Vietnam Journal of Marine Science and Technology; Vol. 19, No. 4A; 2019: 139–150
DOI: https://doi.org/10.15625/1859-3097/19/4A/14588
https://www.vjs.ac.vn/index.php/jmst

Cyanide detoxification efficiency of injection and soak of hydroxocobalamin, sodium nitrite and sodium thiosulfate for sea water ornamental fish

Le Ho Khanh Hy*, Pham Xuan Ky, Dao Viet Ha, Nguyen Phương Anh, Phan Bao Vy, Doan Thi Thiet, Dang Tran Tu Tram

Institute of Oceanography, VAST, Vietnam
*E-mail: lehokhanhhy@gmail.com

Received: 30 July 2019; Accepted: 6 October 2019

©2019 Vietnam Academy of Science and Technology (VAST)

Abstract
The Oceanographic Museum offers interesting exhibits of several marine lives for tourist sightseeing and entertainment. These sea water ornamental fish are all caught in the wild. However, its health can be affected by cyanide poisoning during human fishing. Depending on the level of cyanide poisoning, fish can die after one and two weeks that caused economic damages for the museum. The present study is concerned with results of cyanide detoxification by using direct injection into cinnamon clownfish or soak of hydroxocobalamin, sodium nitrite and sodium thiosulfate with the aim of improving the health, survival and life time for fish, contributing to increasing economic efficiency for the Oceanographic Museum.

Keywords: The Oceanographic Museum, cyanide, sea water ornamental fish, detoxification, injection, soak, hydroxocobalamin, sodium nitrite, sodium thiosulfate.

Citation: Le Ho Khanh Hy, Pham Xuan Ky, Dao Viet Ha, Nguyen Phương Anh, Phan Bao Vy, Doan Thi Thiet, Dang Tran Tu Tram, 2019. Cyanide detoxification efficiency of injection and soak of hydroxocobalamin, sodium nitrite and sodium thiosulfate for sea water ornamental fish. *Vietnam Journal of Marine Science and Technology*, *19*(4A), 139–150.

Tạp chí Khoa học và Công nghệ Biển, Tập 19, Số 4A; 2019: 139–150
DOI: https://doi.org/10.15625/1859-3097/19/4A/14588
https://www.vjs.ac.vn/index.php/jmst

Hiệu quả giải độc xyanua ở cá cảnh biển qua hai hình thức tiêm và ngâm hydroxocobalamin, natri nitrit và natri thiosulfat

Lê Hồ Khánh Hỷ*, Phạm Xuân Kỳ, Đào Việt Hà, Nguyễn Phương Anh, Phan Bảo Vy, Đoàn Thị Thiết, Đặng Trần Tú Trâm

Viện Hải dương học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Việt Nam
*E-mail: lehokhanhhy@gmail.com

Nhận bài: 30-7-2019; Chấp nhận đăng: 6-10-2019

Tóm tắt
Bảo tàng Hải dương học hiện đang nuôi rất nhiều loài cá cảnh biển phục vụ nhu cầu tham quan, giải trí của du khách. Tất cả các loài cá này đều được đánh bắt ngoài tự nhiên. Tuy nhiên sức khỏe của các loài cá thu mua về nuôi có thể bị ảnh hưởng bởi chất độc xyanua do con người sử dụng trong quá trình đánh bắt. Cá bị nhiễm độc xyanua, tùy mức độ, có thể chết trong vòng 1–2 tuần, gây tổn thất chi phí cho bảo tàng. Trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả thử nghiệm giải độc cá cảnh biển nhiễm xyanua qua hai hình thức giải độc bằng cách tiêm trực tiếp hoặc ngâm tắm cho cá khoang cổ bằng các hợp chất hóa học như hydroxocobalamin, natri nitrit, natri thiosulfat theo các thời điểm giải độc khác nhau nhằm nâng cao sức khỏe, tỷ lệ sống và thời gian sống cho cá, góp phần làm tăng hiệu quả kinh tế cho Bảo tàng Hải dương học.

Từ khóa: Bảo tàng Hải dương học, xyanua, cá cảnh biển, giải độc, tiêm, ngâm tắm, hydroxocobalamin, natri nitrit, natri thiosulfat.

GIỚI THIỆU

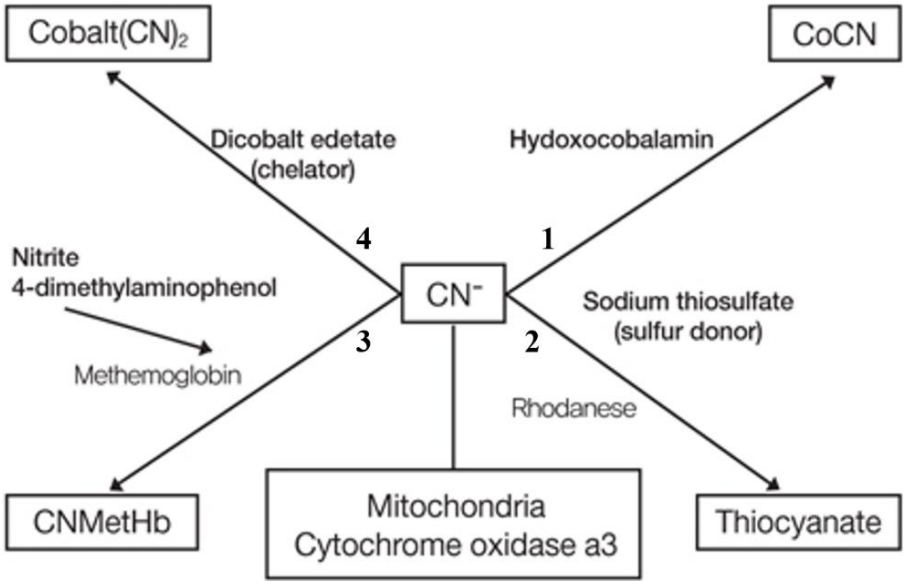
Xyanua là loại hóa chất cực độc, được hấp thu nhanh vào cơ thể, ức chế rất nhanh và mạnh quá trình hô hấp tế bào [1]. Nghiên cứu lâm sàng ghi nhận nếu chỉ nhiễm lượng rất nhỏ xyanua thì sẽ không gây ngộ độc bởi chất này khi đi vào cơ thể sinh vật sẽ biến đổi thành CO_2 và được đào thải ra ngoài trong vòng 24 giờ. Tuy nhiên, khi vào cơ thể với hàm lượng lớn, xyanua được hấp thu vào máu sẽ lấy hết oxy, gây ra hiện tượng ngạt thở, ngăn chặn chuyển hóa năng lượng, gây buồn nôn, mệt mỏi, co giật và có thể dẫn tới tử vong. Liều chết của xyanua khá thấp, khoảng 0,5 mg/kg thể trọng, một người lớn có trọng lượng khoảng 100 kg liều chết dưới 50 mg, đối với kali xyanua là 20 mg [2].

