

ĐỘC TÍNH TETRODOTOXIN TÍCH LŨY TÔM HE CHÂN TRẮNG *LITOPENAEUS VANAMEI* (BOONE, 1931) TRONG THÍ NGHIỆM NUÔI CHO ĂN THỨC ĂN CHẾ BIẾN TỪ CÁ NÓC ĐỘC

Đào Việt Hà, Phạm Xuân Kỳ, Nguyễn Phương Anh

Viện Hải dương học-Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Địa chỉ: Đào Việt Hà, Viện Hải dương học,
Số 1 Cầu Đá, Nha Trang, Khánh Hòa, Việt Nam. E-mail: daovietha69@gmail.com

Ngày nhận bài: 10-4-2012

TÓM TẮT

Tôm He Chân trắng *Litopenaeus vanamei* (Boone, 1931) khoảng 1 tháng tuổi được nuôi bằng thức ăn chế biến từ gan và cơ cá nóc Chấm cam *Torquigener gloerfelti* với liều độc 33,4 MU/g trong thời gian 4 tháng. Lô tôm He Chân trắng cho ăn thức ăn chế biến từ cá nóc độc có tỉ lệ sống và tốc độ sinh trưởng tương đương với lô đối chứng (cho ăn bằng thức ăn công nghiệp), chứng tỏ loài này không chịu ảnh hưởng xấu từ độc tố TTX từ nguồn thức ăn. Có mối tương quan thuận chặt chẽ ($R^2 = 0,97$) theo thời gian của độc tính TTX trong tôm He Chân trắng. Sau 3 tháng thí nghiệm, TTX trong tôm He Chân trắng đạt giá trị độc tính tương đương ngưỡng an toàn thực phẩm đối với độc tố này (10 MU/g) và gấp khoảng 1,5 lần ở thời điểm kết thúc thí nghiệm.

Sau 4 tháng nuôi, 33,3% số cá thể tôm He Chân trắng chứa độc tính TTX vượt ngưỡng an toàn và đặc biệt có những cá thể biểu hiện độc tính rất cao (>100 MU/g). Như vậy, nếu nuôi với liều độc cung cấp tương đương trong thí nghiệm này, xác suất gây ngộ độc từ vong cho người tiêu thụ sản phẩm nuôi là rất cao. Kết quả nghiên cứu này chỉ ra rằng hiện trạng sử dụng cá nóc độc làm thức ăn trong nuôi thủy sản là không chắc chắn bảo đảm an toàn thực phẩm.

MỞ ĐẦU

Hiện nay, dân địa phương một số vùng ven biển nước ta sử dụng các loài cá nóc độc thu gom được từ các thuyền đánh bắt hàng ngày để làm thức ăn cho một số đối tượng thủy sản nuôi như tôm Hùm, tôm Sú, tôm He Chân trắng, ốc Hương, cá Chêm, cua Xanh, Ghẹ ... Trên thực tế, chưa có ghi nhận chính thức nào về hiện tượng tử vong hàng loạt đối tượng nuôi do ăn cá nóc. Tuy nhiên, hiện nay chưa có công trình khoa học công bố nguy cơ tích lũy độc tố cho sinh vật nuôi nếu sử dụng cá nóc độc làm thức ăn thủy sản, do đó, đây là vấn đề hoàn toàn tự phát và thiếu cơ sở khoa học. Kể cả trong trường hợp đối tượng nuôi không bị ảnh hưởng xấu bởi nguồn thức ăn cá nóc, nhưng nguy cơ gây ngộ độc

cho người tiêu thụ từ độc tố TTX tích lũy trong sinh vật nuôi hoàn toàn chưa được biết đến.

Theo thông tin từ các đợt khảo sát của chúng tôi tại một số vùng ven biển Khánh Hòa, tôm He Chân trắng *Litopenaeus vanamei* là một trong số các đối tượng hải sản được nuôi khá phổ biến, có giá trị thương phẩm trên thị trường nội địa và xuất khẩu. Đây cũng chính là đối tượng nhiều nghi ngờ được các hộ nuôi cá thể tận dụng nguồn thủy sản nhỏ tạp, thu mua từ các bến cá địa phương, trong đó bao gồm các loài cá nóc độc để chế biến thức ăn. Do đó, có thể tôm He Chân trắng là đối tượng có nguy cơ bị nhiễm độc tố TTX từ nguồn thức ăn. Bài báo này công bố kết quả nghiên cứu độc tố tetrodotoxin tích

lũy trong tôm He chân trắng *L. vanamei* trong thí nghiệm nuôi cho ăn thức ăn chế biến từ cá nóc độc.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Chế biến thức ăn cho tôm He chân trắng từ cá nóc độc

