệt là đối với sự tích tụ, đào thải và căng thẳng sinh lý.

Đề tài luận án “Nghiên cứu quá trình tích lũy, đào thải và ảnh hưởng của chì (Pb), Cadimi (Cd) đến lượng glycogen, insulin, cortisol trong cá rô đồng (*Anabas testudineus*)” nhằm mục đích giải quyết các vấn đề sau:

- Tìm ra ngưỡng độc cấp tính (LC50 trong 96 giờ) của từng kim loại Pb và Cd đối với cá rô đồng.

Nguyễn Cửu Khoa

- Tìm ra tác động độc hại của Pb và Cd đến sự thay đổi nồng độ cortisol, insulin trong máu và glycogen trong gan, đây là những dấu hiệu sinh học quan trọng để đánh giá mức độ căng thẳng sinh lý do phơi nhiễm kim loại nặng.

- Tìm ra quy luật tích tụ Pb và Cd trong các bộ phận cơ thể (gan, mang và thịt) của cá rô đồng. Ngoài ra, khả năng tự làm sạch của cá rô đồng phơi nhiễm Pb và Cd cũng được theo dõi dựa trên tỷ lệ đào thải của các kim loại này nhằm cung cấp thông tin cho các hoạt động nuôi cá, đảm bảo nguồn thực phẩm an toàn và giảm thiểu rủi ro cho sức khỏe người tiêu thụ thực phẩm.

Vì vậy đề tài vừa có ý nghĩa khoa học, vừa có ý nghĩa thực tiễn.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước, tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong các trích dẫn tài liệu tham khảo

- Đề tài nghiên cứu không trùng lặp so với các công trình, luận văn, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước.

- Các tài liệu tham khảo được trích dẫn trung thực, rõ ràng và đầy đủ.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với ngành và mã số chuyên ngành đào tạo

- Tên đề tài hoàn toàn phù hợp với nội dung nghiên cứu.

- Nội dung nghiên cứu của đề tài luận án phù hợp với chuyên ngành Hóa vô cơ.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của các phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu trong luận án.

- Thí nghiệm độc cấp tính (LC50 trong 96 giờ) của Pb và Cd ; Thí nghiệm độc tính bán trường diễn của Pb và Cd là các phương pháp thường quy.

- Các phương pháp phân tích Cd, Pb, cortisol, insulin và glycogen là các phương pháp hóa lý hiện đại có độ chính xác và tin cậy cao.

- Do đó các kết quả, các kết luận của luận án là hợp lý, khoa học.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống; ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của các kết quả đó

- Đã tìm được ngưỡng độc tính cấp của Pb và Cd đối với cá rô đồng, LC₅₀ 96 giờ của Pb là 120 mg/L và Cd là 38 mg/L.

- Đã tìm được quy luật tích lũy Pb và Cd đối với cá rô đồng sau 28 ngày phơi nhiễm, trong đó, thứ tự tích tụ Pb là Mang >> Gan > Thịt và thứ tự tích tụ Cd là Gan >> Mang > Thịt.

- Đã tìm được quy luật đào thải Pb và đối với cá rô đồng sau 14 ngày sống trong nước sạch, trong đó, thứ tự đào thải Pb là Mang > Gan > Thịt và thứ tự đào thải Cd là Gan >> Mang > Thịt.

- Thông qua các biểu hiện rối loạn sản xuất cortisol, insulin và phân hủy glycogen gan đã tìm ra tác động của Pb và Cd đến hoạt động của trục hạ đồi – tuyến yên – tuyến liên thận (trục HPI), tuyến tụy và chức năng gan của cá rô đồng phơi nhiễm Pb và Cd.

6. Ưu, nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án.

Luận án có kết cấu hợp lý.

- Mục tiêu của đề tài được đặt ra rất rõ ràng, cụ thể. Nội dung của luận án đã được thực hiện tốt và đáp ứng được với mục tiêu đề ra.

- Phương pháp nghiên cứu khoa học, hợp lý. Các phương pháp phân tích các đặc tính của vật liệu nền và xúc tác là các phương pháp hóa lý hiện đại có độ chính xác cao.

- Kết quả nghiên cứu được phân tích, giải thích rõ ràng, hợp lý, khoa học và đạt được mục tiêu đề ra của đề tài.

- Kết quả nghiên cứu của luận án có ý nghĩa khoa học và thực tiễn cao. Các kết luận của luận án có phù hợp với cách đặt vấn đề ở đầu luận án và có đủ sức thuyết phục.

Những điểm cần được bổ sung và sửa chữa:

- Luận án và Tóm tắt luận án còn nhiều lỗi in ấn và lỗi chính tả.

7. Nội dung luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu hội nghị khoa học nào và giá trị khoa học của các công trình đã công bố.

- Nội dung luận án đã được công bố:

+ 01 báo cáo khoa học trong Hội nghị khoa học Hóa phân tích toàn quốc.

+ 02 báo khoa học trên tạp chí khoa học quốc tế.

- Các báo cáo khoa học của các công trình đã công bố mang tính khoa học có nội dung phù hợp nội dung nghiên cứu của luận án, đáp ứng yêu cầu đối với luận án tiến sĩ.

8. Kết luận chung:

Đề tài luận án đáp ứng yêu cầu về mặt nội dung và hình thức đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành Hóa vô cơ

Bản tóm tắt luận án phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án

Luận án có thể đưa ra bảo vệ tại Hội đồng đánh giá luận án cấp Học viện để được nhận học vị tiến sĩ.

Tp. Hồ Chí Minh, ngày 12 tháng 11 năm 2025

Người nhận xét ký tên



GS.TS. NGUYỄN CỬU KHOA

BẢN NHẬN XÉT/ PHẢN BIỆN LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Họ và tên người nhận xét/phản biện luận án: Bạch Long Giang

Học hàm, học vị: PGS.TS.

Cơ quan công tác: Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

Họ và tên nghiên cứu sinh: Đặng Nguyễn Nhã Khanh

Thầy hướng dẫn: PGS.TS. Nguyễn Thị Kim Phượng

Tên đề tài luận án: Nghiên cứu quá trình tích lũy, đào thải và ảnh hưởng của chì (Pb), cadimi (Cd) đến lượng glycogen, insulin, cortisol trong cá rô đồng.

Ngành: Hoá vô cơ

Mã số: 9 44 01 13

Nội dung nhận xét:

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài:

Trong quá trình hiện đại hóa, công nghiệp hóa cùng với sự hình thành và phát triển của các khu chế xuất, khu công nghiệp và hàng trăm ngàn cơ sở hóa chất, chế biến trên toàn quốc thì vấn đề ô nhiễm môi trường ngày càng nặng nề hơn, đặc biệt là ô nhiễm kim loại nặng dẫn đến đất, nước, trầm tích, không khí, các loài thủy sinh chịu tác động này. Những kim loại nặng độc hại khi tồn tại vượt mức cho phép trong nước sẽ xâm nhập và tích tụ trong cơ thể các sinh vật thủy sinh gây rối loạn, phá vỡ các chức năng sinh lý bình thường, làm suy yếu khả năng sinh sản và sự phát triển của chúng, ảnh hưởng đến sức đề kháng làm chúng dễ bị bệnh và tử vong. Đối với cá, việc hấp thụ kim loại nặng từ môi trường sống sẽ thông qua các bộ phận như mang, da, hệ tiêu hóa và có thể tích lũy kim loại nặng này lại trong các cơ quan như mang, gan, thận và cơ. Việc tiêu thụ các sản phẩm cá bị ô nhiễm kim loại nặng có thể gây nên những nguy hiểm tiềm tàng như ung thư, giảm khả năng đề kháng và nhiều tác động tiêu cực khác đến người tiêu dùng, đặc biệt là đối với trẻ em và phụ nữ có thai.

Cá rô đồng (*Anabas testudineus*) là loài cá vừa có giá trị dinh dưỡng, vừa có giá trị kinh tế cao đối với ngành nuôi trồng thủy sản ở Việt Nam. Tuy nhiên, do chúng thường được nuôi trong ruộng lúa, ao hồ nước đọng (là những nơi dễ bị ô nhiễm kim loại nặng từ phân bón, thuốc trừ sâu, nước thải công nghiệp hay từ quá trình khai thác khoáng sản trong khu vực) nên chúng rất dễ hấp thụ kim loại nặng. Mặc dù, cá rô đồng rất quan trọng ở Việt Nam, nhưng tương đối ít thông tin về tác động của Pb và Cd, đặc biệt là đối với sự tích tụ, đào thải và căng thẳng sinh lý. Vì vậy, đề tài "Nghiên cứu quá trình tích lũy, đào thải và ảnh hưởng của Chì (Pb), Cadimi (Cd) đến lượng glycogen, insulin, cortisol trong cá rô đồng (*Anabas testudineus*)" nhằm mục đích giải quyết các vấn đề sau:

- Tìm ra ngưỡng độc cấp tính (LC50 trong 96 giờ) của từng kim loại Pb và Cd đối với cá rô đồng.
- Tìm ra tác động độc hại của Pb và Cd đến sự thay đổi hàm lượng cortisol trong huyết tương, insulin trong máu và glycogen trong gan, đây là những dấu hiệu sinh học quan trọng

để đánh giá mức độ căng thẳng sinh lý khi cá phải sống trong môi trường ô nhiễm kim loại nặng.

- Tìm ra quy luật tích tụ Pb và Cd trong các mô (gan, mang và thịt) của cá rô đồng. Ngoài ra, khả năng tự làm sạch của cá rô đồng đã phơi nhiễm Pb và Cd cũng được theo dõi dựa trên tỷ lệ đào thải của các kim loại này nhằm cung cấp thông tin cho các hoạt động nuôi cá, đảm bảo nguồn thực phẩm an toàn và giảm thiểu rủi ro cho sức khỏe của con người.

Kết quả nghiên cứu của luận án có thể cung cấp cơ sở khoa học cho nhà quản lý trong việc định hướng sử dụng chuỗi thực phẩm theo hướng an toàn, đồng thời sử dụng các dấu hiệu sinh học như một công cụ hữu ích để giám sát ô nhiễm môi trường và cảnh báo những nguy cơ lan truyền kim loại nặng lên chuỗi thực phẩm.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo.

Đề tài luận án “Nghiên cứu quá trình tích lũy, đào thải và ảnh hưởng của chì (Pb), cadimi (Cd) đến lượng glycogen, insulin, cortisol trong cá rô đồng” với các số liệu, các kết quả nghiên cứu, các nhận xét, kết luận đã cung cấp trong báo cáo luận án cho thấy không có trùng lặp với các luận án đã bảo vệ trong nước và ngoài nước. Tài liệu trích dẫn thể hiện tính trung thực rõ ràng, đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo có liên quan đến nội dung thực hiện của luận án.

Tuy nhiên, luận án cần lưu ý rà soát thống nhất viết tài liệu tham khảo thống nhất theo quy định của cơ sở đào tạo và theo chuẩn mực.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành.

Tên đề tài của luận án “Nghiên cứu quá trình tích lũy, đào thải và ảnh hưởng của chì (Pb), cadimi (Cd) đến lượng glycogen, insulin, cortisol trong cá rô đồng” và các nội dung thực hiện trình bày trong luận án có sự tương thích phù hợp với nhau.

Nội dung các công việc thực hiện trong luận án phù hợp với chuyên ngành và mã số chuyên ngành (chuyên ngành Hoá vô cơ, mã số chuyên ngành: 9 44 01 13)

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu.

Luận văn đã sử dụng các phương pháp phân tích phù hợp, hiện tại theo các quy chuẩn và tài liệu tin cậy như: phương pháp độc cấp tính (LC_{50} trong 96 giờ) của Pb và Cd, phương pháp nghiên cứu độc tính bán trường diễn, và phương pháp phân tích hóa học cortisol, insulin, glycogen và tổng hàm lượng Cd, Pb trong cá một cách chi tiết, cụ thể và phù hợp.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống; ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó.

Phần những đóng góp mới của luận án được thể hiện trong báo cáo tóm tắt và quyền luận án, bao gồm:

- Đã tìm được ngưỡng độc tính cấp của Pb và Cd đối với cá rô đồng, LC_{50} 96 giờ của Pb là 120 mg/L và Cd là 38 mg/L.

- Đã tìm được quy luật tích lũy Pb và Cd đối với cá rô đồng sau 28 ngày phơi nhiễm, trong đó, thứ tự tích lũy Pb là Mang >> Gan > Thịt và thứ tự tích lũy Cd là Gan >> Mang > Thịt.
- Đã tìm được quy luật đào thải Pb và đối với cá rô đồng sau 14 ngày sống trong nước sạch, trong đó, thứ tự đào thải Pb là Mang > Gan > Thịt và thứ tự đào thải Cd là Gan >> Mang > Thịt.
- Thông qua các biểu hiện rối loạn sản xuất cortisol, insulin và phân hủy glycogen gan đã tìm ra tác động của Pb và Cd đến hoạt động của trục hạ đồi – tuyến yên – tuyến liên thận (trục HPI), tuyến tụy và chức năng gan của cá rô đồng phơi nhiễm Pb và Cd.

Kết quả nghiên cứu của luận án sẽ thiết lập một nền tảng cho các nghiên cứu về sinh thái và độc chất môi trường bao gồm tác động của chất ô nhiễm lên cá rô đồng và việc sử dụng các dấu ấn sinh học để đánh giá tác động tiềm ẩn của các chất ô nhiễm đối với sức khỏe con người.