Đối với ảnh hưởng của xyanua lên cơ thể cá, các ion xyanua tự do có thể đi qua mang và hoạt động như một chất ức chế ngăn cản tái tổng hợp adenosine triphosphate (ATP) (có chức năng vận chuyển năng lượng đến các nơi cần thiết để tế bào sử dụng) trong sợi trục thần kinh [3]. Xyanua sau đó đi vào máu và tích lũy ở một số bộ phận cơ thể cá. Xyanua có thể cản trở sự trao đổi oxy qua việc ức chế hệ thống enzyme chính như cytochrome oxidase-enzyme quan trọng cho phép cơ thể sử dụng oxy trong việc tạo ra năng lượng, làm suy giảm khả năng vận chuyển oxy của hemoglobin trong máu và ngăn chặn con đường enzyme trong gan và chức năng enzyme, cuối cùng làm cá chết. Các nghiên cứu của những năm 1980 cho rằng xyanua có thể gây tử vong cho cá trong vòng 96 giờ ở nồng độ > 0,1–0,3 mg/l [4]. Nếu cá không chết trong vòng 96 giờ thì có thể chết ở những ngày sau đó [5]. Nếu cá tiếp xúc một khoảng thời gian dài với nồng độ 0,005–0,01

mg/l axit xianhidric (HCN) sẽ có nhiều tác dụng phụ trên trứng cá, cá bột và cá trưởng thành như giảm tăng trưởng, giảm khả năng bơi lội, ức chế sinh sản do thay đổi chuyển hóa lipid [5]; gây thiệt hại cho các cơ quan sinh sản [6]; giảm khả năng sinh nở thành công và tỷ lệ sống [7]. Gần đây, một vài nghiên cứu cho thấy xyanua tự do ở nồng độ > 5 µg/l có thể gây tác động tiêu cực đến việc bơi lội và sinh sản của cá nước ngọt. Trong khi ở nồng độ > 20 µg/l, xyanua gây tử vong cá với tỷ lệ cao [8, 9]. Tuy nhiên, nhờ cơ chế tự chuyển hóa bởi enzyme, cá phơi nhiễm xyanua ở nồng độ thấp trong thời gian ngắn có thể tự hồi phục sau một thời gian nhất định [10]. Đối với cá nhiễm độc xyanua tương đối nặng, cơ thể không thể tự đào thải toàn bộ mà cần có sự giải độc kịp thời để chuyển hóa và đào thải lượng xyanua độc trong cơ thể, giúp tăng khả năng sống sót và thời gian sống của cá.

Hiện tại nguồn cá cảnh nuôi tại Bảo tàng Hải dương học được thu mua từ ngư dân, có thể bị đánh bắt bằng xyanua nên tỷ lệ sống khá thấp. Bảo tàng cũng chưa có phương pháp giải độc xyanua cho cá một cách hiệu quả. Phương pháp giải độc xyanua thường được áp dụng trên người qua con đường chuyển hóa và trung hòa xyanua sử dụng các chất hóa học với cơ chế sau (hình 1): 1) Hợp chất hydroxocobalamin kết hợp với xyanua tạo thành cyanocobalamin ít độc, ổn định, và được thải ra qua nước tiểu; 2) Thiosulfat giải phóng sulfur trong phản ứng với rhodanese chuyển xyanua thành thiocyanate, tan trong nước và được đào thải ra nước tiểu; 3) Muối nitrit làm thay đổi vị trí gắn của xyanua, cạnh tranh trực tiếp với vị trí gắn của phức hợp xyanua gắn với methemoglobin tạo thành cyanomethemoglobin ít độc hơn; và 4) Dicobalt edetate có khả năng gắn kết phức chất với xyanua, tạo thành phức bền vững với xyanua, ít độc hơn và được đào thải qua đường nước tiểu. Tuy nhiên hoạt chất này chỉ dùng trong trường hợp nhiễm xyanua nghiêm trọng.

Thêm vào đó, oxy điều trị phối hợp cùng với thuốc giải độc có hiệu quả trong ngộ độc xyanua, làm tăng vận chuyển xyanua từ tổ chức vào máu làm tăng đào thải, cải thiện hô hấp và giảm lactat trong não.



Hình 1. Cơ chế chuyển hóa xyanua thành các chất ít độc hơn [11]

Trong nghiên cứu này, chúng tôi trình bày kết quả thử nghiệm giải độc cá cảnh biển nhiễm xyanua qua hai hình thức giải độc bằng cách tiêm trực tiếp hoặc ngâm tắm cho cá khoang cổ bằng các hợp chất hóa học nêu trên (Hydroxocobalamin, natri nitrit, natri thiosulfat) theo các thời điểm giải độc khác nhau nhằm nâng cao sức khỏe, tỷ lệ sống và thời gian sống cho cá, góp phần làm tăng hiệu quả kinh tế cho Bảo tàng Hải dương học.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu nghiên cứu

Hóa chất: NaCN (Merck), Hydroxocobalamin (Wako), Natri nitrite (Wako), Natri thiosulfate(Wako).

Đối tượng nghiên cứu: Cá khoang cổ *Amphiprion clarkii* được thu mua từ ngư dân đánh bắt bằng hình thức vớt lưới. Loài cá này được chọn lựa làm mô hình nghiên cứu vì chúng dễ đánh bắt và có số lượng lớn, đáp ứng nhu cầu thử nghiệm. Cá sau khi mua về được nuôi khoảng 2 tuần trong các bể nước lọc tuần hoàn có sục khí dung tích 100 l, chế độ ăn hằng ngày là tép nhỏ. Sau thời gian này, cá được ổn định sức khỏe, sử dụng để thực hiện các thí nghiệm.

Hình 2. Hình thái ngoài cá khoang cổ *Amphiprion clarkii*

Phương pháp nghiên cứu

Bố trí thí nghiệm lựa chọn nồng độ phơi nhiễm xyanua

Bố trí các bể 30 l có nồng độ 0,25; 0,4; 0,5; 0,75; 1; 1,5 mg NaCN/l nước biển, cho 10 cá thể cá vào mỗi bể trong vòng 2 giờ. Dựa vào các dấu hiệu như cá bơi lội bất thường, tăng động, tư thế mất cân bằng, bơi lên bề mặt bể, bơi trải ra và chiếm thể tích nước khoảng gấp đôi so với nhóm đối chứng không nhiễm xyanua [12] để xác định dấu hiệu cá nhiễm xyanua. Ngoài ra, màu sắc gan, mang cá khi bị nhiễm xyanua được so sánh với cá đối chứng không bị nhiễm.

Lặp lại thí nghiệm 3 lần, theo dõi tỉ lệ sống của cá phơi nhiễm trong 2 tuần và tính toán liều gây chết 50% Lethal Dose 50 (LD_{50}). LD_{50} được tính toán thông qua phương trình xây dựng từ trung bình tỉ lệ sống (%) và nồng độ xyanua trong nước biển (sử dụng phần mềm Excel 2013).