Gan và cơ cá nóc Chấm cam *Torquigener gloerfelti* được xay nhuyễn, trộn với bột kết dính thức ăn cho tôm cá (MD AMPC) theo tỉ lệ 20g/1 g bột kết dính. Độc tính của viên thức ăn này được xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC theo [4] và được coi như là hàm lượng độc tố cung cấp đầu vào cho sinh vật nuôi trong thí nghiệm tích lũy.

Bố trí thí nghiệm nuôi

Thí nghiệm được tiến hành tại trại thực nghiệm của Viện Hải dương học bắt đầu từ ngày 17/8/2010 và kéo dài trong vòng 4 tháng. Có 2.000 cá thể tôm He Chân trắng *L. vanamei* khoảng 1 tháng tuổi được thu mua từ trại giống Cửa Bé đưa về nuôi thích nghi bằng thức ăn công nghiệp. Sau 2 tuần nuôi thích nghi, chọn những cá thể tôm khỏe mạnh, có kích cỡ tương đương nhau, nuôi trong 2 lô (lô thí nghiệm và lô đối chứng), mỗi lô gồm 3 bể lập lại, với mật độ 300 cá thể/bể. Hệ thống nuôi gồm các bể cấu tạo bằng nhựa tổng hợp (dung tích 2,0m³, độ sâu 1,2m), đặt trong phòng có mái che, nước hồ, bố trí sục khí đều trong bể. Thức ăn cho các lô tôm thử nghiệm là viên gan+cơ cá nóc Chấm cam và thức ăn công nghiệp đối với lô đối chứng.

Kiểm soát điều kiện môi trường nuôi ở nhiệt độ khoảng 25-28⁰C, pH khoảng 7,7-8,2, chăm sóc và vệ sinh (xi phông thức ăn thừa nếu có), thay nước 2 lần/tuần để đảm bảo sinh vật thí nghiệm sinh trưởng và phát triển bình thường.

Theo dõi tỷ lệ sống của tôm He Chân trắng trong các bể nuôi. Định kỳ hàng tháng thu 30 cá thể/bể, cân, đo kích thước và khối lượng để so sánh tốc độ sinh trưởng của chúng so sánh với đối chứng.

Xác định độc tố TTX tích lũy trong sinh vật nuôi

Hàng tháng, thu mỗi bể 30 cá thể, tách chiết độc tố TTX theo [1] và xác định hàm lượng độc tố bằng phương pháp HPLC theo [4]. Độc tố tích lũy được coi là độc tố phát hiện trong cơ thể sinh vật (toàn bộ mô mềm) sau thời gian nhất định nuôi bằng thức ăn chế biến từ cá nóc độc so sánh với đối chứng. Xử lý

số liệu bằng phép toán thống kê phân tích phương sai một yếu tố (One way ANOVA).

Độc tính cung cấp từ thức ăn cho từng cá thể tôm He Chân trắng trong một tháng được tính bằng độc tính trung bình của viên thức ăn chế biến (33,4 MU/g) nhân với lượng thức ăn cung cấp và chia cho số cá thể trong bể nuôi từng tháng. Độc tính cung cấp từ thức ăn theo khối lượng (g) của mỗi cá thể trong một tháng tính bằng độc tính cung cấp cho từng cá thể trong 1 tháng thí nghiệm chia cho khối lượng trung bình của sinh vật thử nghiệm. Thí nghiệm này chấp nhận giả định lượng thức ăn đầu vào được sinh vật tiêu thụ 100% và khả năng hấp thụ thức ăn của các cá thể trong loài của thí nghiệm là như nhau.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Sinh trưởng và tỉ lệ sống của tôm He Chân trắng cho ăn thức ăn chế biến từ cá nóc độc