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án.

Khối lượng nghiên cứu thực hiện trong luận án “Nghiên cứu quá trình tích lũy, đào thải và ảnh hưởng của chì (Pb), cadimi (Cd) đến lượng glycogen, insulin, cortisol trong cá rô đồng” được trình bày 110 trang, trong đó bao gồm:

- + Chương 1. Tổng quan nghiên cứu
- + Chương 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu
- + Chương 3. Kết quả và thảo luận
- + Chương 4. Kết luận và kiến nghị.
- + Tài liệu tham khảo

Khối lượng thực hiện luận án khá lớn, nội dung được trình bày đầy đủ chi tiết. Từ luận án cho thấy các kết quả thẩm định các phương pháp định lượng cortisol, insulin, glycogen và Pb và Cd tại mang, gan và thịt cá rô đồng, nghiên cứu ảnh hưởng của chì và cadmium đến cá rô đồng thông qua ngưỡng độc cấp tính trong 96 giờ và độc tính bán trường diễn, được trình bày chặt chẽ, có tính hệ thống.

Tuy nhiên, luận án cần chỉnh sửa một vài điểm sau:

- Phần 1.5. Bảng 1.1. Các nghiên cứu [39] và [43] chưa rõ đối tượng nghiên cứu. Tác giả bổ sung
- Bảng 1.2. nghiên cứu [48] và [49] các kim loại và loại cá này không liên quan đến nội dung nghiên cứu. Tác giả loại bỏ.
- Trong 2 bảng, cột thông tin về Năm thực hiện là không cần thiết. Tác giả loại bỏ.

CHƯƠNG 2.

Phần 2.1.3 đến 2.1.5. phần thông tin này đã được trình bày trong phần 1.3 phía trên. Tác giả loại bỏ.

Chú thích Hình 2.1. và 2.2 tương ứng với nội dung cụ thể nào

CHƯƠNG 3 KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

- Tác giả cần làm rõ hơn về những đóng góp mới của kết quả nghiên cứu triển khai trong luận cho lĩnh vực khoa học vật chất, cụ thể là Hoá vô cơ, Khoa học độc chất học trong môi trường chi tiết và cụ thể và một cách phù hợp theo đúng quy định.

Phy

7. Nội dung của luận án đã được công bố trên tạp chí, kỹ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị của các công trình đã công bố (cấp công bố WoS (SSCI, SCI/E, ESCI ...), Scopus, quốc tế có phản biện, tạp chí trong nước được tính điểm theo Hội đồng Giáo sư nhà nước ... và xếp hạng SCIMAGO).

Từ kết quả nghiên cứu của luận án, tác giả và nhóm nghiên cứu đã công bố thành công 03 bài báo đăng trên tạp chí khoa học có uy tín quốc tế, trong nước trong cộng đồng khoa học và có nội dung công bố phù hợp, có liên quan đến hướng nghiên cứu của luận án của tác giả. Trong đó, 02 bài tác giả đăng trên tạp chí thuộc danh mục SCIE và 01 bài báo đăng trên tạp chí khoa học trong nước. Các bài báo khoa học của tác giả được phản biện chặt chẽ thể hiện ở thời gian nộp bài (Received) và thời gian công bố (Published).

Bài 1.

Tên bài báo: Effects of Cadmium and Lead on Muscle and Liver Glycogen Levels of Climbing Perch (*Anabas testudineus*)

Thời gian xuất bản: 2022

Tên tạp chí: Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, ISSN: 00074861, 14320800 (thuộc SCI-E, H-index = 90, Q3).

Bài 2.

Tên bài báo: Accumulation and response to stress in climbing perch (*Anabas testudineus*) on exposure to high concentrations of lead and cadmium in water.

Thời gian xuất bản: 2022

Tên tạp chí: The European Zoological Journal, ISSN: 24750263 (thuộc SCI-E, H-index = 47, Q2).

Bài 3.

Tên bài báo: A rapid HPLC combined with UV method for the determination of blood insulin and the evaluation of the effect of Pb on insulin secretion in climbing perch (*Anabas testudineus*)

Thời gian xuất bản: 2025

Tên tạp chí: Conference Proceedings of Analytica Vietnam

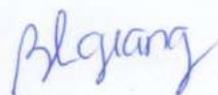
8. Kết luận chung cần khẳng định:

Luận án đã trình bày đầy đủ nội dung nghiên cứu, đáp ứng yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành Hoá vô cơ. Bản tóm tắt luận án phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án.

Luận án có thể đưa ra bảo vệ cấp Học viện để nhận bằng Tiến sĩ mà không cần gửi lại bản luận án đã sửa chữa cho phản biện.

Tp. Hồ Chí Minh, Ngày 11 tháng 11 năm 2025

Người nhận xét



PGS.TS. Bạch Long Giang

Mẫu trình bày Bản nhận /phản biện (làm 02 bản)

BẢN NHẬN XÉT/ PHẢN BIỆN LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Họ và tên người nhận xét/phản biện luận án: Nguyễn Văn Cường

Học hàm, học vị: PGS.TS

Cơ quan công tác: Trường Đại học Công nghiệp TP HCM

Họ và tên nghiên cứu sinh: Đặng Nguyễn Nhã Khanh

Thầy hướng dẫn: PGS.TS. Nguyễn Thị Kim Phụng

Tên đề tài luận án: Nghiên cứu quá trình tích lũy, đào thải và ảnh hưởng của chì (Pb), cadimi (Cd) đến lượng glycogen, insulin, cortisol trong cá rô đồng (*Anabas testudineus*)

Ngành Hóa vô cơ Mã số: 9440113

Nội dung nhận xét:

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài:

Kim loại nặng, đặc biệt là chì (Pb) và cadimi (Cd), là hai chất gây ô nhiễm phổ biến trong các thủy vực tự nhiên và hệ thống nuôi trồng thủy sản ở nhiều quốc gia đang phát triển. Các nguồn phát thải chính bao gồm: nước thải công nghiệp, khai khoáng, giao thông, chất thải điện tử, phân bón và thuốc bảo vệ thực vật. Do đặc tính không phân hủy sinh học, Pb và Cd dễ dàng tích tụ trong môi trường nước, lắng đọng xuống trầm tích và xâm nhập vào chuỗi thức ăn thủy sinh. Luận án đề cập đến hai kim loại nặng độc hại (Pb, Cd) và tác động của chúng lên cá rô đồng. Trong bối cảnh ô nhiễm kim loại nặng gia tăng, nghiên cứu có ý nghĩa khoa học – thực tiễn rất cao, từ đánh giá rủi ro môi trường đến an toàn thực phẩm thủy sản.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo.

Đề tài có mức độ mới, không trùng lặp với các nghiên cứu trước tại Việt Nam. Tài liệu tham khảo phong phú, trích dẫn rõ ràng.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành.

Tên đề tài phản ánh đúng nội dung nghiên cứu; nội dung phù hợp chuyên ngành Hóa vô cơ

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu.

Phương pháp ICP-OES, HPLC để phân tích kim loại và insuline, cortiôl, Phương pháp mô học... đều hiện đại, phù hợp mục tiêu. Các tham định phương pháp (LOD, LOQ, tuyến tính, RSD) được thực hiện đầy đủ, đảm bảo độ tin cậy.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống; ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó.

Luận án có nhiều điểm mới về mặt khoa học và thực tiễn. Trước hết, luận án lần đầu tiên xác định được giá trị LC50 96 giờ của chì (Pb) và cadimi (Cd) đối với cá rô đồng, loài cá bản địa quan trọng, từ đó xây dựng được bộ dữ liệu độc tính cấp tính có ý nghĩa tham khảo cho các nghiên cứu thủy sinh tại Việt Nam. Bên cạnh đó, luận án làm rõ quy luật tích lũy Pb và Cd ở các mô gan, mang và cơ, đồng thời chứng minh sự khác biệt động học giữa hai kim loại, đặc biệt là ái lực mạnh của Cd đối với gan và khả năng bám dính ưu thế của Pb tại mang. Một đóng góp mới quan trọng khác là việc theo dõi chi tiết quá trình đào thải Pb và Cd sau phơi nhiễm trong 14 ngày, qua đó chỉ ra tốc độ hồi phục khác nhau giữa các mô và sự lưu giữ kéo dài của Cd so với Pb.

Luận án đánh giá đồng thời ba chỉ dấu sinh lý cốt lõi : cortisol, insulin và glycogen, qua đó làm sáng tỏ mối liên hệ giữa mức độ tích lũy kim loại, phản ứng stress nội tiết và rối loạn chuyển hóa năng lượng ở cá rô đồng. Song song, luận án cung cấp bộ dữ liệu mô học về tổn thương gan, mang và thận dưới tác động của kim loại, góp phần bổ sung bằng chứng độc tính ở cấp độ cơ quan. Trên cơ sở đó, luận án đề xuất được một bộ chỉ thị sinh học (biomarkers) tiềm năng phục vụ quan trắc môi trường và đánh giá rủi ro kim loại nặng trong thủy sinh. Đây là những điểm mới có giá trị khoa học và thực tiễn rõ rệt, tạo nền tảng cho các nghiên cứu tiếp theo về độc chất học thủy sinh tại Việt Nam.

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án.

Luận án được thực hiện nghiêm túc, bố cục rõ ràng và có tính hệ thống cao. Thiết kế thí nghiệm hợp lý, bao quát cả độc tính cấp tính và bán trường diễn, giúp đánh giá toàn diện tác động của Pb và Cd trên cá rô đồng. Phương pháp phân tích hiện đại (ICP-OES, HPLC) được áp dụng đúng chuẩn, cùng với số liệu đầy đủ và trình bày mạch lạc, đảm bảo độ tin cậy cao. Luận án kết hợp hài hòa phân tích tích lũy kim loại, biến đổi sinh lý, sinh hóa và mô học, tạo ra bộ dữ liệu có giá trị khoa học và thực tiễn đáng kể. Các kết luận rút ra phù hợp, phản ánh đúng kết quả nghiên cứu và có ý nghĩa trong giám sát ô nhiễm thủy sinh.

Một số phần thảo luận còn thiên về mô tả kết quả mà chưa phân tích sâu nguyên nhân, cơ chế độc học hoặc sự khác biệt với các công bố quốc tế.

Cách viết còn thiên về dịch tiếng anh qua tiếng Việt. Phần thảo luận phần thẩm định phương pháp, phân tích Pd, Cd, insulin... mang tính liệt kê thành từng đoạn văn. Phần kết luận cần được viết lại cho phù hợp hơn.

7. Nội dung của luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị của các công trình đã công bố (*cấp công bố WoS (SSCI, SCI/E, ESCI ...), Scopus, quốc tế có phản biện, tạp chí trong nước được tính điểm theo Hội đồng Giáo sư nhà nước ... và xếp hạng SCIMAGO*).

Luận án công bố 3 công trình: 01 bài trên hệ thống SCIE – Q3; 01 trên hệ thống SCIE - Q2 và 01 bài thuộc proceeding của hội thảo quốc tế 2025. Các công trình này phản ánh nội dung chính của luận án TS.

8. Kết luận chung cần khẳng định:

Luận án đáp ứng đầy đủ yêu cầu của một luận án tiến sĩ về tính mới, độ tin cậy khoa học và ứng dụng. Bản tóm tắt phù hợp nội dung luận án. Đề nghị cho phép NCS bảo vệ ở cấp Học viện đề nhận bằng Tiến sĩ.

TP. HCM, Ngày 05 tháng 11 năm 2025

Người nhận xét



PGS.TS. Nguyễn Văn Cường

(Mẫu 7-HV-Mẫu nhận xét luận án)

BẢN NHẬN XÉT/ PHẢN BIỆN LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Người nhận xét/ Người phản biện: Trần Hoàng Phương

Học hàm, học vị: Phó giáo sư, Tiến sĩ

Cơ quan công tác: Bộ môn Hóa Hữu cơ, Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh

Họ và tên nghiên cứu sinh: Đặng Nguyễn Nhã Khanh

Tên đề tài luận án: Nghiên cứu quá trình tích lũy, đào thải và ảnh hưởng của Chì (Pb), Cadimi (Cd) đến lượng glycogen, insulin, cortisol trong cá rô đồng (*Anabas testudineus*)

Chuyên ngành: Hóa Vô cơ

Mã số: 9 44 01 13

Ý kiến nhận xét

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận án.

Luận án có tính cần thiết, tính thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn rất cao. Kết quả nghiên cứu không chỉ đóng góp các kiến thức về kim loại nặng, cụ thể là chì (Pb) và cadimi (Cd), mà còn chỉ ra sự tích lũy cũng như ảnh hưởng của 2 kim loại nặng trên đối các chức năng sinh lý bình thường cá rô đồng nói riêng và các loài thủy sinh nói chung. Từ đó, góp phần vào việc bảo vệ tài nguyên môi trường. Cụ thể:

- *Tính cần thiết của đề tài:* Hiện nay, trong quá trình công nghiệp hóa và hiện đại hóa, vấn đề ô nhiễm môi trường ngày càng nặng nề hơn, đặc biệt là ô nhiễm kim loại nặng do các khu chế xuất, khu công nghiệp và các cơ sở hóa chất thải ra môi trường. Môi trường nước bị ô nhiễm nghiêm trọng bởi kim loại nặng dẫn đến việc các loài thủy sinh cũng bị ảnh hưởng nghiêm trọng. Việc xâm nhập và tích lũy kim loại nặng vào cơ thể của các loài thủy sinh mang đến những hệ lụy nghiêm trọng những đối với việc bảo toàn hệ sinh thái mà còn ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe con người. Luận án đã chỉ ra các tác động cụ thể của Pb và Cd đối với các chức năng sinh lý của cá rô đồng, từ đó, đưa ra các kiến thức chuyên sâu hơn về việc xâm nhập, tích lũy, đào thải của cá đối với các kim loại nặng góp phần bảo vệ môi trường thông qua việc đánh giá các chỉ số ô nhiễm kim loại nặng trên mô của cá. Đồng thời, luận án cũng tập trung đánh giá sự thay đổi nồng độ của 3 yếu tố quan trọng đối với cơ thể sinh vật là glucogen, insulin và cortisol bởi các tác động trực tiếp của Pb và Cd thông qua mang, gan và thịt cho phép xác định khả năng tự làm sạch của các loài thủy sinh khi sống trong môi trường ô nhiễm kim loại.