Sử dụng nồng độ LD_{50} này để gây độc cho cá trong các thử nghiệm giải độc tiếp theo.

Bể đối chứng 20 l được bố trí nuôi 10 cá thể khoang cổ tự nhiên trong suốt thời gian thử nghiệm giải độc.

Bố trí thí nghiệm thử nghiệm giải độc xyanua

Đánh giá hiệu quả giải độc thông qua hai hình thức giải độc tiêm và ngâm

Các cá thể cá khoang cổ nhiễm xyanua được sục oxy cho đến khi hồi tỉnh khoảng 3–5 phút trong bể có dung tích 20 l, sau đó được đưa vào thử nghiệm. Cá được dùng thử nghiệm: Cá nhiễm xyanua hồi tỉnh sau 30 s, sau 1 giờ và sau 24 giờ.

Một số cá thể khoang cổ (n = 3) bị nhiễm được dùng để xác định hàm lượng xyanua tích lũy trong cơ thể. Hàm lượng xyanua được phân tích theo TCVN 6648:2000 [13] và TCVN10497:2015 [14]. Kết quả này dùng để tính toán hàm lượng hóa chất sử dụng để giải độc cá khoang cổ.

Hai hình thức giải độc được áp dụng là tiêm vào cơ thể cá hóa chất giải độc và ngâm tắm cho cá với hóa chất trong nước biển (hình 3).

Thí nghiệm 1: Thử nghiệm giải độc xyanua cho cá bằng hydroxocobalamin

Thử nghiệm 1.1: Tiêm hydroxocobalamin vào cơ thể cá

Chọn 13 cá thể cá khoang cổ đã bị phơi nhiễm xyanua có trọng lượng từ 5 g trở lên.

Tiêm trực tiếp 0,1 ml dung dịch hóa chất hydroxocobalamin vào cơ thể mỗi cá thể với liều thích hợp (32 µg/liều) để trung hòa hàm lượng xyanua tích lũy.

Cá thí nghiệm được nuôi trong bể dung tích 20 l nước biển có sục oxy. Sau 24 giờ, lấy 3 cá thể để xác định hàm lượng xyanua tích lũy còn lại trong cơ thể cá. Số cá còn lại (10 con) được tiếp tục nuôi 4 tuần để theo dõi tỉ lệ sống.

Thử nghiệm 1.2: Ngâm dung dịch hydroxocobalamin cho cá

Tương tự thí nghiệm trên, chọn 13 cá thể cá khoang cổ đã bị phơi nhiễm xyanua có trọng lượng từ 5 g trở lên. Ngâm trực tiếp cá trong nước biển có chứa hydroxocobalamin (32 mg/l nước biển) 45 phút để trung hòa hàm lượng xyanua tích lũy trong cơ thể.

Thí nghiệm 2: Thử nghiệm giải độc xyanua cho cá bằng natri thiosulfat

Thử nghiệm 2.1: Tiêm vào cơ thể cá liều 0,1 ml dung dịch hóa chất natri thiosulfat (3,63 µg/liều).

Thử nghiệm 2.2: Ngâm tắm cho cá 45 phút (hàm lượng natri thiosulfat 3,63 mg/l nước biển) được bố trí tượng tự như thí nghiệm 1.

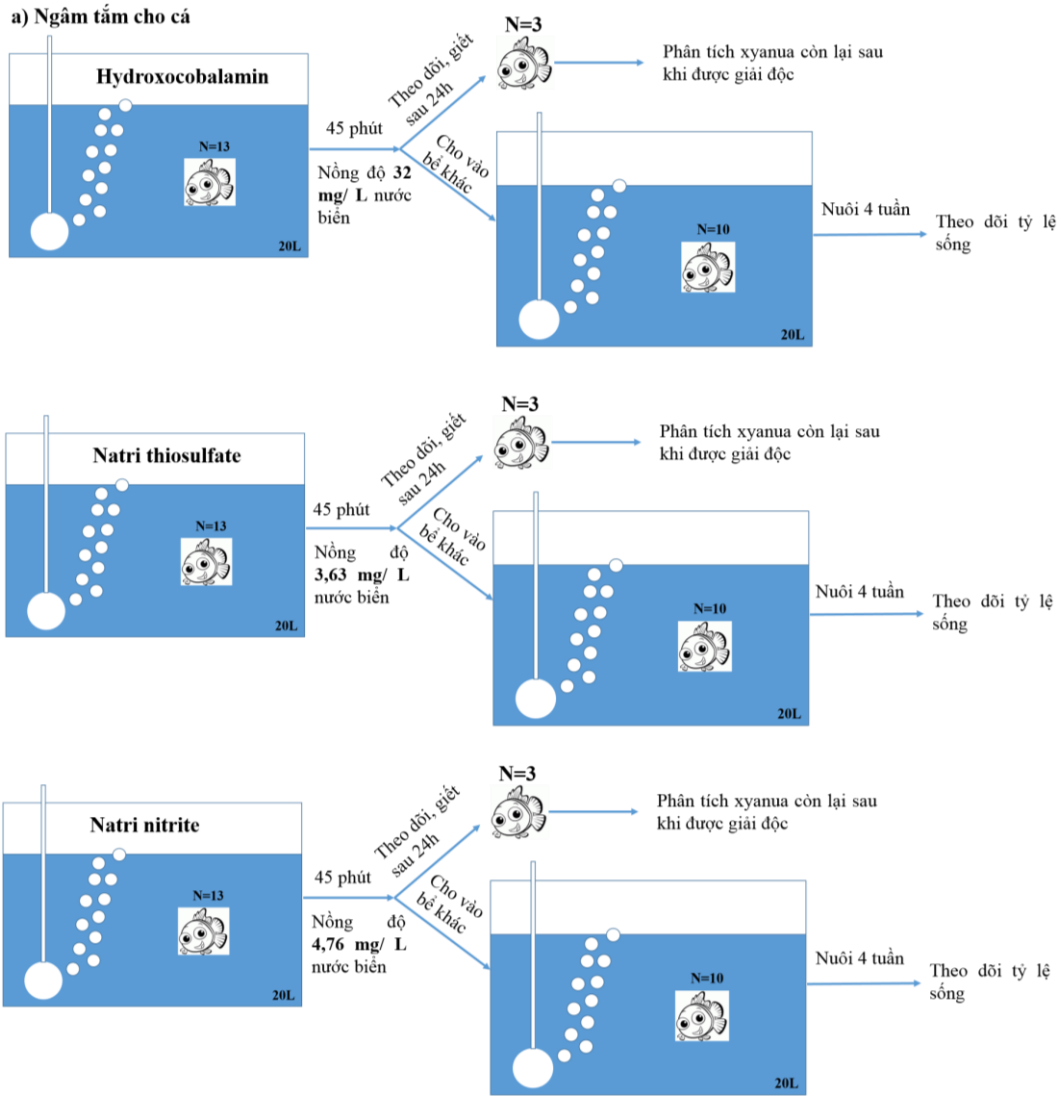
Thí nghiệm 3: Thử nghiệm giải độc xyanua cho cá bằng natri nitrit

Thử nghiệm 3.1: Tiêm vào cơ thể cá liều 0,1 ml dung dịch hóa chất natri nitrit (4,76 µg/liều).