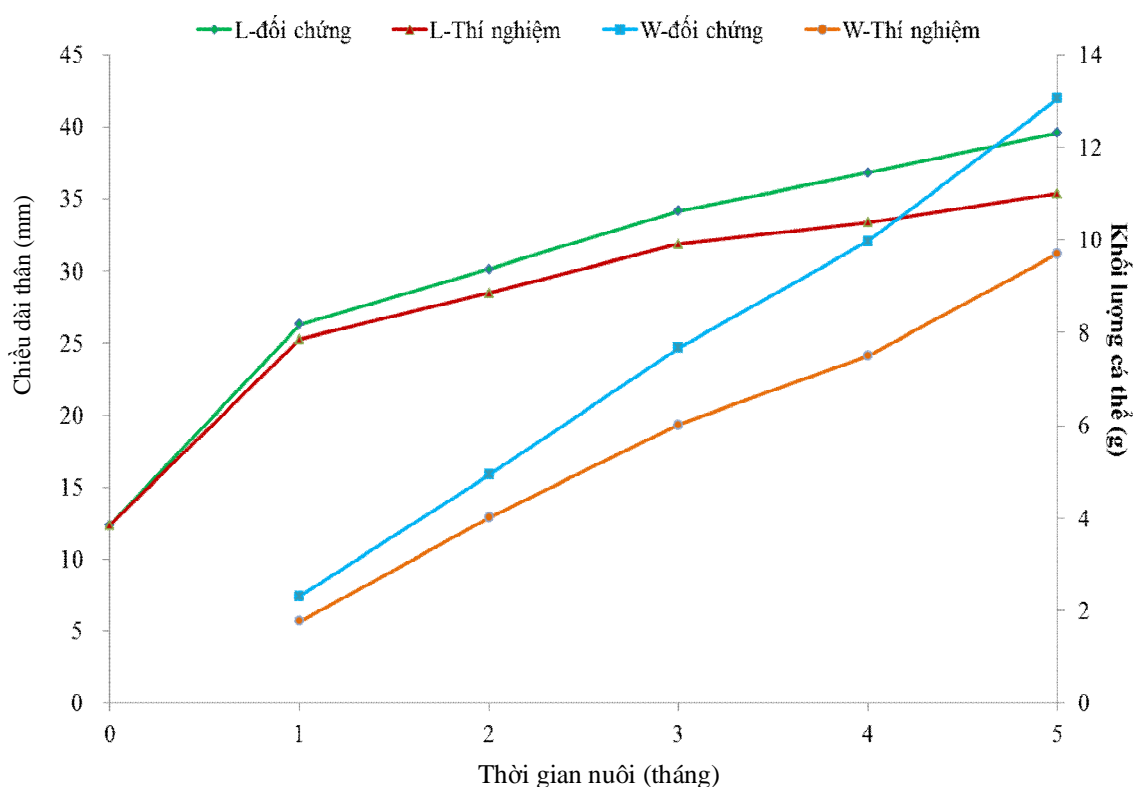
Trong suốt thí nghiệm nuôi, không phát hiện thấy có cá thể tôm He Chân trắng trong lô thí nghiệm bị chết. Do đó, có thể nói rằng hàm lượng độc tố trong khẩu phần thức ăn dùng trong thí nghiệm không gây chết đối với sinh vật thử nghiệm. Điều này cho phép nhận xét rằng nguồn độc tố TTX từ gan+thịt cá nóc Chấm cam phù hợp cho thí nghiệm nuôi. Với mục tiêu đánh giá sự tích lũy độc tố có thể từ nguồn thức ăn, chúng tôi cho tôm He Chân trắng ăn viên thức ăn chế biến từ gan+cơ cá nóc Chấm cam ở tần suất tối đa hàng tháng mà không ảnh hưởng nhiều đến sức khỏe và sinh trưởng của sinh vật.

Theo số liệu trong thí nghiệm tương tự đối với cá nóc *Takifugu niphobles* của Noguchi [3], liều độc tính tối thiểu gây tích lũy là 0,5 MU/g (sinh vật có biểu hiện tích lũy sau 3 tháng thí nghiệm). Như vậy, nguồn độc tính trong thức ăn sử dụng trong thí nghiệm của chúng tôi có giá trị thấp nhất vào tháng đầu tiên (0,63 MU/g) (bảng 1) đều đạt giá trị cao hơn ngưỡng tối thiểu. Có thể nói, độc tính trong thức ăn cung cấp đầu vào chế biến từ gan+cơ cá nóc Chấm cam đảm bảo gây sự tích lũy trong sinh vật thử nghiệm.