- *Tính thời sự của đề tài:* Đề tài tập trung vào quá trình tích lũy, đào thải và ảnh hưởng của Pb và Cd trong nước đối với lượng glycogen, insulin và cortisol trong cá rô đồng. Hiện nay, vấn đề ô nhiễm kim loại nặng đang được quan tâm không chỉ ở Việt Nam mà còn trên thế giới.

- *Ý nghĩa khoa học:* Luận án đã đưa ra một nền tảng kiến thức cho nghiên cứu về sinh thái và độc chất môi trường bao gồm tác động của chất ô nhiễm lên các rô đồng. Từ các kết quả nguyên cứu, luận án chỉ ra được các quy luật về thứ tự tích lũy của từng kim loại nặng trên các cơ quan khác nhau của cơ thể cũng như thứ tự đào thải của chúng. Đồng thời cũng chỉ ra tác động của 2 kim loại trên đối với hoạt động của trục hạ đồi – tuyến yên – tuyến liên thận (trục HPI).

- *Ý nghĩa thực tiễn:* Kết quả nghiên cứu của luận án có thể cung cấp cơ sở khoa học cho nhà quản lý trong việc định hướng sử dụng chuỗi thực phẩm theo hướng an toàn, đồng thời sử dụng các dấu hiệu sinh học như một công cụ hữu ích để giám sát ô nhiễm môi trường và cảnh báo những nguy cơ lan truyền kim loại nặng lên chuỗi thức ăn.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo.

- Nội dung nghiên cứu của đề tài không trùng lặp với các công trình đã công bố, các luận án ở trong và ngoài nước trước đây.

- Luận án đã trích dẫn các tài liệu tham khảo một cách trung thực, rõ ràng và đầy đủ.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành.

- Tên đề tài hoàn toàn phù hợp với nội dung luận án.

- Nội dung luận án hoàn toàn phù hợp với chuyên ngành Hóa Vô cơ, mã số chuyên ngành (MS 9 44 01 13).

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu.

- Các phương pháp xác định nồng độ thông qua phương pháp RP-HPLC/UV, ICP-OES là hoàn toàn đáng tin cậy.

- Các phương pháp thẩm định phân tích phù hợp tuân theo các phương pháp phổ biến trong nghiên cứu khoa học.

- Thống kê được phân tích bằng ANOVA sử dụng phần mềm SPSS.

- Các phương pháp nghiên cứu được lựa chọn sử dụng là hiện đại và có độ tin cậy cao, phù hợp với lĩnh vực nghiên cứu Hóa Vô cơ ở trong nước và thế giới. Điều này đã được khẳng định bởi số lượng các công trình khoa học đã được đăng tải trên các tạp chí chuyên ngành trong và ngoài nước.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống; ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó.

- NCS đã tìm ra được ngưỡng độc tính cấp của Pb và Cd đối với cá rô đồng, LC₅₀ 96 giờ của Pb là 120 mg/L và Cd là 38 mg/L.

- Đã tìm ra quy luật tích lũy Pb và Cd đối với cá rô đồng sau 28 ngày lần lượt là Mang>>Gan>Thịt đối với Pb và Gan>>Mang>Thịt đối với Cd., đồng thời cũng tìm ra quy luật đào thải Pb và Cd.

- Thông qua các biểu hiện rối loạn sản xuất cortisol, insulin và phân hủy glycogen đã tìm ra cơ chế tác động liên quan đến trục hạ đồi – tuyến yên – tuyến liên thận (HPI), tuyến tụy và chức năng gan.

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án.

Ưu điểm:

- Luận án có nội dung khoa học, logic, các kết quả nghiên cứu có ý nghĩa khoa học và thực tiễn.

- Luận án đầy đủ các phần của một luận án Tiến sĩ gồm: Mở đầu (3 trang), Tổng quan (27 trang), Thực nghiệm (12 trang), Kết quả và thảo luận (55 trang), Kết luận và kiến nghị (2 trang).

- Tổng quan đầy đủ các nội dung và đối tượng liên quan đến đề tài, cập nhật và phong phú, hình ảnh rõ ràng.

- Phần thực nghiệm mô tả chi tiết quy trình xử lý mẫu, các điều kiện vận hành máy để phân tích các chỉ tiêu khảo sát. Đưa ra đầy đủ các công thức tính toán số liệu có trong luận án cũng như sơ đồ mô tả quy trình được thể hiện một cách cô đọng, dễ quan sát.

- Thảo luận về kết quả thực nghiệm đầy đủ. Phân giải thích, nhận xét chi tiết và rõ ràng phù hợp với kết quả khảo sát, và có so sánh cũng như dẫn ra các tài liệu tham khảo khác để đối chiếu.

- Kết luận rõ ràng, súc tích các vấn đề trong luận án.

- Luận án được trình bày đẹp, rõ ràng, dễ theo dõi.

- Luận án được viết chính chu, ít lỗi chính tả và định dạng.

- Tài liệu tham khảo đa dạng và cập nhật.

Nhược điểm:

Tuy nhiên, cần phải chỉnh lại một số vấn đề về cách trình bày để luận văn rõ ràng và thống nhất.

- Danh mục từ viết tắt còn thiếu quá nhiều trong luận án. Tên đầy đủ của từ viết tắt nên được xuất hiện đầu tiên khi được đề cập đến. Cụ thể như trang 6, PCB, DDT chưa có tên đầy đủ - > khó theo dõi.

- Toàn văn bản nên thống nhất danh pháp tiếng Anh hay tiếng Việt. Sửa lỗi danh pháp sai tại Bảng 2.3 và toàn văn.
- Acid nitrite?
- “Kali iodide” -> “Potassium iodide”, cadimi clorua -> cadmium chloride, “canxi” -> calci.
- Giãn dòng 1.5 thống nhất cho toàn văn.
- Danh mục công trình đã công bố nên để sau danh mục tài liệu tham khảo.
- Liên kết “ α -1,4-glycoside” nên được chỉnh lại trong Hình 1.6 cho đúng danh pháp.
- Trang 34, thêm nồng độ chính xác của NaCl.
- Trang 56, tại Hình 3.12 và 3.13 nên đánh ký hiệu a,b,c,... cho các hình. Tương tự cho trang 57.
- Thống nhất các ký hiệu liệt kê từng đoạn kết quả trong luận án.
- Chỉnh sửa các lỗi viết công thức hóa học như: H₂O, Pb²⁺.
- Trang 88, các tài liệu tham khảo dùng để so sánh với kết quả nghiên cứu nên được nêu rõ các kết quả đã đạt được để thể hiện rõ vấn đề mà luận án đang cần so sánh với các tài liệu tham khảo.

Câu hỏi:

- Trang 32, giai đoạn đầu ly tâm máu tại sao không cần điều chỉnh nhiệt độ thấp. Nhiệt độ cao, các tế bào hồng cầu bị vỡ có làm ảnh hưởng đến kết quả phân tích phía sau hay không? Vai trò của bước thêm NaOH 0.1 M tại quy trình xử lý mẫu Hình 2.3.
- Tại sao nghiên cứu sinh chọn 2 kim loại nặng là Pb và Cd để thực hiện khảo sát?
- Tại sao chọn các tỷ lệ khảo sát đối với Pb là 1/6, 1/4, 1/3 giá trị LC₅₀ còn Cd là 1/12, 1/8 và 1/4.
- Khi trong môi trường ô nhiễm có sự tồn tại của kim loại nặng khác thì quá trình tích lũy, đào thải của Pb và Cd có sự khác biệt như thế nào cũng như có ảnh hưởng đến 3 yếu tố đáng được khảo sát là glycogen, insulin và cortisol hay không?
- Trang 45, phương trình hồi quy tuyến tính của Pb có giá trị b âm (-1388), đường chuẩn được dựng từ 0,02 đến 0,5 mg/L -> các giá trị x xác định trong khoảng 0.02 – 0.5 mg/L đều có kết quả nồng độ Pb < 0?
- Ảnh mô học nên được thêm trực kích thước chuẩn của trước và sau phơi nhiễm để có thể so sánh sự thay đổi kích thước nếu cần?
- Trang 79, Cd²⁺ và Ca²⁺ có bán kính tương tự nhau nên có sự cạnh tranh với nhau? Nồng độ Ca²⁺ thể hiện sự cạnh tranh ảnh hưởng như thế nào đối với tích lũy và đào thải Cd²⁺?

7. Nội dung luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu hội nghị khoa học nào và giá trị khoa học của các công trình đã công bố.

Nội dung luận án đã được công bố trên 02 tạp chí quốc tế và 1 hội thảo trong nước:

[1]. Dang Nguyen Nha Khanh, Ngo Thi Tuong Vy, Tran Ha Phuong, Pham Tuan Nhi, Nguyen Quoc Thang, Do Trung Sy, Nguyen Thi Kim Phuong. Effects of Cadmium and Lead on

Muscle and Liver Glycogen Levels of Climbing Perch (*Anabas testudineus*), Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 108, 854 – 860, 2022

[2]. D. N. Nha Khanh, N. T. Tuong Vy, N. Quoc Thang, D. Trung Sy, B. Quang Minh, N. The Anh, D. V. Bao Tran, L. Khue Tu & N. T. Kim Phuong. Accumulation and response to stress in climbing perch (*Anabas testudineus*) on exposure to high concentrations of lead and cadmium in water. The European Zoological Journal, 89, 877 – 887, 2022.

[3]. Dang Nguyen Nha Khanh, Ngo Thi Tuong Vy, Doan Thi Minh Phuong, Nguyen Quoc Thang, Nguyen Thi Kim Phuong. A Rapid HPLC combined with UV method for the determination of blood insulin and the evaluation of the effect of Pb on insulin secretion in climbing perch (*Anabas testudineus*). Conference Proceedings of analytica Vietnam 2025, session 2.

Các công trình này đều công bố có nội dung liên quan đến luận án trong lĩnh vực Hóa Vô cơ. Số lượng và chất lượng các công trình hoàn toàn phù hợp với yêu cầu của một luận án Tiến sĩ.

8. Kết luận chung cần khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành.

- Luận án đáp ứng đầy đủ yêu cầu về nội dung và hình thức đối với một luận án Tiến sĩ chuyên ngành.
- Bản tóm tắt luận án phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án.
- Luận án có thể đưa ra bảo vệ cấp Học viện để nhận học vị Tiến sĩ.

Tp. Hồ Chí Minh, ngày 05 tháng 11 năm 2025

Người nhận xét



PGS.TS. Trần Hoàng Phương



(Mẫu 8-HV-Mẫu nhận xét luận án)

Mẫu trình bày Bản nhận /phản biện (làm 02 bản)

BẢN NHẬN XÉT/ PHẢN BIỆN LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Họ và tên người nhận xét/phản biện luận án: Đào Phạm Duy Quang

Học hàm, học vị: Tiến sĩ

Cơ quan công tác: Viện Công nghệ Tiên tiến

Họ và tên nghiên cứu sinh: Đặng Nguyễn Nhã Khánh

Thầy hướng dẫn: PGS. TS. Nguyễn Thị Kim Phụng

Tên đề tài luận án: Nghiên cứu quá trình tích lũy, đào thải và ảnh hưởng của chì (Pb), cadimi (Cd) đến lượng glycogen, insulin, cortisol trong cá rô đồng

Ngành: Hóa Vô cơ

Mã số: 9 44 01 13

Nội dung nhận xét:

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài:

Đề tài tập trung nghiên cứu tác động của hai kim loại nặng Pb và Cd lên môi trường thủy sinh, cụ thể trên đối tượng nghiên cứu là cá rô đồng. Trong bối cảnh công nghiệp hóa mạnh mẽ, đánh giá ảnh hưởng của các kim loại này đến loài cá có giá trị kinh tế như cá rô đồng là hết sức cấp thiết. Đề tài có ý nghĩa khoa học rõ rệt khi góp phần cung cấp dữ liệu về các độc chất, đồng thời có ý nghĩa thực tiễn cao trong giám sát môi trường, quản lý nuôi trồng thủy sản và cảnh báo an toàn thực phẩm.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận văn, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo.