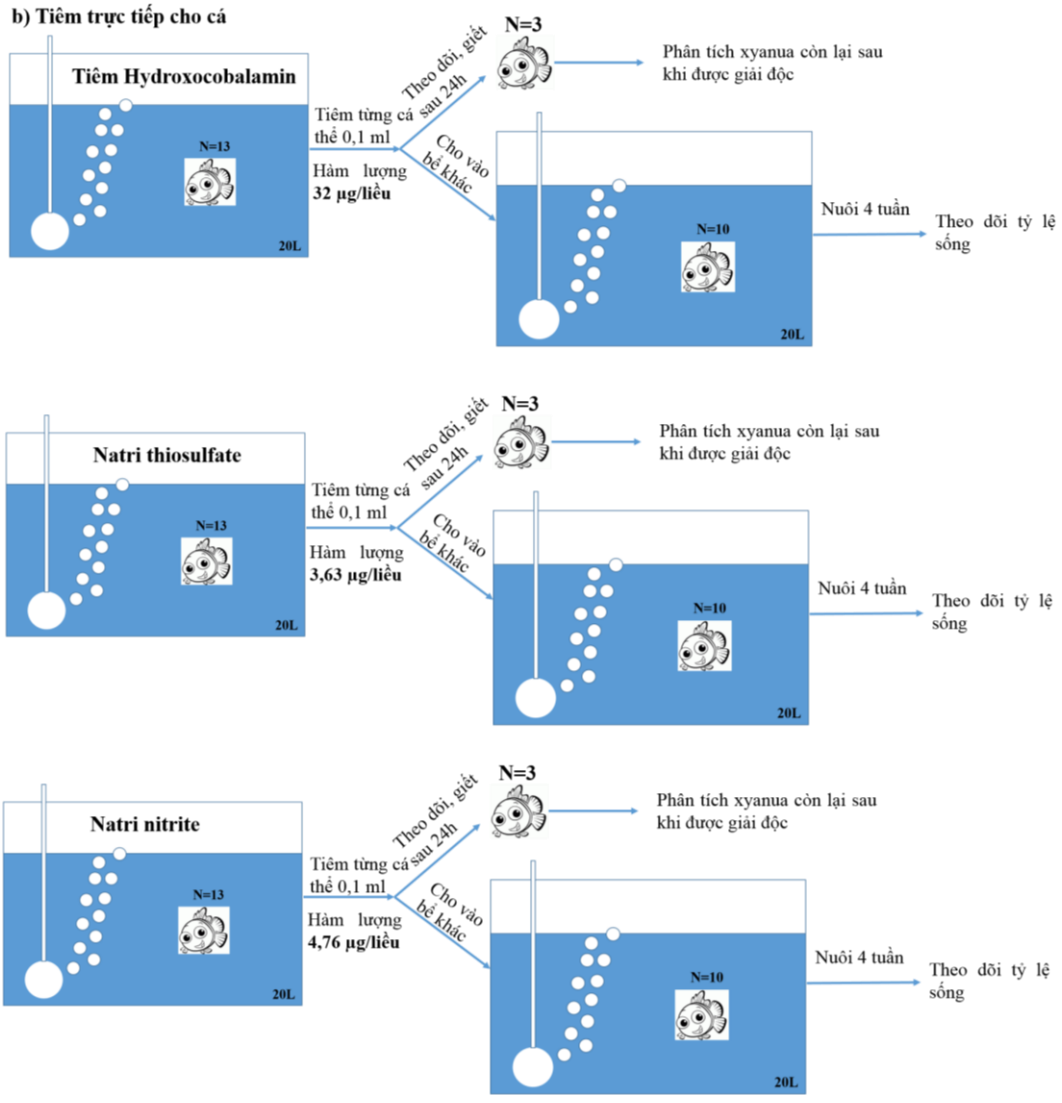
Thử nghiệm 3.2 Ngâm tắm cho cá 45 phút (hàm lượng natri nitrit 4,76 mg/l nước biển) được bố trí tượng tự như thí nghiệm 1.

Các thử nghiệm giải độc được lặp lại lần 2 (ngay sau khi thí nghiệm lần 1 kết thúc) để đánh giá tỉ lệ sống.

Thông qua số liệu tỉ lệ sống và hàm lượng xyanua tích lũy trong cơ thể cá, đánh giá hiệu quả giải độc xyanua của 2 cách thức để lựa chọn hình thức tiêm hoặc ngâm tắm hydroxocobalamin, natri thiosulfat và natri nitrit.



Hình 3. Sơ đồ mô tả phương pháp giải độc xyanua cho cá: a) Ngâm tắm cho cá với nồng độ hóa chất thích hợp trong nước biển và b) Tiêm vào cơ thể cá liều hóa chất giải độc



Hình 3. Sơ đồ mô tả phương pháp giải độc xyanua cho cá: a) Ngâm tắm cho cá với nồng độ hóa chất thích hợp trong nước biển và b) Tiêm vào cơ thể cá liều hóa chất giải độc (tiếp)

Đánh giá hiệu quả giải độc cho cá nhiễm xyanua theo thời điểm giải độc

Thông qua số liệu tỉ lệ sống và hàm lượng xyanua tích lũy trong cơ thể cá ở các thí nghiệm trên, đánh giá hiệu quả giải độc xyanua theo thời điểm giải độc (ngay sau khi nhiễm, nhiễm sau 1 giờ và sau 24 giờ) bằng hình thức giải độc được cho là tốt hơn.

Xử lý số liệu

Hàm lượng xyanua tích lũy trong cá khoang cổ (µg/kg) được thể hiện bằng giá trị trung bình ± SE. Sự sai khác hàm lượng xyanua trong các mẫu nghiên cứu trong cùng lô theo hình thức tiêm hoặc ngâm được thực hiện bằng phép ANOVA một chiều, tiếp theo bằng Tukey test. Sự sai khác hàm lượng độc tố giữa 2 lô cùng giải độc bằng một loại hóa chất giữa hình thức tiêm và ngâm được phân tích bằng Student T-test.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Dấu hiệu cá nhiễm xyanua

Sau khi cân đo 10 cá thể cá khoang cổ, trọng lượng và kích thước trung bình lần lượt là 6,00 ± 2,45 g; 4,24 ± 0,90 cm.