Kết quả phân tích thống kê cho thấy không có sự sai khác về các thông số chiều dài, khối lượng cá thể của lô thí nghiệm so với lô đối chứng. Tôm he Chân trắng được nuôi bằng thức ăn chế biến từ cá nóc độc sinh trưởng tương đương khi được nuôi bằng thức ăn công nghiệp (hình 1).

Bảng 1. Độc tính TTX (MU/g) cung cấp cho tôm He Chân trắng trong thức ăn chế biến từ gan+cơ cá nóc Chấm cam [3]

| Thời gian thí nghiệm (tháng) | Khối lượng trung bình cá thể | Lượng thức ăn (g)/cá thể/tháng | (MU/g) /cá thể /tháng | (MU/g) /g cá thể/tháng (ngày) |
|------------------------------|------------------------------|--------------------------------|-----------------------|-------------------------------|
| Tháng thứ 1 | 1,59 ± 0,35 | 0,90 | 30 | 18,8 (0,63) |
| Tháng thứ 2 | 3,00 ± 0,78 | 2,33 | 78 | 26,0 (0,87) |
| Tháng thứ 3 | 4,58 ± 0,72 | 4,79 | 160 | 24,6 (0,82) |
| Tháng thứ 4 | 9,11 ± 2,20 | 9,53 | 318 | 34,9 (1,16) |



Hình 1. Sinh trưởng của tôm he Chân trắng trong thí nghiệm nuôi (n=60)

*L-đối chứng: Chiều dài trung bình (TB) thân lô đối chứng; L-Thí nghiệm: Chiều dài thân lô thí nghiệm
W-đối chứng: Khối lượng TB lô đối chứng; W-Thí nghiệm: Khối lượng TB lô thí nghiệm*

Độc tố TTX của tôm He Chân trắng trong thí nghiệm nuôi cho ăn cá nóc độc

Kết quả phân tích HPLC ghi nhận sự có mặt của độc tố TTX trong hầu hết dịch chiết từ mẫu tôm He Chân trắng trong thí nghiệm nuôi, trong khi hoàn toàn không phát hiện độc tố trong các mẫu đối chứng. Có mối tương quan thuận chặt chẽ ($R^2 = 0,97$; hình 2) giữa độc tính TTX trong tôm He Chân trắng và thời gian thí nghiệm. Sau 2 tháng thí nghiệm, độc tính TTX của tôm đạt giá trị tương

đương ngưỡng an toàn thực phẩm đối với độc tố này và vượt ngưỡng (gấp khoảng 1,5 lần) khi kết thúc thí nghiệm (bảng 2, hình 2).