Luận án thể hiện rõ tính độc lập, không trùng lặp với các công trình trong và ngoài nước. Tác giả đã trích dẫn 112 tài liệu tham khảo bao gồm sách chuyên khảo, bài báo khoa học quốc tế, bài báo trong nước và các tiêu chuẩn môi trường. Các tài liệu trải dài trong giai đoạn 1970 đến 2023, trong số đó có nhiều tài liệu mới thuộc giai đoạn 2018–2023, phản ánh sự cập nhật kịp thời các tiến bộ trong lĩnh vực độc chất học thủy sinh, kim loại nặng, chỉ thị sinh học và kỹ thuật phân tích. Các nguồn trích dẫn được ghi đầy đủ, chính xác và tuân thủ đúng quy định về trích dẫn học thuật. Tác giả thực hiện nghiêm túc cam kết về tính trung thực của số liệu và các kết quả được trình bày trong luận án.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành.

Tên đề tài phản ánh đúng và đầy đủ nội dung nghiên cứu đã thực hiện. Các nội dung triển khai phù hợp với chuyên ngành Hóa vô cơ, đặc biệt trong mảng độc chất kim loại, phân tích hóa học và tác động sinh hóa của ion kim loại trên sinh vật thủy sinh.

4. *Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu.*

Các phương pháp phân tích sử dụng trong luận án (ICP-OES, HPLC-UV, quang phổ UV-Vis, phân tích mô học) đều phù hợp với nội dung nghiên cứu, đáng tin cậy, được thẩm định đầy đủ thông qua các chỉ tiêu LOD, LOQ, độ lặp lại, độ thu hồi. Thiết kế thí nghiệm độc tính cấp – bán trường diễn – thôi nhiễm phù hợp với chuẩn OECD. Nhìn chung, hệ phương pháp đạt yêu cầu cao về tính khoa học và độ tin cậy.

5. *Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống; ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó.*

Các kết quả có ý nghĩa khoa học trong lĩnh vực độc chất học môi trường và ý nghĩa thực tiễn trong giám sát ô nhiễm nước, cảnh báo rủi ro với sản phẩm thủy sản. Luận án có nhiều kết quả mới và có hàm lượng khoa học cao, giá trị:

- Xác định được LC₅₀ 96 giờ của Pb và Cd đối với cá rô đồng (Pb: 120 mg/L; Cd: 38 mg/L).
- Làm rõ quy luật tích lũy – đào thải Pb, Cd trong các mô gan, mang và cơ thịt.
- Lần đầu tiên đánh giá đồng thời ba chỉ dấu sinh lý quan trọng (cortisol, insulin, glycogen) dưới tác động của Pb và Cd trên cá rô đồng.
- Chỉ ra những rối loạn nội tiết – chuyển hóa đặc trưng khi cá phơi nhiễm kim loại nặng.

6. *Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án.*

Ưu điểm:

- Nội dung nghiên cứu được triển khai toàn diện, bao quát đầy đủ các khía cạnh từ xác định độc tính cấp, khảo sát quá trình tích lũy – đào thải cho đến đánh giá các chỉ dấu sinh lý – sinh hóa chịu tác động của Pb và Cd.
- Các mục tiêu đề ra đều được giải quyết rõ ràng, có luận cứ và dữ liệu minh chứng; nội dung giữa các chương liên kết mạch lạc, thể hiện sự phát triển logic của vấn đề nghiên cứu.
- Phần tổng quan được xây dựng công phu, cập nhật nhiều tài liệu mới, phản ánh đầy đủ bối cảnh khoa học và giúp định vị hướng nghiên cứu của luận án trong xu thế chung trên thế giới.
- Phần kết quả và thảo luận có chiều sâu, không chỉ dừng lại ở mô tả số liệu mà còn phân tích cơ chế tác động, so sánh với các nghiên cứu quốc tế, từ đó làm nổi bật các điểm mới và giá trị đóng góp của luận án.
- Các biểu đồ, bảng số liệu và phân tích hỗ trợ nội dung rất hiệu quả, góp phần tăng tính trực quan và giúp người đọc dễ dàng đánh giá độ tin cậy của kết quả.

- Nội dung luận án gắn kết chặt chẽ với thực tiễn, đặc biệt trong bối cảnh ô nhiễm kim loại nặng tại Việt Nam, tạo ra các luận cứ quan trọng cho giám sát môi trường và đánh giá an toàn thủy sản.

Nhược điểm

- Thời gian phơi nhiễm và thôi nhiễm tương đối ngắn (28 ngày + 14 ngày), chưa phản ánh đầy đủ các tác động dài hạn hoặc mãn tính của kim loại nặng đối với hệ sinh học của cá.

- Phần thảo luận cơ chế chưa có các phân tích ở mức phân tử hoặc tế bào để chứng minh rõ hơn cơ chế hình thành rối loạn nội tiết – chuyển hóa khi cá tiếp xúc với Pb và Cd.

- Sự tương tác giữa Pb và Cd trong điều kiện phơi nhiễm hỗn hợp chưa được khảo sát; trong khi thực tế môi trường thường xuất hiện nhiều kim loại đồng thời.

- Phần đánh giá rủi ro đối với sức khỏe con người khi tiêu thụ cá nhiễm kim loại nặng mới chỉ dừng ở mức gợi ý, chưa có phân tích định lượng.

7. *Nội dung của luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị của các công trình đã công bố.*

Nghiên cứu sinh đã công bố ba công trình khoa học, trong đó có hai bài báo quốc tế thuộc danh mục WoS (Q2) và một bài trong kỷ yếu hội nghị quốc tế có phản biện. Các công bố đáp ứng đầy đủ yêu cầu của Học viện.

8. *Kết luận chung cần khẳng định:*

- Luận án đáp ứng đầy đủ yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ Khoa học vật chất: có tính mới, có giá trị khoa học – thực tiễn, phương pháp đáng tin cậy và có công bố quốc tế chất lượng.

- Bản tóm tắt phản ánh trung thực và đầy đủ nội dung luận án.

- Tác giả Đặng Nguyễn Nhã Khanh hoàn toàn đủ điều kiện để bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện và đề nghị xem xét cấp bằng Tiến sĩ theo quy định.

Tp. Hồ Chí Minh, Ngày 14 tháng 11 năm 2025

Người nhận xét



Đào Phạm Duy Quang

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Họ tên người nhận xét: Trần Ngọc Quyên

Học hàm, học vị: PGS. TS.

Cơ quan công tác: Viện Công nghệ tiên tiến – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ VN

Họ tên nghiên cứu sinh: Đặng Nguyễn Nhã Khanh

Tên đề tài: Nghiên cứu quá trình tích lũy, đào thải và ảnh hưởng của chì (Pb), cadimi (Cd) đến lượng glycogen, insulin, cortisol trong cá rô đồng (*Anabas Testudineus*)

Chuyên ngành: Hóa vô cơ

Mã số: 9.44.01.13

Ý KIẾN NHẬN XÉT

1. Tính cần thiết và tính thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài:

Trong những năm gần đây, sự phát triển nhanh chóng các khu công nghiệp-nhà máy ở các tỉnh thành làm gia tăng chất thải chứa các ion kim loại nặng ra môi trường nước làm ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe con người và sự phát triển của thủy sinh vật. Việc tích lũy kim loại nặng trong động thực vật về lâu dài gây nguy hiểm cho con người khi dùng nó làm nguồn thực phẩm. Do đó vấn đề nghiên cứu sự tích lũy và đào thải ion kim loại nặng cũng như ảnh hưởng của chúng lên hệ nội tiết các loại cá sống trong môi trường nước được nghiên cứu nhiều trên thế giới nên hướng nghiên cứu của NCS có ý nghĩa khoa học và thực tiễn cao.

2. Sự không trùng lặp của đề tài:

Nội dung của LA đã được thực hiện ở các Trường Đại học và Viện nghiên cứu trong và ngoài nước của chính nhóm tác giả. Kết quả của LA Không trùng lặp với các đề tài luận án của các nhóm nghiên cứu khác.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành:

Nội dung của LA phù hợp với chuyên ngành và mã số chuyên ngành



4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu:

Hướng nghiên cứu của nghiên cứu sinh được hướng dẫn bởi Cô hướng dẫn là các chuyên gia đầu ngành trong lĩnh vực hóa vô cơ và độc chất môi trường nên các nội dung nghiên cứu khá hợp lý.

Trong LA Nghiên cứu sinh sử dụng các phương pháp:

- Thiết kế các thí nghiệm để xác định ngưỡng độc cấp tính (LC50) để đưa ra mô hình thực nghiệm nuôi cá rô đồng trong môi trường nước chứa các các ion kim loại nặng (Pb, Cd) sau đó đánh giá sự tích lũy và đào thải ion kim loại nặng cũng như ảnh hưởng của chúng đến lượng insulin, cortisol và glycogen trong Cá. Định hướng nghiên cứu là hợp lý.

- NCS sử dụng các thiết bị nghiên cứu hiện đại như: quang phổ hoặc khối phổ phát xạ cao tầng plasma (ICP-OES hay ICP-MS), HPLC để xác định các ion kim loại tích lũy trong Cá; sử dụng sắc ký lỏng hiệu năng cao để xác định hàm lượng hóc-môn hay glycogen trong Cá bị gây phơi nhiễm kim loại nặng; sử dụng hệ thiết bị HPLC-UV-HG-AAS để đánh giá Cd, Pb, cortisol, Insulin và glycogen trong Cá; NCS cũng thiết lập các phương pháp phân tích cho từng ion kim loại 1 cách khoa học nên các kết quả thu được có độ tin cậy cao.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả: những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành, ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy...

- Đã xác định được 2 quy luật tích lũy Cd, Pb trong cá rô đồng bị gây phơi nhiễm ion kim loại nặng theo thứ tự tương ứng như sau: mang >> Gan > thịt cá (Cd), mang >> gan > thịt cá (Pb) .

- Đã xác định được 2 quy luật đào thải Cd, Pb ra khỏi cá như sau: gan >> mang > thịt cá (Cd), gan > mang > thịt cá (Pb).

- Cá rô đồng bị phơi nhiễm ion kim loại nặng Cd, Pb gây tăng sinh cortisol, giảm Insulin, và tăng phân giải glycogen trong cá.

6. Những ưu điểm và thiếu sót, những điểm cần được bổ sung và sửa chữa:



- ✓ Luận án được trình bày tốt với nội dung thực hiện phong phú và bố cục rõ ràng. Kết quả thu được từ các thí nghiệm được phân tích và biện luận rõ. Các kết quả được phân tích thống kê cho thấy độ tin cậy cao.
- ✓ Luận án có những điểm cần lưu ý:
 - Việt hóa một số từ, cụm từ tiếng Anh và thống nhất trình bày tên hóa chất và một số lỗi câu từ khác đã được chỉ ra.
 - Sửa lỗi sai về hàm lượng Cd trong nước biển (lớn hơn thực tế rất nhiều).
 - Đoạn 2 trang 28 về than trọng và chiều dài của cá chưa trưởng thành và trưởng thành là chưa hợp lý.
 - Trang 48, Cần xem lại phương pháp xác định LC50
 - Xem lại thuật ngữ sử dụng là thịt khô, gan khô trong toàn luận án, không đúng với quy trình mô tả.
 - Ảnh mô học → Hình ảnh nhuộm hóa mô H&E, nếu phân tích đến mức tế bào gan thì nên dùng hình nhuộm hóa mô với độ phóng đại lớn hơn.
 - Kết luận viết quá ngắn gọn chưa bao hàm hết các kết quả nghiên cứu nổi bật
 - Một số vấn đề cần làm rõ thêm:

Vì sao cùng là cation kim loại nhưng tích lũy của Cd và Pb trong mang cá và gan cá ở trang 93 lại khác nhau.

7. Nội dung của luận án đã được công bố trên tạp chí và giá trị khoa học của các công trình đã công bố có liên quan đến luận án:

Học viên đã công bố được 2 bài báo trên các tạp chí thuộc danh mục SCIE (Bulletin of Environmental Contamination and Toxicity (Q2, IF 2.2) và The European Zoological Journal (Q2, IF 1.4)

8. Kết luận về việc luận án có đáp ứng yêu cầu của một LATS hay không?

- Kết quả đạt được của LA đáp ứng các yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành hóa vô cơ
- Bản tóm tắt luận án phản ánh trung thực nội dung cơ bản của luận án
- Luận án có thể đưa ra bảo vệ cấp Học Viện



Dù có một số thiếu sót nhỏ cần chỉnh sửa nhưng với các kết quả đạt được có giá trị khoa học cao, LA có thể được bảo vệ ở cấp Học Viện.

Tp.HCM, ngày 11 tháng 11 năm 2025

Người nhận xét

A handwritten signature in blue ink, consisting of a stylized, cursive script. The signature is positioned above a horizontal line.