Sau khi phơi nhiễm 10 cá thể cá khoang cổ ở các nồng độ khác nhau 0,25; 0,4; 0,5; 0,75; 1; 1,5 mg NaCN/l nước biển, quan sát dấu hiệu bất thường so với cá đối chứng. Ở nồng độ 0,25 mg NaCN/l nước biển, cá bơi bình thường, không có biểu hiện bất thường nào trong khoảng thời gian ngâm 2 giờ. Đối với các nồng độ 0,4; 0,5; 0,75; 1; 1,5 mg NaCN/l nước biển, sau 2–3 phút, tất cả các cá thể cá đều có dấu hiệu bơi lội bất thường, tăng động, tư thế mất cân bằng, đớp nước liên tục, bơi lên bề mặt bể, bơi trải ra và chiếm thể tích nước khoảng gấp đôi so với nhóm đối chứng không nhiễm xyanua. Ở các nồng độ cao như 1 mg NaCN/l và 1,5 mg NaCN/l nước biển, cá có biểu hiện sốc, đớp nước liên tục, nhanh và tăng động nhiều hơn so với các nồng độ thấp.

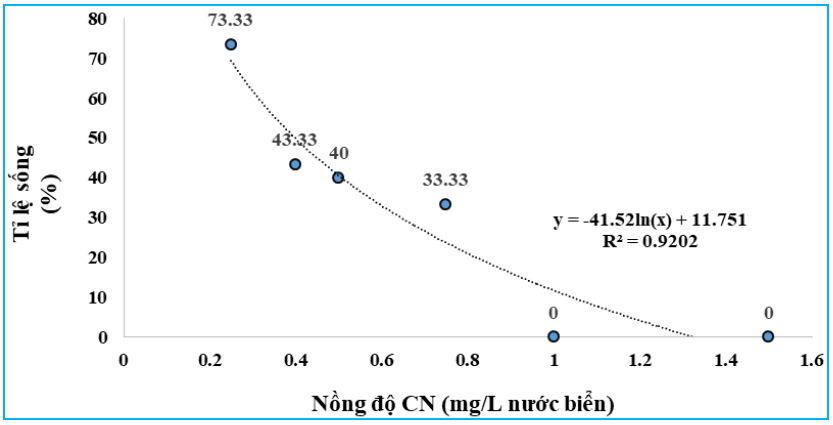
Nồng độ phơi nhiễm xyanua

Lô đối chứng gồm 10 con được nuôi trong bể nước tuần hoàn có tỉ lệ sống 100% trong quá trình thí nghiệm. Sau 2 tuần theo dõi tỉ lệ sống của cá khoang cổ bị nhiễm xyanua (bảng 1), ở các nồng độ thấp là 0,25; 0,4; 0,5 mg NaCN/l nước biển, tỉ lệ cá sống trung bình vào khoảng 40–73%. Ở nồng độ cao hơn là 0,75 mg NaCN/l nước biển, chỉ 33% cá có thể tự hồi phục; và đối với nồng độ lớn hơn là 1 mg NaCN/L và 1,5 mg NaCN/L nước biển, không có cá thể nào có thể sống sót trong 2 tuần (bảng 1). Kết quả này cho thấy sự tương đồng khi so sánh với các nghiên cứu trước đây: Xyanua có thể gây tử vong cho cá trong vòng 96 giờ ở nồng độ lớn hơn từ 0,1–0,3 mg/l [4], nếu cá không chết trong vòng 96 giờ thì có thể chết ở những ngày sau đó [5] và có tỉ lệ nhất định các cá thể cá có thể tự hồi phục do cơ chế enzyme khi phơi nhiễm ở nồng độ thấp [10].

Dựa vào đồ thị trên hình 4, giá trị R^2 = 0,9202 thể hiện mối tương quan nghịch chặt chẽ giữa tỉ lệ sống (%) của cá khoang cổ và nồng độ CN (mg/l nước biển), nồng độ xyanua càng cao thì tỉ lệ sống của cá phơi nhiễm càng thấp. Và giá trị LD_{50} - liều gây chết trung bình 50% cá khoang cổ được tính toán thông qua phương trình này là 0,398 mg/l nước biển. Do đó, nồng độ LD_{50} = 0,398 mg NaCN/l nước biển được lựa chọn để phơi nhiễm cá sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

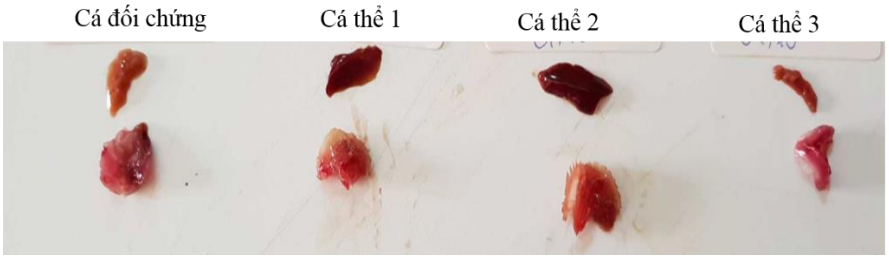
Bảng 1. Tỉ lệ cá có dấu hiệu nhiễm xyanua theo các nồng độ khác nhau

Nồng độ CN (mg/l nước biển)	Thời gian phơi nhiễm (phút)	Số cá có dấu hiệu nhiễm xyanua (%)	Tỉ lệ sống của cá sau 2 tuần (%)
0,25	120	0	73,33 ± 5,77
0,4	4	100	43,33 ±11,54
0,5	4	100	40 ± 10
0,75	4	100	33,33 ± 5,77
1	4	100	0
1,5	4	100	0



Hình 4. Đồ thị biểu diễn tương quan giữa tỉ lệ sống trung bình (%) của cá khoang cổ và nồng độ CN (mg/l nước biển) gây phơi nhiễm cho cá

Hình 5 cho thấy gan và mang của 3 cá thể cá khoang cổ bị phơi nhiễm ở nồng độ 0,398 mg NaCN/l nước biển so sánh với cá thể đối chứng không bị nhiễm xyanua. Sau khi chết đi, gan cá bị nhiễm xyanua có màu nâu sậm, màu sắc không tươi sáng so với cá đối chứng. Sự thay đổi màu sắc gan cho thấy xyanua đã xâm nhập và ngăn chặn chức năng enzyme ATPase trong gan, cuối cùng làm cá chết [12]. Trong khi đó, không có sự thay đổi rõ rệt về màu sắc của mang cá nhiễm và không nhiễm xyanua.



Hình 5. Gan và mang cá bị phơi nhiễm ở nồng độ 0,398 mg NaCN/l nước biển so sánh với cá đối chứng

Hiệu quả giải độc qua hai hình thức tiêm và ngâm

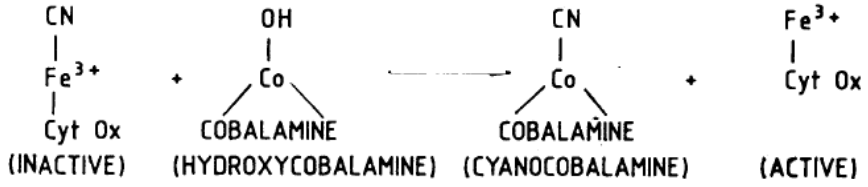
Hàm lượng xyanua tích lũy trong cơ thể cá

Hàm lượng xyanua tích lũy trong cơ thể cá được trình bày trong bảng 2.