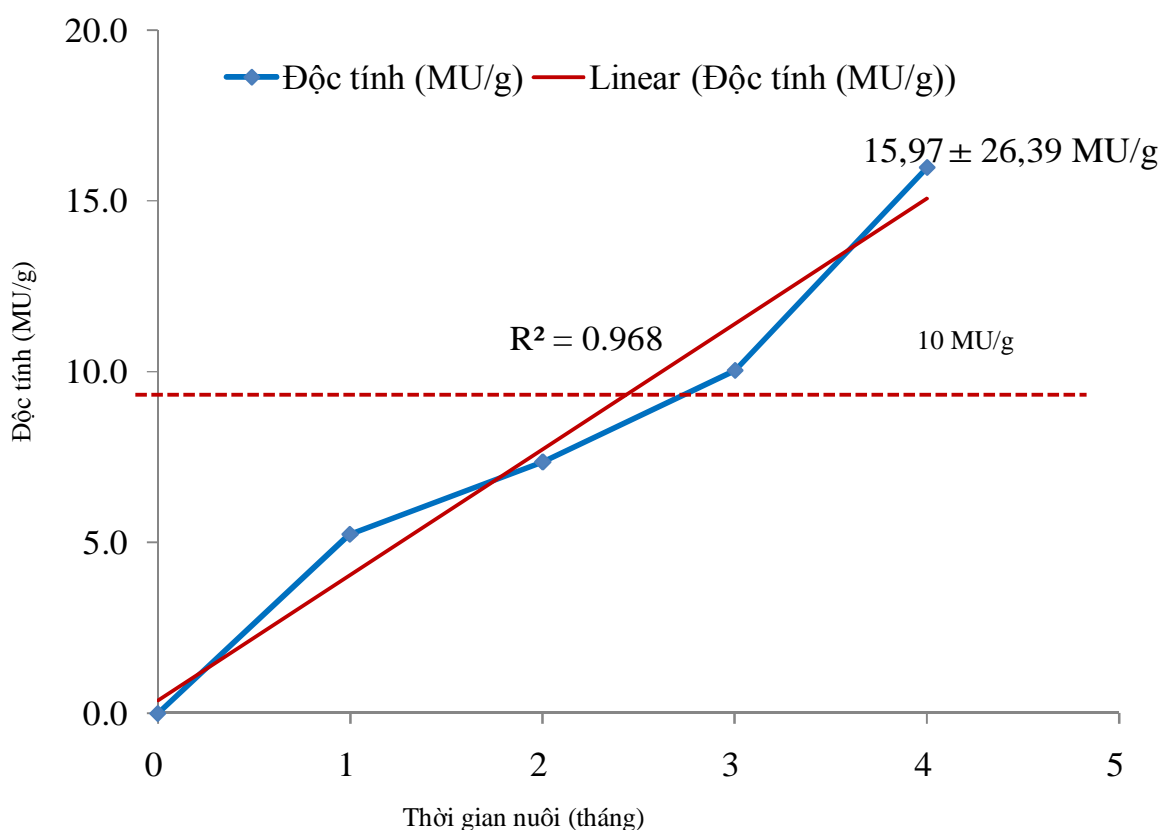
Trong nghiên cứu của Noguchi [3], độc tính cực đại (480 MU/g) được ghi nhận trong gan của *T. rub-ripes* sau 240 ngày (8 tháng) nuôi cho ăn với liều độc 4 MU/g/ngày, nhưng chỉ đạt khoảng 50 MU/g TTX tích lũy với liều 0,5 MU/g/ngày với cùng thời gian nuôi. Trong nghiên cứu độc tính của loài Sa giông Nhật Bản *Cynops pyrrhogaster*, Tsur-

uda đưa ra những bằng chứng khi những cá thể không độc được cho ăn thức ăn có độc tố TTX, chúng biểu hiện độc tính khoảng 50% so với liều độc nhận vào cơ thể. Từ những kết quả nghiên cứu trên, các nhà khoa học nhận định khả năng tích lũy độc tố của sinh vật (điển hình là cá nóc) từ nguồn thức ăn có sự khác biệt lớn theo loài. Mặc dù công trình công bố theo hướng nghiên cứu này là khá hiếm, nhận định về tính đặc hiệu theo loài của sự

tích lũy độc tố TTX có thể giải thích được hàm lượng độc tố TTX tích lũy trong tôm He Chân trắng thấp hơn đối tượng cá nóc trong thí nghiệm của Noguchi ở cùng thời gian nuôi (độc tố tích lũy trong *T. niphobles* đạt tới giá trị khoảng 200 MU/g sau 4-5 tháng). Mặt khác, điều này có thể giải thích do loài cá nóc *T. niphobles* là sinh vật có sức chống chịu với độc tố cao hơn nhiều lần so với các đối tượng khác không chứa độc tố [4].

Bảng 2. Độc tính TTX (MU/g) trong mẫu tôm he Chân trắng theo thời gian thí nghiệm (tháng)

| Thời gian thí nghiệm (tháng) | n | Độc tính trung bình (MU/g) ± SD | Khoảng dao động (MU/g) | Tỉ lệ (%) mẫu chứa TTX > 10 MU/g |
|------------------------------|----|---------------------------------|------------------------|----------------------------------|
| Tháng thứ 1 | 30 | 0 ± 0 | 0-0 | 0 |
| Tháng thứ 2 | 30 | 5,24 ± 8,68 | 0-36,73 | 23,3 |
| Tháng thứ 3 | 30 | 7,37 ± 10,82 | 0-47,38 | 30,0 |
| Tháng thứ 4 | 30 | 10,04 ± 12,43 | 0-49,53 | 33,3 |
| Tháng thứ 5 | 30 | 15,97 ± 26,39 | 0-116,33 | 33,3 |



Hình 2. Độc tính TTX (MU/g) của mẫu tôm He Chân trắng theo thời gian trong thí nghiệm nuôi cho ăn cá nóc độc

Kết quả thu được từ thí nghiệm nuôi tôm He Chân trắng bằng thức ăn cá nóc độc hoàn toàn tương tự với kết quả thí nghiệm của Matsui [2] và Noguchi [3]. Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi trong đồng với các nghiên cứu chứng minh con đường thứ nhất tích lũy độc tố TTX trong sinh vật là từ nguồn thức ăn.