Trần Ngọc Quyền

BẢN NHẬN XÉT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Tên đề tài: **NGHIÊN CỨU QUÁ TRÌNH TÍCH LŨY, ĐÀO THẢI VÀ ẢNH HƯỞNG CỦA CHÌ (Pb), CADMI (Cd) ĐẾN LƯỢNG GLYCOGEN, INSULIN, CORTISOL TRONG CÁ RÔ ĐỒNG**

Chuyên ngành: Hóa Vô Cơ Mã số: 9440113

Họ và tên nghiên cứu sinh: Đặng Nguyễn Nhã Khanh

Người hướng dẫn: PGS.TS. Nguyễn Thị Kim Phụng

Người nhận xét/ Người phản biện: PGS.TS. Trần Quang Hiếu

Cơ quan công tác: Trường Đại học Công nghệ Sài Gòn

Ý KIẾN NHẬN XÉT

1. Tính cần thiết, thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận án.

Trong bối cảnh công nghiệp hóa ngày càng phát triển, việc gia tăng ô nhiễm môi trường bởi các kim loại nặng độc hại như chì (Pb) và cadimi (Cd) đã trở thành một vấn đề cấp bách. Các kim loại này không chỉ xâm nhập vào nguồn nước mà còn tích tụ trong cơ thể các sinh vật thủy sinh, gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến chức năng sinh lý, khả năng sinh sản và sự phát triển của chúng. Đặc biệt, việc tiêu thụ các sản phẩm thủy sản bị ô nhiễm kim loại nặng có thể gây nguy hiểm trực tiếp đến sức khỏe con người, đặc biệt là đối với trẻ em và phụ nữ mang thai. Cá rô đồng, một loài cá có giá trị kinh tế cao và được nuôi trồng rộng rãi tại Việt Nam, cũng không tránh khỏi nguy cơ ô nhiễm này. Tuy nhiên, hiện nay, thông tin về tác động của Pb và Cd đối với loài cá này còn hạn chế, đặt ra yêu cầu cấp thiết về việc nghiên cứu sâu rộng hơn để đánh giá rủi ro và đưa ra các giải pháp quản lý phù hợp.

Vấn đề ô nhiễm kim loại nặng đang ngày càng trở nên nghiêm trọng ở Việt Nam và trên thế giới, thu hút sự quan tâm lớn từ cộng đồng. Người tiêu dùng ngày càng chú trọng đến chất lượng và an toàn của thực phẩm, đặc biệt là các sản phẩm thủy sản. Điều này đòi hỏi các nhà quản lý và các nhà khoa học phải có những nghiên cứu chuyên sâu để đánh giá nguy cơ và đưa ra các biện pháp kiểm soát hiệu quả. Đề tài luận án này, tập trung vào nghiên cứu tác động của Pb và Cd đối với cá rô đồng, là một nghiên cứu có tính thời sự cao, đáp ứng được nhu cầu cấp thiết của xã hội trong việc bảo vệ môi trường và sức khỏe cộng đồng.

Ý nghĩa khoa học của đề tài luận án

Nghiên cứu này không chỉ đơn thuần là đánh giá mức độ ô nhiễm mà còn góp phần thiết lập một nền tảng vững chắc cho các nghiên cứu về sinh thái và độc chất môi trường. Bằng cách sử dụng các dấu ấn sinh học như cortisol, insulin và glycogen, luận án đi sâu vào đánh giá tác động tiềm ẩn của Pb và Cd đối với sức khỏe của cá rô đồng.

Bên cạnh đó, việc xác định cơ chế tác động của các kim loại này đến các chức năng sinh lý quan trọng, như hoạt động của trục hạ đồi – tuyến yên – tuyến thượng thận (HPI), chức năng tuyến tụy và gan, sẽ mở ra hướng đi mới cho các nghiên cứu về độc học môi trường. Đặc biệt, việc xác định quy luật tích lũy và đào thải Pb và Cd ở các bộ phận khác nhau của cơ thể cá rô đồng sẽ cung cấp những thông tin quan trọng để đánh giá mức độ phơi nhiễm và khả năng phục hồi của loài cá này.

Ý nghĩa thực tiễn của đề tài luận án

Kết quả nghiên cứu này không chỉ có giá trị về mặt lý thuyết mà còn mang ý nghĩa thực tiễn to lớn. Các nhà quản lý, nghiên cứu có thể sử dụng các dấu hiệu sinh học được xác định trong luận án như một công cụ tham khảo để giám sát ô nhiễm môi trường và đưa ra các cảnh báo kịp thời về nguy cơ lan truyền kim loại nặng qua thực phẩm. Thông tin về quy luật tích lũy và đào thải Pb và Cd cũng sẽ giúp các nhà quản lý và người nuôi trồng đưa ra các quyết định phù hợp để giảm thiểu ô nhiễm và đảm bảo an toàn thực phẩm. Quan trọng hơn, nghiên cứu này góp phần vào việc bảo vệ sức khỏe cộng đồng thông qua việc đảm bảo nguồn cung cấp thực phẩm an toàn và chất lượng, đồng thời thúc đẩy sự phát triển bền vững của ngành nuôi trồng thủy sản tại Việt Nam.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình, luận án đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo.

Luận có nhiều điểm mới, không trùng lặp với các nghiên cứu trước đây trong nước và nước ngoài. Các trích dẫn rõ ràng đầy đủ phù hợp với nội dung.

3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung, giữa nội dung với chuyên ngành và mã số chuyên ngành.

Tên đề tài, nội dung đề tài và chuyên ngành cũng như mã số chuyên ngành phù hợp với quy định chung.

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp đã sử dụng để nghiên cứu.

Phương pháp nghiên cứu được xây dựng hợp lý, logic có sự tham khảo từ các công bố quốc tế uy tín. Bộ số liệu thu được dựa trên các thiết bị hiện đại. Do đó, số liệu thu được có độ tin cậy và chính xác cao.

5. Kết quả nghiên cứu mới của tác giả; những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành; đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống; ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó.

- Đã xác định được ngưỡng độc cấp tính (LC50 trong 96 giờ) của Pb và Cd đối với cá rô đồng, cụ thể là LC50 96 giờ của Pb là 120 mg/L và của Cd là 38 mg/L. Đây là thông tin quan trọng để đánh giá mức độ nhạy cảm của cá rô đồng với các kim loại này và làm cơ sở cho các nghiên cứu độc tính tiếp theo.
- Đã xác định được quy luật tích lũy Pb và Cd trong cơ thể cá rô đồng sau 28 ngày phơi nhiễm. Thứ tự tích lũy Pb là Mang >> Gan > Thịt và thứ tự tích lũy Cd là Gan >> Mang > Thịt. Điều này cho thấy sự khác biệt trong khả năng tích lũy và

phân bố của Pb và Cd trong các cơ quan khác nhau của cá, có thể liên quan đến cơ chế hấp thụ, vận chuyển và đào thải của từng kim loại.

- Đã xác định được quy luật đào thải Pb và Cd ở cá rô đồng sau 14 ngày sống trong nước sạch. Thứ tự đào thải Pb là Mang > Gan > Thịt và thứ tự đào thải Cd là Gan >> Mang > Thịt. Kết quả này cho thấy khả năng tự làm sạch của cá rô đồng đối với Pb và Cd, cũng như sự khác biệt trong tốc độ đào thải của từng kim loại khỏi các cơ quan khác nhau.
- Thông qua các biểu hiện rối loạn sản xuất cortisol, insulin và phân hủy glycogen gan, nghiên cứu đã chỉ ra tác động của Pb và Cd đến hoạt động của trục hạ đồi - tuyến yên - tuyến liên thận (HPI), tuyến tụy và chức năng gan của cá rô đồng phơi nhiễm. Đây là những bằng chứng về tác động độc hại của Pb và Cd đến các hệ thống nội tiết và chuyển hóa quan trọng của cá.

Những đóng góp mới cho sự phát triển khoa học chuyên ngành:

- Nghiên cứu này cung cấp những thông tin mới và chi tiết về độc tính cấp tính và bán trường diễn của Pb và Cd đối với cá rô đồng, một loài cá có giá trị kinh tế quan trọng ở Việt Nam.
- Việc xác định quy luật tích lũy và đào thải Pb và Cd ở các cơ quan khác nhau của cá rô đồng giúp hiểu rõ hơn về cơ chế hấp thụ, vận chuyển và đào thải kim loại nặng trong cơ thể sinh vật.
- Nghiên cứu này góp phần làm sáng tỏ tác động của Pb và Cd đến hệ nội tiết và chuyển hóa của cá rô đồng, một lĩnh vực còn ít được nghiên cứu.

Đóng góp mới phục vụ cho sản xuất, kinh tế, quốc phòng, xã hội và đời sống:

- Kết quả nghiên cứu giúp người nuôi trồng và nhà quản lý có thêm thông tin để đưa ra các biện pháp quản lý và giảm thiểu ô nhiễm, đảm bảo chất lượng và an toàn của sản phẩm cá rô đồng, từ đó nâng cao giá trị kinh tế.
- Nghiên cứu cung cấp thông tin cho cộng đồng về nguy cơ ô nhiễm kim loại nặng và tác động của nó đến sức khỏe, giúp nâng cao nhận thức và thay đổi hành vi tiêu dùng để bảo vệ sức khỏe bản thân và gia đình.

Ý nghĩa khoa học, giá trị và độ tin cậy của những kết quả đó:

- Các kết quả nghiên cứu có ý nghĩa khoa học quan trọng trong việc bổ sung kiến thức về độc tính của kim loại nặng đối với sinh vật thủy sinh, làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo về cơ chế tác động và ảnh hưởng của ô nhiễm kim loại nặng đến hệ sinh thái.
- Việc sử dụng các phương pháp phân tích hiện đại như HPLC-RP, ICP-OES và được thẩm định cũng như bố trí thí nghiệm hợp lý nên các kết quả nghiên cứu có độ tin cậy cao.

6. Ưu điểm và nhược điểm về nội dung, kết cấu và hình thức của luận án.

Ưu điểm: luận án được trình bày sạch đẹp, bố cục gọn gàng, đầy đủ các nội dung.

Nhược điểm:

-Xem xét lại cách dùng kí hiệu Pb, Cd thì người đọc hiểu rằng đây là các kim loại tự do, trong khi thực tế mô hình là thêm các muối $Pb(CH_3COO)_2$ và $CdCl_2$. Vì thế, nên dùng Pb^{2+} , Cd^{2+} hoặc Pb(II) và Cd(II).

- Tên kim loại Cadimi là chưa chính xác, phải là Cadmi hoặc cadmium.

7. Nội dung luận án đã được công bố trên tạp chí, kỷ yếu Hội nghị Khoa học nào và giá trị khoa học của các công trình đã công bố.

Tác giả đã công bố được 3 công trình khoa học, trong đó cả 02 bài SCIE có IF 2.2, và 1.4, 01 bài trong hội nghị khoa học quốc tế. Các bài báo này đều có hàm lượng khoa học cao, thể hiện được các nội dung liên quan đến luận án.

7. Kết luận chung cần khẳng định:

Luận án này đã đáp ứng đầy đủ yêu cầu của một LATS chuyên ngành Hóa vô cơ. Bản tóm tắt luận án phản ánh được nội dung cơ bản của luận án. Tôi đồng ý cho nghiên cứu sinh được bảo vệ trước hội đồng chấm luận án cấp Học viện để nhận học vị tiến sĩ.

Tp.HCM, ngày 14 tháng 11 năm 2025

Người nhận xét



PGS.TS. Trần Quang Hiếu

(Mẫu 21-HV-BB của HĐ cấp Học viện)

VIỆN HÀN LÂM
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

TP.HCM, ngày 03 tháng 12 năm 2025

BIÊN BẢN CỦA HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Họ và tên NCS: Đặng Nguyễn Nhã Khanh

Tên đề tài luận án: “Nghiên cứu quá trình tích lũy, đào thải và ảnh hưởng của chì (Pb), Cadimi (Cd) đến lượng glycogen, insulin, cortisol trong cá rô đồng (*Anabas testudineus*)

Ngành: Hóa vô cơ

Mã số: 9 44 01 13

Người hướng dẫn: PGS.TS. Nguyễn Thị Kim Phụng - Học Viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Đại biểu tham dự: 08

Phần I:

1. Đại diện cơ sở đào tạo tuyên bố lý do, đọc quyết định của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện và đề nghị Chủ tịch Hội đồng điều khiển phiên họp

2. Chủ tịch Hội đồng công bố danh sách thành viên có mặt, thông qua chương trình buổi bảo vệ, đề nghị Thư ký thông báo các điều kiện chuẩn bị cho buổi bảo vệ và đọc lý lịch khoa học của NCS

3. Thư ký thông báo các điều kiện cho buổi bảo vệ

- Đã tập hợp đầy đủ 07 nhận xét luận án của 07 thành viên trong Hội đồng;
- Đã có giấy xác nhận của các đồng tác giả cho phép NCS được sử dụng bài báo;
- Luận án, thông tin tóm tắt về những đóng góp mới của luận án tiến sĩ được đăng trên trang web của Bộ Giáo dục & Đào tạo ngày 24/10/2025 và website Học viện KH&CN ngày 20/10/2025;

- Tin về ngày bảo vệ đã được đăng trên trang web của Học viện KH&CN ngày 10/11/2025.

- Thư ký Hội đồng đọc tóm tắt LLKH và bảng điểm của NCS.

NCS có đủ các điều kiện để bảo vệ luận án tiến sĩ cấp Học viện

4. Các thành viên hội đồng và những người tham dự nêu câu hỏi hoặc ý kiến thắc mắc (nếu có) về lý lịch khoa học và quá trình đào tạo của nghiên cứu sinh



Không có thành viên Hội đồng hoặc người tham dự đưa ra câu hỏi hoặc ý kiến thắc mắc.

5. Nghiên cứu sinh trình bày nội dung luận án trong thời gian không quá 30 phút. Không được đọc bản tóm tắt luận án hoặc văn bản chuẩn bị trước

6. Các phản biện đọc nhận xét và đặt câu hỏi

6.1. PGS. TS. Bạch Long Giang – Phản biện 1

Nhận xét:

Khối lượng nghiên cứu của luận án khá lớn được trình bày trong 110 trang gồm 04 chương, nội dung được trình bày đầy đủ, chi tiết.