Ngay sau khi bị phơi nhiễm ở nồng độ 0,398 mg NaCN/L, xyanua tích lũy trong cá khoang cổ có hàm lượng 66,57 ± 12,42 µg/kg. Khi tiêm trực tiếp hóa chất vào cơ thể cá để giải độc, lượng hóa chất tiêm vào được dựa vào nồng độ mol CN^- và nồng độ mol hóa chất giải độc. Đối với natri thiosulfate, tỉ lệ mol $CN^-/S_2O_3^{2-}$ là 1:1 theo phương trình (1) để giải phóng thiocyanate ít độc hơn.

$$CN^- + S_2O_3^{2-} \rightarrow SCN^- + SO_3^{2-} \quad (1)\ [15]$$

Đối với natri nitrit, muối nitrit cạnh tranh trực tiếp với vị trí gắn của phức hợp xyanua với methemoglobin tạo thành cyanomethemoglobin ít độc hơn, tỉ lệ mol của CN^-/NO_2^- = 1:3 được sử dụng để giải độc xyanua vì muối nitrit được cho rằng cạnh tranh tạo methemoglobin trung gian với tốc độ chậm [16]. Trong khi đó, hydroxocobalamin tham gia chuyển hóa xyanua ức chế enzyme cytochrome oxidase thành cyanocobalamin ít độc hơn với tỉ lệ mol CN^-/hydroxocobalamin = 1:1 theo phương trình (2):



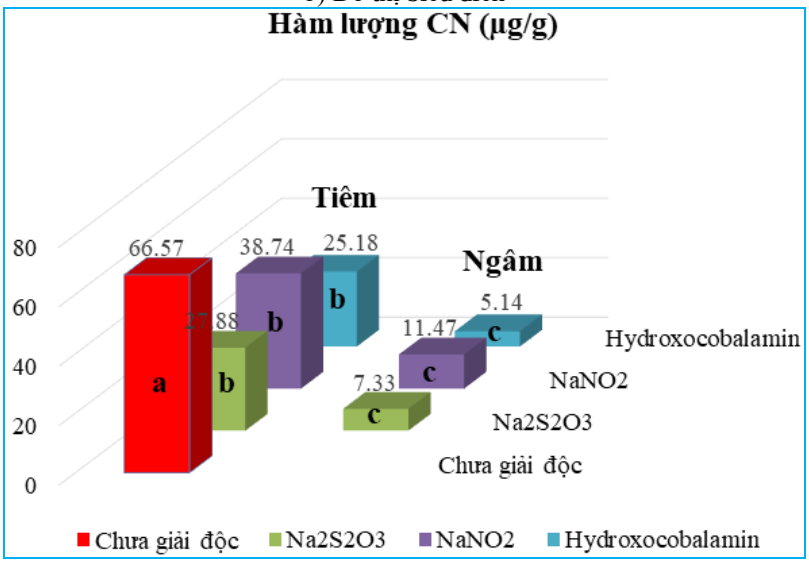
(2) [16]

Bảng 2. Hàm lượng xyanua tích lũy trong cơ thể cá chưa giải độc và sau khi sử dụng hai hình thức giải độc tiêm và ngâm với các loại hóa chất khác nhau

a) Bảng số liệu

	Chưa giải độc	Sử dụng hóa chất $Na_2S_2O_3$		Sử dụng hóa chất $NaNO_2$		Sử dụng hóa chất hydroxocolabamin	
		Tiêm	Ngâm	Tiêm	Ngâm	Tiêm	Ngâm
Hàm lượng xyanua tích lũy (µg/kg)	66,57 ± 12,42	27,88 ± 4,68[a]	7,33 ± 0,88[b]	38,74 ± 4,54[a]	11,47 ± 0,41[b]	25,18 ± 6,67[a]	5,14 ± 1,48[b]
		p = 0,009		p = 0,004		p = 0,01	

b) Đồ thị biểu diễn



Ghi chú: Các chữ cái a, b,c biểu thị sự sai khác có ý nghĩa của giá trị trung bình hàm lượng xyanua trong mỗi hình thức giải độc ($p < 0,05$, Tukey test)

Đối với lượng hóa chất ngâm, tỉ lệ hàm lượng hóa chất cho vào ngâm cá bị phơi nhiễm trong 45 phút được tính toán gấp 10 lần lượng tiêm/l nước biển, cụ thể đối với $Na_2S_2O_3$, hàm lượng hóa chất là 3,63 mg/l nước biển; với $NaNO_2$ là 4,76 mg/l nước biển và hydroxocobalamin là 32 mg/l nước biển.

Theo bảng 2, cá sau khi phơi nhiễm xyanua ở nồng độ được lựa chọn (0,388 mg/l nước biển) có hàm lượng 66,57±12,42 µg xyanua/kg. Sau 24h sử dụng hai hình thức giải độc tiêm và ngâm với các loại hóa chất khác nhau, hàm lượng xyanua tích lũy trong cơ thể cá giảm đi khi so sánh với cá đối chứng không giải độc. Cụ thể, khi giải độc bằng cách tiêm và ngâm cá sử dụng $Na_2S_2O_3$, hàm lượng xyanua còn lại trong cá khoang cổ có sự sai khác đáng kể giữa 2 hình thức, với giá trị 7,33±0,88 µg/kg bằng hình thức ngâm và 27,88±4,68 µg/kg bằng hình thức tiêm ($p < 0,05$). Tương tự đối với $NaNO_2$ và hydroxocobalamin, hàm lượng độc tố xyanua còn lại ở cá giải độc bằng hình thức ngâm thấp hơn đáng kể so với hình thức tiêm ($p < 0,05$).Ngoài ra, đối với hình thức tiêm, hàm lượng trung bình (HLTB) xyanua của cá chưa được giải độc và của cá được giải độc bằng hình thức tiêm với 3 loại hóa chất khác nhau có sự sai khác đáng kể ($p = 0,0007 < 0,05$). Tuy nhiên, mặc dù hàm lượng xyanua còn lại khi sử dụng hydroxocobalamin giải độc là nhỏ nhất, 25,18 ± 6,67 µg/kg so với 2 loại hóa chất khác, phép thống kê Tukey test lại cho thấy không có sự khác nhau đáng kể ($p > 0,05$).

Tương tự, có sự sai khác đáng kể giữa HLTB ban đầu chưa được giải độc và giải độc bằng hình thức ngâm với 3 loại hóa chất (giá trị p rất nhỏ 5,53E-6). Ở đây xu hướng diễn biến tương tự như hình thức tiêm: Sau khi ngâm giải độc cá bằng hydroxocobalamin, hàm lượng độc tố còn lại cũng có giá trị thấp nhất trong ba loại hóa chất, 5,14 ± 1,48 µg/kg; tuy nhiên phép thống kê Tukey test cho thấy không có sự khác nhau đáng kể $p > 0,05$ giữa hàm lượng xyanua tích lũy trong cơ thể cá khi ngâm giải độc bằng ba loại hóa chất này.