Một điều quan trọng là tỉ lệ cá thể biểu hiện độc tính cao hơn giá trị an toàn thực phẩm (10 MU/g) đối với độc tố TTX là rất lớn (cột 5, bảng 2). Sau một tháng thí nghiệm, 23,3% số lượng tôm He chân trắng có độc tính TTX vượt ngưỡng an toàn thực phẩm. Theo tính toán của Nakamura và Yasumoto, với liều độc như vậy, chỉ cần tiêu thụ 80 - 100 g mô mềm của sinh vật này đủ gây ngộ độc tử vong cho người. Sau 4 tháng nuôi, 33,3% số mẫu tôm He Chân trắng chứa độc tính TTX vượt ngưỡng an toàn, đặc biệt có những cá thể biểu hiện độc tính rất cao (> 100 MU/g). Hiện nay, trên thị trường, tôm He Chân trắng đạt kích cỡ thương phẩm sau 4-5 tháng. Mặc dù có một tỉ lệ nhất định mẫu vật chứa độc tính thấp, không đáng kể hay không chứa độc tố, nhưng nếu nuôi với liều độc cung cấp tương đương trong thí nghiệm này, tôm He Chân trắng thương phẩm có thể gây ngộ độc tử vong cho người tiêu dùng.

KẾT LUẬN

Khi được nuôi với hàm lượng độc tố cung cấp đầu vào nhất định như trong thí nghiệm của nghiên cứu này, tôm He Chân trắng tích lũy độc tố TTX từ nguồn thức ăn tăng dần theo thời gian. Độc tính trong mẫu thương phẩm (sau 4 tháng nuôi) có thể vượt ngưỡng an toàn thực phẩm của độc tố TTX với tần suất khá cao, do đó có nguy cơ gây ngộ độc tử vong cho người tiêu dùng. Qua kết quả nghiên cứu này, cần thận trọng trong việc sử dụng cá nóc độc làm thức ăn trong nuôi thủy sản.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kawabata, T., 1978. Puffer toxin. In: The Manual for the methods of Food Sanitation Tests. 2, 232.

2. Matsui, T.; Hamada, S.; Konosu, S., 1981. Difference in accumulation of puffer fish toxin and crystalline tetrodotoxin in the puffer fish, *Fugu rubripes rubripes*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 47, 535-537.
3. Noguchi, T., T. Takatani and O. Arakawa., 2004. Toxicity of puffer fish cultured in netcages. *J. Food Hyg. Soc. Jpn*, 45, 146-149.
4. Yotsu, M.; A. Endo & T. Yasumoto., 1989. Short communication: An improved tetrodotoxin analyzer. *Agric. Biol. Chem.*, 53 (3), 893-895.

ABSTRACT

The tetrodotoxin toxicity in the white leg shrimp *Litopenaeus vanamei* (Boone, 1931) feed by toxic puffer in rearing experiment

One-month old white leg shrimp *Litopenaeus vanamei* (Boone, 1931) was fed on the food pellet made from muscle and liver of the toxic puffer fish *Torquigener gloerfelti* for 4 months under rearing condition. The result of no difference of survive and growth rate between experimental and control one indicates that there was no negative effect from TTX contained food to the tested shrimp. There was a continuous increase in the toxicity of experimental *L. vanamei* during the rearing time ($R^2 = 0.97$). After rearing for three months, TTX toxicity of *L. vanamei* reached the safety limit (10 MU/g), then 1.5 times higher in the end of experiment. On the other hand, after rearing for 4 months, 33.3 % individuals exhibited TTX toxicity higher than 10 MU/g, in which some of them showed very high toxicity (>100 MU/g). The results indicated that with a certain TTX amount from food supply, the product from cultured shrimp may cause poisoning to human. Therefore, using toxic puffer for feeding in aquaculture is not safety way.

Người nhận xét: TS. Nguyễn Thị Thanh Thủy