Về mặt khoa học, luận án cho thấy các kết quả thẩm định các phương pháp định lượng cortisol, insulin, glycogen, chì (Pb) và cadimi (Cd) tại mang, gan và thịt cũng như nghiên cứu ảnh hưởng của Pb và Cd thông qua ngưỡng độc cấp tính trong 96 giờ và độc tính bán trường diễn ở cá rô đồng được trình bày chặt chẽ, có tính hệ thống.

Về mặt thực tiễn, luận án sẽ thiết lập một nền tảng cho các nghiên cứu về sinh thái và độc chất môi trường bao gồm tác động của chất ô nhiễm lên cá rô đồng và việc sử dụng các dấu ấn sinh học để đánh giá tác động tiềm ẩn của các chất ô nhiễm đối với sức khỏe con người.

Luận án có 02 công trình công bố quốc tế thuộc danh mục SCIE và 01 công trình công bố trên tạp chí trong nước.

Góp ý:

NCS nên làm rõ các đối tượng nghiên cứu trong bảng 1.1 các nghiên cứu [39] và [43] ở phần 1.5; trong bảng 1.2 các nghiên cứu [48] và [49] các đối tượng nghiên cứu và kim loại không thực sự liên quan đến nội dung luận án, có thể loại bỏ; và cột năm trong cả 02 bảng 1.1 và 1.2 cũng có thể lược bỏ.

Các phần 2.1.3 đến 2.1.5 đã được trình bày trong phần 1.3, NCS có thể lược bỏ phần này.

Kết luận: Với các số liệu, các kết quả nghiên cứu, các nhận xét, kết luận trong luận án không có sự trùng lặp với các luận án đã bảo vệ trong và ngoài nước. Luận án trình bày đầy đủ nội dung nghiên cứu, đáp ứng yêu cầu đối với một luận án tiến sĩ chuyên ngành Hóa vô cơ. Bản tóm tắt phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án. Luận án có thể đưa ra bảo vệ cấp Học viện để nhận bằng Tiến sĩ mà không cần gửi lại bản luận án đã sửa chữa cho phản biện.

Câu hỏi:

Trong chương 2 có 02 hình 2.1 và 2.2, NCS giải thích 02 hình này phản ánh nội dung cụ thể nào?

Những đóng góp mới nào của kết quả nghiên cứu cho lĩnh vực Khoa học vật chất mà cụ thể là Hóa vô cơ, Khoa học độc chất trong môi trường?

6.2. PGS.TS. Nguyễn Văn Cường – Phản biện 2

Nhận xét:

Luận án được thực hiện nghiêm túc, có bố cục rõ ràng, có tính hệ thống cao. Thiết kế thí nghiệm hợp lý, phương pháp phân tích hiện đại, đúng chuẩn đảm bảo độ tin cậy cao. Số liệu đầy đủ, trình bày mạch lạc, các kết luận rút ra phù hợp, phản ánh đúng kết quả nghiên cứu và có ý nghĩa trong giám sát ô nhiễm thủy sinh.

Góp ý:

Một số phần thảo luận trong luận án NCS còn thiên về mô tả mà chưa phân tích nguyên nhân hoặc sự khác biệt với các công bố quốc tế.

Trong phần kết luận NCS thiên về liệt kê, cần viết lại cho phù hợp hơn.

Câu hỏi:

Về quy trình nhuộm mô học của mang và gan cá, NCS có thể nói về quy trình này?

NCS xây dựng quy trình phân tích cortisol, insulin và glycogen mới hay chỉ điều chỉnh lại các phương pháp của những công trình đã được công bố trước đó?

Kết luận:

Luận án đáp ứng đầy đủ yêu cầu của một luận án Tiến sĩ về tính mới, độ tin cậy khoa học và ứng dụng. Bản tóm tắt phù hợp với nội dung luận án. Đề nghị cho phép NCS bảo vệ ở cấp Học viện để nhận bằng Tiến sĩ.

6.3. PGS.TS. Trần Hoàng Phương – Phản biện 3

Nhận xét:

Luận án có nội dung khoa học, logic, kết quả nghiên cứu có ý nghĩa khoa học và thực tiễn gồm phần Mở đầu (3 trang), Tổng quan (27 trang), Thực nghiệm (12 trang), Kết quả và Thảo luận (55 trang), Kết luận và Kiến nghị (2 trang), đầy đủ các phần của một luận án Tiến sĩ.

Phần Tổng quan đầy đủ các nội dung và đối tượng liên quan đến đề tài. Phần Thực nghiệm mô tả chi tiết quy trình xử lý mẫu và điều kiện vận hành thiết bị. Phần Thảo luận có nhận xét, giải thích rõ ràng cũng như dẫn ra các tài liệu tham khảo khác để đối chiếu. Kết luận rõ ràng và súc tích.

Góp ý:

NCS cần cập nhật đầy đủ hơn các danh mục từ viết tắt và thống nhất danh pháp tiếng Anh hay tiếng Việt;

Nên ký hiệu a, b, c,... cho các hình 3.12, 3.13, 3.14, 3.15 và kiểm tra các lỗi viết công thức hóa học như H₂O, Pb²⁺,...;

Thống nhất các ký hiệu liệt kê trên từng đoạn kết quả;

Nên nêu rõ kết quả của các tài liệu tham khảo dùng so sánh với kết quả nghiên cứu để làm rõ hơn các vấn đề cần được so sánh.

Câu hỏi:

Giai đoạn đầu ly tâm máu tại sao không cần điều chỉnh nhiệt độ thấp, nếu ở nhiệt độ cao các tế bào hồng cầu bị vỡ có làm ảnh hưởng đến kết quả phân tích phía sau không? Vai trò của của NaOH 0.1M trong quy trình chiết cortisol.

Tại sao NCS chọn 02 kim loại nặng là Pb và Cd để khảo sát, khi trong môi trường ô nhiễm có sự tồn tại của các kim loại nặng khác thì quá trình tích lũy và đào thải của Pb, Cd có sự khác biệt như thế nào cũng như ảnh hưởng như thế nào đến 03 yếu tố đang khảo sát là glycogen, insulin và cortisol?

Như NCS có nêu “ Cd^{2+} và Ca^{2+} có bán kính tương tự nhau nên có sự cạnh tranh với nhau” vậy Ca^{2+} thể hiện sự cạnh tranh ảnh hưởng như thế nào đối với tích lũy và đào thải Cd^{2+} ?

Kết luận:

Luận án đáp ứng đầy đủ nội dung và hình thức đối với một luận án Tiến sĩ. Bản tóm tắt phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án. Luận án có thể đưa ra bảo vệ cấp Học viện để nhận học vị Tiến sĩ.

7. Tác giả luận án trả lời các câu hỏi của phản biện

7.1. Trả lời các câu hỏi của PGS. TS. Bạch Long Giang – Phản biện 1

- Trong chương 2, đối với hình 2.1 được dùng với mục đích mô tả thiết kế các thí nghiệm độc tính bán trường diễn và hình 2.2 được dùng để mô tả thời gian phơi nhiễm cũng như thời gian của cá rô đồng. 02 hình này được dùng để thể hiện xúc tích hơn phần thời gian và thiết kế thí nghiệm độc tính bán trường diễn của cá nghiên cứu.

- Với lĩnh vực Hóa vô cơ và Khoa học độc chất trong môi trường kết quả của nghiên cứu đã làm rõ được khả năng tích lũy cũng như khả năng tự làm sạch của cá rô đồng thông qua 02 giai đoạn phơi nhiễm và thời gian. Qua đó kết quả cũng nêu lên mức độ ảnh hưởng của các ion vô cơ trong môi trường đến nội tạng cá rô đồng (mang, gan).

7.2. Trả lời các câu hỏi của PGS. TS. Nguyễn Văn Cường – Phản biện 2

- Về quy trình nhuộm để quan sát mang và gan cá, mặc dù đây không phải là chuyên ngành và NCS gửi mẫu phân tích ở Trung tâm Công nghệ sinh học tuy nhiên theo NCS được biết quy trình gồm 5 bước cơ bản sau:

+ Lấy mẫu: mang và gan cá sau khi mổ sẽ được ngâm trong fomalin 4% từ 24 – 48 giờ.

+ Xử lý mẫu: mẫu gan và mang sau khi ngâm trong fomalin 4% sẽ được ngâm lần lượt trong ethanol 70°, 90° và 96° sau đó được ngâm trong dung dịch xylene lần lượt là 60 phút và 20 phút hoặc lâu hơn (có thể qua đêm) để mẫu được khô và cứng hơn. Cuối quá trình này là ngâm mẫu trong parafin từ 1 – 2 giờ để khử xylene và dùng parafin đúc khuôn mẫu.

+ Cắt và sấy mẫu: Cắt khối parafin chứa mẫu thành từng lát mỏng (6 – 7 μm) và đặt các lát cắt này lên slide. Sau đó sấy các slide này trong 4 giờ ở nhiệt độ khoảng 60°C .

+ Nhuộm mẫu: Ngâm các slide chứa mẫu trong xylene 30 phút. Sau đó lần lượt ngâm qua ethanol 96° , 90° , 80° , 70° tiếp tục ngâm trong nước cất rồi ngâm trong hematoxylin từ 3 – 5 phút. Sau đó rửa qua nước cất để trôi bớt hematoxylin và tiếp tục ngâm trong eosin từ 30 giây – 1 phút. Tiếp tục ngâm slide trong ethanol lần lượt 70° , 80° , 90° và 96° trong 30 giây, sau đó để khô slide và cuối cùng là ngâm trong xylene 30 phút.

+ Quan sát mẫu vừa nhuộm dưới kính hiển vi.

- NCS không xây dựng mới các phương pháp phân tích cortisol, insulin, glycogen hay Pb, Cd tổng mà tham khảo các quy trình đã được công bố trước, tuy vậy NCS có điều chỉnh và thẩm định những phương pháp này cho phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm.

7.3. Trả lời các câu hỏi của PGS. TS. Trần Hoàng Phương – Phản biện 3

- Giai đoạn đầu ly tâm máu với tốc độ 5500 vòng/phút trong 5 phút chưa gây ra nhiệt độ đủ cao để làm tế bào hồng cầu bị vỡ nên không ảnh hưởng đến toàn bộ quá trình phân tích. Dung dịch NaOH 0.1M được đưa vào với mục đích làm sạch mẫu khi chiết sang pha hữu cơ.

- Mục đích chọn 02 kim loại Pb và Cd để khảo sát do đây là hai kim loại phổ biến trong môi trường, với Pb thường có mặt trong các linh kiện điện tử còn với Cd thì mức độ độc và ảnh hưởng tiêu cực của kim loại này với cơ thể sống là khá cao.

- Theo NCS, khi trong môi trường ô nhiễm có sự tồn tại của các kim loại nặng khác thì mức độ tích lũy và đào thải của Pb và Cd sẽ khác với khi có mặt của từng yếu tố riêng lẻ, cũng như mức độ ảnh hưởng của chúng lên 03 yếu tố cortisol, insulin và glycogen sẽ mạnh hơn. Tuy nhiên vấn đề này không nằm trong mục tiêu nghiên cứu mà luận án này đề ra và NCS đã đưa vào phần kiến nghị trong luận án.

- NCS có nêu “ Cd^{2+} và Ca^{2+} có bán kính tương tự nhau nên có sự cạnh tranh với nhau” điều này là do cả Cd^{2+} và Ca^{2+} đều là ion hóa trị hai với bán kính nguyên tử của Cd^{2+} là 0,097 nm và Ca^{2+} là 0,099 nm thêm vào đó Cd^{2+} có ái lực liên kết anion cao hơn Ca^{2+} nên có khả năng vận chuyển Cd xuyên biểu mô điều này thấy rõ trong các kết quả tích lũy Cd trên mang cá.

8. Các thành viên khác trong Hội đồng đưa ra ý kiến nhận xét và đặt câu hỏi

8.1. PGS.TS. Trần Quang Hiếu – Ủy viên

Nhận xét:

Ý nghĩa khoa học: các kết quả nghiên cứu của luận án có ý nghĩa quan trọng trong việc bổ sung kiến thức về độc tính của các kim loại nặng đối với sinh vật thủy

sinh, làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo về cơ chế tác động và ảnh hưởng của ô nhiễm kim loại nặng đến hệ sinh thái.

Ý nghĩa thực tiễn: Kết quả nghiên cứu giúp người nuôi trồng và các nhà quản lý có thêm thông tin để đưa ra các biện pháp quản lý, giảm ô nhiễm và đảm bảo chất lượng, an toàn của sản phẩm từ cá rô đồng giúp nâng cao giá trị kinh tế, đồng thời giúp nâng cao nhận thức và thay đổi hành vi tiêu dùng để bảo vệ sức khỏe bản thân, gia đình và cộng đồng.

Luận án được trình bày sạch đẹp, bố cục gọn gàng, đầy đủ các nội dung.

Góp ý:

NCS xem xét lại cách dùng ký hiệu "Pb", "Cd" do nêu ghi như thế người đọc dễ hiểu nhầm đây là các kim loại tự do trong khi mô hình là thêm các muối $Pb(CH_3COO)_2$ và $CdCl_2$. Nên dùng Pb^{2+} , Cd^{2+} hoặc Pb(II) và Cd(II).

Tên kim loại Cadimi chưa chính xác nên thay đổi thành Cadmi hoặc Cadmium

Kết luận:

Luận án đáp ứng đầy đủ yêu cầu của một luận án Tiến sĩ chuyên ngành Hóa vô cơ. Bản tóm tắt phản ánh được nội dung cơ bản của luận án. Luận án có thể đưa ra bảo vệ trước hội đồng chấm luận án cấp Học viện để nhận học vị Tiến sĩ.