Thông qua các số liệu về hàm lượng xyanua ở trên cho thấy cá được giải độc xyanua bằng cả 2 hình thức tiêm và ngâm có hàm lượng xyanua giảm, hình thức ngâm các loại hóa chất khác nhau cho cá bị nhiễm xyanua phù hợp hơn hình thức tiêm.

Tỉ lệ sống của cá

Tỉ lệ sống của cá được giải độc bằng các loại hóa chất khác nhau được trình bày trong bảng 3. Lô đối chứng gồm 10 con được nuôi trong bể nước tuần hoàn có tỉ lệ sống 90% trong 4 tuần.

Sau khi giải độc bằng 2 hình thức tiêm và ngâm, cá được nuôi để theo dõi tỉ lệ sống trong vòng 4 tuần. Sau 4 tuần theo dõi, cá không được giải độc có tỉ lệ sống từ 30–40%. Trong khi đó, khi giải độc bằng hình thức tiêm và ngâm cá sử dụng các loại hóa chất khác nhau, tỉ lệ cá sống khi ngâm (60–80%) có xu hướng cao hơn đáng kể so với tiêm trực tiếp hóa chất vào cá (30–50%).

Đối với hình thức tiêm, giá trị tỉ lệ sống của cá chưa được giải độc và của cá được giải độc qua hai lần thử nghiệm với 3 loại hóa chất khác nhau không có sự sai khác đáng kể (tỉ lệ sống theo dõi vào khoảng 30–50%). Ngược lại, với hình thức ngâm, cá được giải độc bằng 3 loại hóa chất khác nhau có tỉ lệ sống cao hơn (từ 60–80%) so với cá đối chứng không giải độc (30–40%).

Số liệu về tỉ lệ sống của cá được giải độc ở trên cho thấy, cá sau khi được giải độc xyanua bằng hình thức ngâm 3 loại hóa chất khác nhau có tỉ lệ sống cao hơn so với cá không được giải độc.

Như vậy, hình thức ngâm cá bị nhiễm xyanua bằng các loại hóa chất khác nhau đã cho thấy hiệu quả giải độc, hàm lượng xyanua sau 24 giờ giảm hẳn so với hàm lượng xyanua trong cá đối chứng không giải độc, tỉ lệ sống của cá được giải độc cao hơn so với cá không giải độc.

Bảng 3. Tỉ lệ sống của cá chưa và được giải độc sau hai lần thử nghiệm trong 4 tuần sử dụng hai hình thức giải độc tiêm và ngâm với các loại hóa chất khác nhau

	Chưa giải độc	Sử dụng hóa chất $Na_2S_2O_3$		Sử dụng hóa chất $NaNO_2$		Sử dụng hóa chất hydroxocolabamin	
		Tiêm	Ngâm	Tiêm	Ngâm	Tiêm	Ngâm
Tỉ lệ sống (%)	30	30	60	40	60	40	60
	40	30	70	40	80	50	60

Hiệu quả giải độc theo thời điểm

Do hình thức ngâm có hiệu quả cao hơn so với hình thức tiêm, giúp làm giảm hàm lượng xyanua so với cá bị nhiễm độc và làm tăng tỉ lệ sống của cá nên chúng tôi đã thử nghiệm giải độc theo các thời điểm khác nhau (ngay sau khi phơi nhiễm hồi tỉnh 30 s, sau 1 giờ và sau 24 giờ) cho cá bằng cách ngâm các hóa chất khác nhau.

Hàm lượng xyanua tích lũy trong cơ thể cá

Hàm lượng xyanua trước và sau khi giải độc bằng hình thức ngâm các loại hóa chất khác nhau theo thời điểm giải độc: Giải độc ngay sau khi phơi nhiễm, sau 1 giờ và sau 24 giờ được thể hiện ở bảng 4.

Khi ngâm hóa chất $Na_2S_2O_3$, ở đây có sự sai khác đáng kể giữa HLTB xyanua tích lũy trong cá chưa giải độc và được giải độc ($p < 0,05$). Cụ thể, hàm lượng xyanua ở cá được giải độc giảm đáng kể so với cá chưa giải độc (66,57 ± 12,42 µg/kg), thấp nhất khi giải độc ngay sau bị nhiễm (7,33 ± 0,88 µg/kg) ($p < 0,05$). Việc giải độc sau 1 giờ khi ngâm $Na_2S_2O_3$ cũng làm hàm lượng độc tố tích lũy suy giảm, còn 27,75 ± 2,87 µg/kg, nhưng không sai khác đáng kể so với HLTB xyanua trong cá được giải độc sau 24 h (40,51 ± 2,08 µg/kg).

Bảng 4. Hàm lượng xyanua tích lũy trong cơ thể cá chưa giải độc và sau khi sử dụng hình thức giải độc ngâm theo thời điểm

Hàm lượng xyanua (µg/kg)		
Chưa giải độc		66,57 ± 12,42
Ngâm hóa chất $Na_2S_2O_3$	Giải độc ngay sau khi phơi nhiễm	7,33 ± 0,88
	Giải độc sau 1 h	27,75 ± 2,87
	Giải độc sau 24 h	40,51 ± 2,08
Ngâm hóa chất $NaNO_2$	Giải độc ngay sau khi phơi nhiễm	11,47 ± 0,41
	Giải độc sau 1 h	16,25 ± 0,63
	Giải độc sau 24 h	35,53 ± 1,95
Ngâm hóa chất hydroxocobalamin	Giải độc ngay sau khi phơi nhiễm	5,14 ± 1,48
	Giải độc sau 1 h	12,68 ± 2,55
	Giải độc sau 24 h	36,96 ± 1,42

Đối với hóa chất $NaNO_2$, tương tự như trên, cá khi được giải độc có hàm lượng xyanua tích lũy giảm đi rất nhiều so với cá chưa được giải độc ($p < 0,05$). HLTB xyanua của cá được giải độc ngay sau khi bị nhiễm (11,47 ± 0,41 µg/kg) và giải độc sau 1 giờ (HLTB xyanua 16,25 ± 0,63 µg/kg) được xem như tương đương về mặt thống kê, tuy nhiên hiệu quả giải độc theo 2 thời điểm này lại có sự sai khác đáng kể khi so sánh với HLTB xyanua ở cá được giải độc sau 24 giờ (35,53 ± 1,95 µg/kg).

Xu hướng này được quan sát tương tự đối với hóa chất Hydroxocobalamin. HLTB xyanua của cá được giải độc có sự sai khác đáng kể so với cá chưa giải độc ($p < 0,05$). Cụ thể, HLTB xyanua có trong cá được giải độc ngay sau bị nhiễm (5,14 ± 1,48 µg/kg) và sau 1 giờ (12,68 ± 2,55 µg/kg) không có sự khác biệt thống kê. Việc giải độc sau 24 giờ làm HLTB xyanua trong cá suy giảm còn 36,96 ± 1,42 µg/kg, nhưng cao hơn đáng kể so HLTB xyanua ở cá được giải độc ngay sau bị nhiễm và sau 1 giờ.