8.2. PGS.TS. Trần Ngọc Quyên - Ủy viên

Nhận xét:

Nội dung luận án được thực hiện ở Viện nghiên cứu không trùng lặp với các đề tài luận án của các nhóm nghiên cứu khác;

Luận án được trình bày tốt với nội dung phong phú và bố cục rõ ràng, kết quả từ các thí nghiệm được phân tích và biện luận rõ.

Góp ý:

NCS nên thống nhất cách trình bày tên hóa chất, kiểm tra lại hàm lượng Cd trong nước biển đồng thời kiểm tra lại thân trọng và cân nặng của cá rô đồng chưa trưởng thành và trưởng thành;

Phần kết luận viết quá ngắn gọn chưa bao hàm hết các kết quả nghiên cứu nổi bật.

Câu hỏi:

Đối với ảnh mô học nên có thêm trực kích thước nếu cần;

Tại sao trong luận án có sử dụng thuật ngữ thịt khô, gan khô tuy nhiên không thấy trong phần mô tả của phương pháp phân tích;

Vì sao cùng là cation kim loại nhưng sự tích lũy của Cd và Pb trong mang cá và gan cá lại khác nhau.

Kết luận:

Luận án đáp ứng đầy đủ yêu cầu của một luận án Tiến sĩ chuyên ngành Hóa vô cơ. Bản tóm tắt phản ánh trung thực nội dung cơ bản của luận án. Luận án có thể bảo vệ cấp Học viện.

8.3. TS. Đào Phạm Duy Quang - Ủy viên – Thư ký

Nhận xét:

Luận án thể hiện rõ tính độc lập, không trùng lặp với các công trình trong và ngoài nước. Luận án gồm 112 tài liệu tham khảo bao gồm sách chuyên khảo, công trình công bố trong và ngoài nước trải dài từ 1970 – 2023 trong đó có nhiều tài liệu thuộc giai đoạn 2018 – 2023 phản ánh sự cập nhật kịp thời các tiến bộ trong lĩnh vực độc học thủy sinh, chỉ thị sinh học, kỹ thuật phân tích,...

Nội dung nghiên cứu triển khai toàn diện, các mục tiêu đề ra đều được giải quyết rõ ràng, có luận cứ và dữ liệu minh chứng. Các biểu đồ, bảng số liệu và phân tích hỗ trợ nội dung hiệu quả, góp phần tăng tính trực quan giúp người đọc dễ đánh giá độ tin cậy của kết quả.

Luận án gắn kết chặt chẽ với thực tiễn đặc biệt trong bối cảnh ô nhiễm kim loại nặng tại Việt Nam, tạo ra các luận cứ quan trọng cho giám sát môi trường và đánh giá an toàn thủy sản.

Góp ý:

Sự tương tác giữa Pb và Cd trong điều kiện phơi nhiễm hỗn hợp chưa được khảo sát trong khi thực tế môi trường thường xuất hiện đồng thời nhiều kim loại;

Phân đánh giá rủi ro đối với sức khỏe con người mới dừng ở mức gợi ý, nếu cần nên có sự phân tích định lượng.

Câu hỏi:

Thời gian phơi nhiễm và thôi nhiễm còn khá ngắn (28 ngày + 14 ngày) chưa phản ánh đầy đủ tác động dài hạn hoặc mãn tính của kim loại nặng đối với hệ sinh học của cá.

Kết luận:

Luận án đáp ứng đầy đủ yêu cầu của một luận án Tiến sĩ Khoa học vật chất, có tính mới, có giá trị khoa học – thực tiễn và có công bố quốc tế chất lượng. Bản tóm tắt phản ánh trung thực và đầy đủ nội dung của luận án. Luận án có thể đưa ra bảo vệ trước hội đồng chấm luận án cấp Học viện để nhận học vị Tiến sĩ.

8.4 GS.TS. Nguyễn Cửu Khoa – Chủ tịch

Nhận xét:

Luận án có kết cấu hợp lý. Mục tiêu của luận án rõ ràng, cụ thể và nội dung của luận án được thực hiện tốt đáp ứng mục tiêu đề ra.

Phương pháp nghiên cứu khoa học, hợp lý. Kết quả nghiên cứu được phân tích rõ ràng, hợp lý.

Kết quả nghiên cứu có giá trị về mặt khoa học và thực tiễn. Kết luận của luận án phù hợp với cách đặt vấn đề có tính thuyết phục cao.

Góp ý:

Còn nhiều lỗi chính tả và in ấn trong luận án cần được rà soát và chỉnh sửa.

Kết luận:

Luận án đáp ứng đầy đủ về mặt nội dung và hình thức của một luận án Tiến sĩ. Bản tóm tắt phản ánh trung thành nội dung cơ bản của luận án. Luận án có thể đưa ra bảo vệ trước hội đồng đánh giá cấp Học viện để được nhận học vị Tiến sĩ.

9. Những người tham dự có thể đặt câu hỏi để kiểm tra kiến thức và trình độ nghiên cứu khoa học của nghiên cứu sinh

Không có đại biểu nào đặt câu hỏi cũng như phản biện.

10. Tác giả luận án trả lời các câu hỏi nêu ra

10.1. Trả lời các câu hỏi của PGS. TS. Trần Ngọc Quyên – Ủy viên

- NCS sẽ bổ sung trong bản luận án chỉnh sửa;

- Trong luận án có sử dụng thuật ngữ thịt khô, gan khô là do sau khi mổ, mẫu mang, gan và thịt sẽ được thấm khô bằng giấy lọc để loại bỏ nước và sau đó được sấy khô ở 90 ± 10 °C trong 8 giờ trước khi phân tích Pb và Cd tổng số.

- Cùng là cation kim loại nhưng sự tích lũy của Cd và Pb trong mang và gan cá lại khác nhau là do bán kính ion của Cd^{2+} gần giống với ion Ca^{2+} trong mang cá nên lượng Cd thâm nhập vào mang cá nhiều hơn so với Pb^{2+} và từ đó gây nên sự tích lũy vào gan cá giữa Cd và Pb cũng khác nhau và thực tế chứng minh mức độ tích lũy Cd tại mang và trong gan cá cao hơn so với Pb.

10.2. Trả lời câu hỏi của TS. Đào Phạm Duy Quang – Thư ký – Ủy viên

- NCS chọn thời gian phơi nhiễm của cá rô đồng phù hợp với thời gian cho nghiên cứu độc tính bán trường diễn (28 ngày) và thời gian thôi nhiễm là 14 ngày, theo NCS đây là thời gian phù hợp thực tế nghiên cứu và có tính thực tiễn cao.

11. PGS.TS. Nguyễn Thị Kim Phượng, người hướng dẫn phát biểu ý kiến bằng văn bản.

Phần II: Hội đồng họp riêng để bầu ban kiểm phiếu, bỏ phiếu kín và thảo luận thông qua quyết nghị của Hội đồng

1. Ban kiểm phiếu gồm 3 người (1 trưởng ban và 2 ủy viên). Chủ tịch Hội đồng không tham gia ban kiểm phiếu

+ Trưởng ban: PGS. TS. Trần Quang Hiếu

+ Ủy viên: PGS. TS. Nguyễn Văn Cường

+ Ủy viên: PGS. TS. Trần Hoàng Phương

2. Sau khi đánh giá tán thành luận án, người bỏ phiếu có thể xem xét đánh giá luận án đạt loại xuất sắc hay không. Luận án được đánh giá xuất sắc nếu:

a. Luận án có giá trị cao về khoa học, có đóng góp đáng kể trong việc bổ sung, phát triển và làm phong phú thêm kiến thức lý thuyết của khoa học chuyên ngành, được thể hiện qua các bài báo đã công bố trên các tạp chí khoa học có uy tín về chất lượng khoa học ở trong và ngoài nước, hoặc

b. Luận án có giá trị khoa học và thực tiễn, kết quả của luận án đã được ứng dụng trên diện rộng và được đánh giá cao

3. Quyết nghị của Hội đồng phải nêu được các vấn đề theo trình tự sau:

- Kết quả bỏ phiếu đánh giá luận án của Hội đồng

+ Số phiếu đã phát cho các thành viên: 07

+ Số phiếu hợp lệ: 07

+ Số phiếu không hợp lệ: 0

+ Số phiếu tán thành: 07

+ Số phiếu không tán thành: 0

+ Trong đó số phiếu xếp loại xuất sắc là: 03

- Những kết luận khoa học cơ bản, những điểm mới, đóng góp mới của luận án

+ Đã tìm được ngưỡng độc tính cấp của Pb và Cd đối với cá rô đồng, LC50 96 giờ của Pb là 120mg/L và Cd là 38 mg/L.

+ Đã tìm được quy luật tích lũy Pb và Cd đối với cá rô đồng sau 28 ngày phơi nhiễm, trong đó, thứ tự tích lũy Pb là Mang >> Gan > Thịt và thứ tự đào thải Cd là Gan >> Mang > Thịt.

+ Đã tìm được quy luật đào thải Pb và đối với cá rô đồng sau 14 ngày sống trong nước sạch, trong đó, thứ tự đào thải Pb là Mang > Gan > Thịt và thứ tự đào thải Cd là Gan >> Mang > Thịt.

+ Thông qua các biểu hiện rối loạn sản xuất cortisol, insulin và phân hủy glycogen gan đã tìm ra tác động của Pb và Cd đến hoạt động của trục hạ đồi – tuyến yên – tuyến liên thận (trục HPI), tuyến tụy và chức năng gan của cá rô đồng phơi nhiễm Pb và Cd.

- Cơ sở khoa học, độ tin cậy của những luận điểm và những kết luận nêu trong luận án

Luận văn đã sử dụng các phương pháp phân tích phù hợp, hiện tại theo các quy chuẩn và tài liệu tin cậy như: phương pháp độc cấp tính (LC50 trong 96 giờ) của Pb và Cd, phương pháp nghiên cứu độc tính bán trường diễn, và phương pháp phân tích hóa học cortisol, insulin, glycogen và tổng hàm lượng Cd, Pb trong cá một cách chi tiết, cụ thể và phù hợp.

- Ý nghĩa về lý luận, thực tiễn và những đề nghị sử dụng các kết quả nghiên cứu của luận án

Kết quả nghiên cứu của luận án sẽ thiết lập một nền tảng cho các nghiên cứu về sinh thái và độc chất môi trường bao gồm tác động của chất ô nhiễm lên cá rô đồng và việc sử dụng các dấu ấn sinh học để đánh giá tác động tiềm ẩn của các chất ô

nhằm đối với sức khỏe con người. Những thiếu sót về nội dung và hình thức của luận án.

- Những thiếu sót về nội dung và hình thức của luận án

Tuy nhiên, cần phải chỉnh lại một số vấn đề về cách trình bày để luận văn rõ ràng và thống nhất:

- + Luận án còn lỗi định dạng, chính tả.
- + Danh mục từ viết tắt còn thiếu quá nhiều.
- + Chỉnh sửa các lỗi công thức hóa học.
- + Thống nhất danh pháp tiếng Anh hay tiếng Việt.
- + Các tài liệu tham khảo dùng để so sánh với kết quả nghiên cứu nên được nêu rõ.

- Mức độ đáp ứng các yêu cầu của luận án

Luận án đã trình bày đầy đủ nội dung nghiên cứu, đáp ứng yêu cầu đối với một luận án Tiến sĩ chuyên ngành Hóa vô cơ, mã chuyên ngành 9440113.

- Những điểm cần bổ sung, sửa chữa (nếu có) trước khi nộp luận án cho Thư viện Quốc gia Việt Nam

Chỉnh sửa theo ý kiến hội đồng

- Kiến nghị của Hội đồng về việc công nhận trình độ và cấp bằng tiến sĩ cho nghiên cứu sinh

Hội đồng nhất trí tán thành, đề nghị cơ sở đào tạo công nhận trình độ và cấp bằng Tiến sĩ cho nghiên cứu sinh.

4. Nghị quyết của Hội đồng phải được các thành viên Hội đồng nhất trí thông qua bằng biểu quyết công khai

Số thành viên Hội đồng nhất trí thông qua bằng biểu quyết công khai: 07.