Tỉ lệ sống của cá

Tỉ lệ sống của cá chưa và được giải độc bằng hình thức ngâm được trình bày trong bảng 5.

Qua bảng 5, chúng tôi nhận thấy tỉ lệ sống của cá được giải độc cao hơn hẳn (60–100%) so với cá chưa được giải độc (30–40%). Tuy nhiên tỉ lệ sống của cá được giải độc theo thời điểm khi ngâm $Na_2S_2O_3$ (giải độc sau khi phơi nhiễm, sau 1 giờ và sau 24 giờ) được xem là tương đương nhau qua 2 lần theo dõi thí nghiệm do số liệu không có sự chênh lệch. Cũng vậy đối với 2 hóa chất còn lại, hiệu quả của việc giải độc theo thời điểm được xem là như nhau do tỉ lệ sống của cá không có sai khác đáng kể.

Kết quả thu được cho thấy hình thức ngâm cả 3 loại hóa chất được xem là phù hợp, có thể sử dụng trong những tình huống giải độc muộn, chưa kịp thời với cá bị nhiễm xyanua (sau phơi nhiễm 1 ngày), giúp tăng tỉ lệ sống của cá.

Bảng 5. Tỉ lệ sống của cá chưa và được giải độc sau 4 tuần sử dụng hình thức giải độc ngâm với các loại hóa chất khác nhau theo thời điểm

Tỉ lệ sống (%)		Lần 1	Lần 2
Chưa giải độc		30	40
Ngâm hóa chất $Na_2S_2O_3$	Giải độc ngay sau khi phơi nhiễm	60	70
	Giải độc sau 1 h	50	60
	Giải độc sau 24 h	100	60
Ngâm hóa chất $NaNO_2$	Giải độc ngay sau khi phơi nhiễm	70	80
	Giải độc sau 1 h	60	70
	Giải độc sau 24 h	60	80
Ngâm hóa chất hydroxocobalamin	Giải độc ngay sau khi phơi nhiễm	60	60
	Giải độc sau 1 h	60	100
	Giải độc sau 24 h	70	60

KẾT LUẬN

Nghiên cứu bước đầu cho thấy hiệu quả của việc giải độc xyanua cho cá cảnh biển bằng các loại hóa chất khác nhau như $NaNO_2$, $Na_2S_2O_3$ và hydroxocobalamin. Cá khoang cổ nhiễm xyanua được giải độc bằng hình thức ngâm có tỉ lệ sống cao hơn hình thức tiêm, do đó việc ngâm hóa chất giải độc phù hợp đối với cá khoang cổ - là loài có kích thước nhỏ. Hiệu quả của việc giải độc theo thời điểm (ngay sau bị nhiễm, sau 1 giờ và 24 giờ) ở cá khoang cổ nhiễm xyanua là tương tự do tỷ lệ cá sống không khác biệt đáng kể.

Lời cảm ơn: Bài báo này có kết quả từ đề tài bảo tàng 2018–2019 do Viện Hải dương học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam tài trợ kinh phí. Các tác giả xin cảm ơn các thành viên Phòng Kỹ thuật nuôi, Viện Hải dương học đã tham gia giúp đỡ trong quá trình thực hiện nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Kirk, M. A., Holstege, C. P., and Isom, G. E., 2011. Cyanide and hydrogen sulfide. *Nelson LS, Lewin NA, Howland MA, et al., eds*, 340–358.

[2] Trestrail, J. H., 2007. Criminal poisoning: Investigational guide for law enforcement, toxicologists, forensic scientists, and attorneys. *Springer Science & Business Media*.

[3] Unnisa, Z. A., and Devaraj, N. S., 2007. Effect of methacrylo-nitrile on membrane bound enzymes of rat brain. *Ind. J. Physiol. Pharmacol*, *51*(4), 405–409.

[4] Doudoroff, P., 1980. A critical review of recent literature on the toxicity of cyanides to fish. *American Petroleum Institute*. 71 p.

[5] Leduc, G. 1984. Cyanides in water: Toxicological significance. *Weber, L. J. ed., Aquatic toxicology*, Vol. 2. *Raven Press, New York*, pp. 153–224.

[6] Ruby, S. M., Dixon, D. G., and Leduc, G., 1979. Inhibition of spermatogenesis in rainbow trout during chronic cyanide poisoning. *Archives of environmental contamination and toxicology*, *8*(5), 533–544.

[7] Cheng, S. K., and Ruby, S. M., 1981. Effects of pulse exposure to sublethal levels of hydrogen cyanide on reproduction of American flagfish. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, *10*(1), 105–116.

[8] Eisler, R., and Wiemeyer, S. N., 2004. Cyanide hazards to plants and animals from gold mining and related water issues. In *Reviews of environmental contamination and toxicology* (pp. 21–54). *Springer, New York, NY*.

[9] Hossein, T., and Reza, R., 2011. Some biochemical properties of rhodanese from liver of Rainbow Trout. In *Int. Conf. Med. Biol and Pharmaceutical Sciences* (Vol. 1, pp. 1–3).

[10] Bellwood, D. R., 1981. Cyanide... An investigation into the long term histological effects of sodium cyanide doses upon the gastro-intestinal tract of Dascyllus trimaculatus. Part One. *Freshwater and Marine Aquarium*, *4*, 31–35.

[11] Lee, S. W., and Kim, J. S., 2013. Antidotes of cyanide intoxication. *Journal of the Korean Medical Association*, *56*(12), 1076–1083.

[12] Prashanth, M. S., Sayeswara, H. A., and Goudar, M. A., 2011. Effect of sodium cyanide on behaviour and respiratory surveillance in freshwater fish, *Labeo rohita* (Hamilton). *Recent Research in Science and Technology*, *3*(2), 24–30.

[13] TCVN 6648:2000 (ISO 11465:1993) về chất lượng đất - Xác định chất khô và hàm lượng nước theo khối lượng - phương pháp khối lượng do Bộ Khoa học Công nghệ và Môi trường ban hành.

[14] TCVN 10497:2015 (ISO 11262:2011) về chất lượng đất - Xác định xyanua tổng số. Tổng cục Môi trường biên soạn, Bộ Tài nguyên và Môi trường đề nghị, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ khoa học và Công nghệ công bố.

[15] Satyanarayana, T., Johri, B. N., and Prakash, A. (Eds.), 2012. Microorganisms in environmental management: microbes and environment. *Springer Science & Business Media*.

[16] Raza, S. K., and Jaiswal, D. K., 1994. Mechanism of cyanide toxicity and efficacy of its antidotes. *Defence Science Journal*, *44*(4), 331–340.