Phần III:

1. Trưởng ban kiểm phiếu công bố kết quả đánh giá luận án

+ Số phiếu đã phát cho các thành viên: 07

+ Số phiếu hợp lệ: 07

+ Số phiếu không hợp lệ: 0

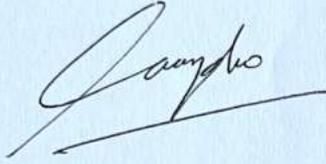
+ Số phiếu tán thành: 07

+ Số phiếu không tán thành: 0

+ Trong đó số phiếu xếp loại xuất sắc là: 03

2. Chủ tịch Hội đồng đọc quyết nghị của Hội đồng
3. Chủ tịch Hội đồng tuyên bố Hội đồng đã hoàn thành nhiệm vụ và trao lại quyền điều khiển cho Cơ sở đào tạo

THƯ KÝ



TS Đào Phạm Duy Quang

CHỦ TỊCH



GS.TS. Nguyễn Cửu Khoa

**XÁC NHẬN CỦA
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**

**KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC**



Nguyễn Thị Trung



(Mẫu 22-HV-Quyết nghị)

VIỆN HÀN LÂM
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

TP.HCM, ngày 03 tháng 12 năm 2025

QUYẾT NGHỊ CỦA HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN ÁN TIẾN SĨ CẤP HỌC VIỆN

Họ và tên NCS: Đặng Nguyễn Nhã Khanh

Tên đề tài luận án: “Nghiên cứu quá trình tích lũy, đào thải và ảnh hưởng của Chì (Pb), Cadimi (Cd) đến lượng glycogen, insulin, Cortisol trong cá rô đồng (*Anabas Testudineus*)”

Ngành: Hóa vô cơ

Mã số: 9 44 01 13

Người hướng dẫn: PGS.TS. Nguyễn Thị Kim Phượng - Học Viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Quyết nghị của Hội đồng phải nêu được các vấn đề theo trình tự sau:

- *Kết quả bỏ phiếu đánh giá luận án của Hội đồng*
 - + Số phiếu đã phát cho các thành viên: 07
 - + Số phiếu hợp lệ: 07
 - + Số phiếu không hợp lệ: 0
 - + Số phiếu tán thành: 07
 - + Số phiếu không tán thành: 0
 - + Trong đó số phiếu xếp loại xuất sắc là: 03
- *Những kết luận khoa học cơ bản, những điểm mới, đóng góp mới của luận án:*
 - + Đã tìm được ngưỡng độc tính cấp của Pb và Cd đối với cá rô đồng, LC50 96 giờ của Pb là 120mg/L và Cd là 38 mg/L.
 - + Đã tìm được quy luật tích lũy Pb và Cd đối với cá rô đồng sau 28 ngày phơi nhiễm, trong đó, thứ tự tích lũy Pb là Mang >> Gan > Thịt và thứ tự đào thải Cd là Gan >> Mang > Thịt.

- + Đã tìm được quy luật đào thải Pb và đối với cá rô đồng sau 14 ngày sống trong nước sạch, trong đó, thứ tự đào thải Pb là Mang > Gan > Thịt và thứ tự đào thải Cd là Gan >> Mang > Thịt.
- + Thông qua các biểu hiện rối loạn sản xuất cortisol, insulin và phân hủy glycogen gan đã tìm ra tác động của Pb và Cd đến hoạt động của trục hạ đồi – tuyến yên – tuyến liên thận (trục HPI), tuyến tụy và chức năng gan của cá rô đồng phơi nhiễm Pb và Cd.
- *Cơ sở khoa học, độ tin cậy của những luận điểm và những kết luận nêu trong luận án*

Luận văn đã sử dụng các phương pháp phân tích phù hợp, hiện tại theo các quy chuẩn và tài liệu tin cậy như: phương pháp độc cấp tính (LC50 trong 96 giờ) của Pb và Cd, phương pháp nghiên cứu độc tính bán trường diễn, và phương pháp phân tích hóa học cortisol, insulin, glycogen và tổng hàm lượng Cd, Pb trong cá một cách chi tiết, cụ thể và phù hợp.

- *Ý nghĩa về lý luận, thực tiễn và những đề nghị sử dụng các kết quả nghiên cứu của luận án*

Kết quả nghiên cứu của luận án sẽ thiết lập một nền tảng cho các nghiên cứu về sinh thái và độc chất môi trường bao gồm tác động của chất ô nhiễm lên cá rô đồng và việc sử dụng các dấu ấn sinh học để đánh giá tác động tiềm ẩn của các chất ô nhiễm đối với sức khỏe con người. Những thiếu sót về nội dung và hình thức của luận án.

- *Những thiếu sót về nội dung và hình thức của luận án*

Tuy nhiên, cần phải chỉnh lại một số vấn đề về cách trình bày để luận văn rõ ràng và thống nhất:

- + Luận án còn lỗi định dạng, chính tả.
- + Danh mục từ viết tắt còn thiếu quá nhiều.
- + Chỉnh sửa các lỗi công thức hóa học.
- + Thống nhất danh pháp tiếng Anh hay tiếng Việt.

+ Các tài liệu tham khảo dùng để so sánh với kết quả nghiên cứu nên được nêu rõ.

- *Mức độ đáp ứng các yêu cầu của luận án*

Luận án đã trình bày đầy đủ nội dung nghiên cứu, đáp ứng yêu cầu đối với một luận án Tiến sĩ chuyên ngành Hóa vô cơ, mã chuyên ngành 9440113.

- *Những điểm cần bổ sung, sửa chữa (nếu có) trước khi nộp luận án cho Thư viện Quốc gia Việt Nam*

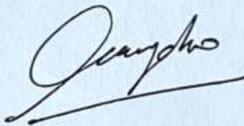
Chỉnh sửa theo ý kiến hội đồng

- *Kiến nghị của Hội đồng về việc công nhận trình độ và cấp bằng tiến sĩ cho nghiên cứu sinh*

Hội đồng nhất trí tán thành, đề nghị cơ sở đào tạo công nhận trình độ và cấp bằng Tiến sĩ cho nghiên cứu sinh

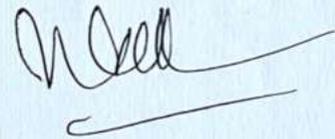
- *Số thành viên Hội đồng nhất trí thông qua bằng biểu quyết công khai: 07*

THƯ KÝ



TS. Đào Phạm Duy Quang

CHỦ TỊCH



GS.TS. Nguyễn Cửu Khoa



**XÁC NHẬN CỦA
HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**

**KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC**



Nguyễn Thị Trung

**BẢN GIẢI TRÌNH CHỈNH SỬA, BỔ SUNG LUẬN ÁN TIẾN SĨ
CẤP HỌC VIỆN**

Ngày 03 tháng 12 năm 2025, Học viện Khoa học và Công nghệ đã tổ chức đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện cho nghiên cứu sinh Đặng Nguyễn Nhã Khanh theo Quyết định số 1063/QĐ-HVKHCN ngày 13 tháng 10 năm 2025 của Giám đốc Học viện.

Đề tài: **Nghiên cứu quá trình tích lũy, đào thải và ảnh hưởng của chì (Pb), cadimi (Cd) đến lượng glycogen, insulin, cortisol trong cá rô đồng (*Anabas testudineus*)**

Ngành: Hóa Vô cơ, Mã số: 9 44 01 13

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. Nguyễn Thị Kim Phượng

Theo Biên bản của Hội đồng, NCS phải bổ sung và chỉnh sửa luận án các điểm sau đây:

STT	Nội dung đề nghị chỉnh sửa, bổ sung	Nội dung đã được chỉnh sửa, bổ sung (Ghi rõ số trang/chương/mục... đã được chỉnh sửa)
1	<p>Làm rõ các đối tượng nghiên cứu trong bảng 1.1, nghiên cứu [39] và [43];</p> <p>Có thể loại bỏ nghiên cứu [48] và [49] trong bảng 1.2 và cột năm nghiên cứu;</p> <p>Các phần 2.1.3 đến 2.1.5 đã được trình bày trong phần 1.3 nên có thể lược bỏ.</p>	<p>Với nghiên cứu [39] đối tượng nghiên cứu là nước, tần bùn đáy và cơ, gan, ruột và mang cá chép <i>Cyprinus carpio</i>; còn với nghiên cứu [43] đối tượng nghiên cứu là mẫu nước và trầm tích (đã chỉnh sửa trong cột “Đối tượng nghiên cứu” trang 20;</p> <p>Đối tượng nghiên cứu trong TLTK [48] và [49] lần lượt là cá trắm cỏ nước ngọt và cá ngựa vằn phù hợp với nội dung nghiên cứu. Bên cạnh đó việc để lại cột “Năm thực hiện” sẽ giúp luận án dễ theo dõi nên NCS đề nghị được giữ lại;</p> <p>Các phần 2.1.3 đến 2.1.5 mặc dù đã trình bày trong phần 1.3 tuy nhiên để mạch lạc cho luận án, NCS xin được phép giữ lại phần này.</p>



STT	Nội dung đề nghị chỉnh sửa, bổ sung	Nội dung đã được chỉnh sửa, bổ sung (Ghi rõ số trang/chương/mục... đã được chỉnh sửa)
2	<p>Một số phần thảo luận trong luận án NCS còn thiên về mô tả mà chưa phân tích nguyên nhân hoặc sự khác biệt với các công bố quốc tế;</p> <p>Trong phần kết luận NCS thiên về liệt kê, cần viết lại cho phù hợp hơn.</p>	<p>NCS đã sửa chữa theo hướng phân tích so sánh sự khác biệt của kết quả nghiên cứu với các công bố quốc tế;</p> <p>Đã thay đổi cách viết trong phần kết luận (trang 95) theo hướng làm nổi bật kết quả nghiên cứu.</p>
3	<p>NCS cần cập nhật đầy đủ hơn các danh mục từ viết tắt và thống nhất danh pháp tiếng Anh hay tiếng Việt;</p> <p>Nên ký hiệu a, b, c,... cho các hình 3.12, 3.13, 3.14, 3.15 và kiểm tra các lỗi viết công thức hóa học như H₂O, Pb²⁺,...;</p> <p>Thống nhất các ký hiệu liệt kê trên từng đoạn kết quả.</p>	<p>Đã cập nhật danh mục từ viết tắt và thống nhất theo danh pháp tiếng Anh;</p> <p>NCS không thêm ký hiệu a, b, c,... cho các hình 3.12, 3.13, 3.14 và 3.15 do chỉ có 02 hình nên việc thêm ký hiệu có thể làm rối bố cục luận án;</p> <p>Đã sửa lỗi cách viết công thức hóa học và thống nhất các ký hiệu liệt kê trên từng đoạn kết quả.</p>
4	<p>NCS xem xét lại cách dùng ký hiệu “Pb”, “Cd” do nếu ghi như thế người đọc dễ hiểu nhầm đây là các kim loại tự do trong khi mô hình là thêm các muối Pb(CH₃COO)₂ và CdCl₂. Nên dùng Pb²⁺, Cd²⁺ hoặc Pb(II) và Cd(II).</p> <p>Tên kim loại Cadimi chưa chính xác nên thay đổi thành Cadmi hoặc Cadmium</p>	<p>NCS đã thay đổi cách viết “Pb” và “Cd” bằng “ion Pb” và “ion Cd” trong toàn luận án.</p> <p>Do trong đề cương NCS sử dụng thuật ngữ “Cadimi” nên NCS giữ nguyên thuật ngữ này cho toàn luận án.</p>
5	<p>NCS nên thống nhất cách trình bày tên hóa chất, kiểm tra lại hàm lượng Cd trong nước biển đồng thời kiểm tra lại thân trọng và kích thước của cá rô đồng chưa trưởng thành và trưởng thành;</p> <p>Phần kết luận viết quá ngắn gọn chưa bao hàm hết các kết quả nghiên cứu nổi bật.</p>	<p>Đã thống nhất cách viết tên hóa chất theo tiếng Anh và điều chỉnh lại hàm lượng Cd trong nước biển (ở đại dương là 0,001 µg/L và vùng ven bờ là 0,1 – 1,0 µg/L – trang 9);</p> <p>Đã điều chỉnh lại phần thân trọng và kích thước của cá rô đồng chưa trưởng thành và trưởng thành (trang 28)</p> <p>Đã điều chỉnh lại phần kết luận (trang 95) theo hướng làm nổi bật kết quả nghiên cứu.</p>

A CỐ
 VIỆN
 IOC
 NGH
 ★

STT	Nội dung đề nghị chỉnh sửa, bổ sung	Nội dung đã được chỉnh sửa, bổ sung (Ghi rõ số trang/chương/mục... đã được chỉnh sửa)
6	Sự tương tác giữa Pb và Cd trong điều kiện phơi nhiễm hỗn hợp chưa được khảo sát trong khi thực tế môi trường thường xuất hiện đồng thời nhiều kim loại; Phần đánh giá rủi ro đối với sức khỏe con người mới dừng ở mức gợi ý, nếu cần nên có sự phân tích định lượng	Do mục tiêu của luận án là nghiên cứu tác động riêng rẽ của Pb và Cd trong điều kiện phơi nhiễm do đó để nghiên cứu sự tương tác hiệp đồng của cả Pb và Cd lên cá rô đồng cũng như đánh giá rủi ro đối với sức khỏe con người NCS viết trong phần Kiến nghị.
7	Còn nhiều lỗi chính tả và in ấn trong luận án cần được rà soát và chỉnh sửa	Đã chỉnh sửa lỗi chính tả và lỗi in ấn trong toàn luận án.

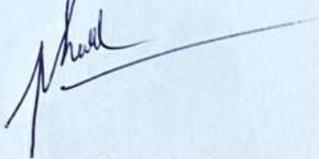
Nghiên cứu sinh chân thành cảm ơn Quý thầy, cô trong Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện đã góp ý và tạo cơ hội cho NCS hoàn thiện luận án của mình.

Xin trân trọng cảm ơn./.

TP.HCM, ngày 09 tháng 12 năm 2025

CÁN BỘ HƯỚNG DẪN

(Ký và ghi rõ họ tên)



PGS. TS. Nguyễn Thị Kim Phượng

NGHIÊN CỨU SINH



Đặng Nguyễn Nhã Khanh

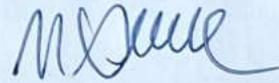
**XÁC NHẬN CỦA HỌC VIỆN
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**

**KT. GIÁM ĐỐC
PHÓ GIÁM ĐỐC**



Nguyễn Thị Trung

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG



GS. TS. Nguyễn Cửu Khoa

