

Nghiên cứu sự ức chế của một số hoá chất độc hại đến sự phát quang của vi khuẩn *Vibrio fischeri*

Nguyễn Thị Dung¹, Nguyễn Văn Hoàng¹, Bùi Thị Thu Hà¹,
Trần Thị Huyền Nga^{2,*}, Nguyễn Thị Hoàng Hà², Phạm Kiên Cường¹

¹Viện Công nghệ mới, Viện KH-CN Quân sự, 17 Hoàng Sâm, Hà Nội, Việt Nam

²Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN, 334 Nguyễn Trãi, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 30 tháng 9 năm 2017

Chỉnh sửa ngày 01 tháng 11 năm 2017; Chấp nhận đăng ngày 14 tháng 11 năm 2017

Tóm tắt: Bài báo này đã nghiên cứu xây dựng mối quan hệ phản ứng của một số hóa chất độc hại trong môi trường nước đến sự phát quang của vi khuẩn *Vibrio fischeri*, cụ thể đối với Pb(II), Hg(II), As(V), DDT, Lindane, 2,4D. Các thí nghiệm được thực hiện trong các khoảng nồng độ: Pb(II) 0,003-0,75 mg/L; As(V) 0,8-102,4 mg/L; Hg(II) 0,0012-0,16mg/L; DDT 40-70mg/L; 2,4 D 15-45 mg/L; Lindane 35-55 mg/L để đánh giá mức độ tác động đến cường độ phát quang theo thời gian sau các khoảng 5, 10, 15, 30 và 45 phút. Giá trị EC (nồng độ ảnh hưởng của độc chất) thể hiện ngưỡng gây độc của từ độc chất lên sinh vật, EC càng thấp thì nồng độ độc chất có thể gây hại (làm giảm cường độ phát quang của vi khuẩn *Vibrio fischeri*) càng thấp. Kết quả nghiên cứu cho thấy các độc chất trong thí nghiệm (bao gồm 3 kim loại nặng Pb, As, Hg và ba chất hữu cơ DDT, 2,4D, Lindane) làm giảm cường độ phát quang của vi khuẩn *Vibrio fischeri* ở nồng độ khá thấp, EC₅₀ của các chất lần lượt là Pb(II): 0,02 ± 0,01 mg/L; As(V): 2 ± 0,2 mg/L; Hg(II): 0,04 ± 0,01 mg/L; DDT: 50 ± 1 mg/L; 2,4 D: 27 ± 1 mg/L; Lindane: 42 ± 1 mg/L.

Từ khóa: EC, *Vibrio fischeri*, kim loại nặng, hóa chất bảo vệ thực vật.

1. Mở đầu

Sự hiện diện của kim loại nặng và hóa chất bảo vệ thực vật trong các nguồn cung cấp nước uống đang là mối lo ngại lớn ở các nước trên thế giới trong đó có Việt Nam, do chúng là các chất gây độc lên sức khoẻ và bền trong môi trường.

Cho đến nay, đã có nhiều phương pháp để phát hiện các độc tính này bao gồm cả phương pháp truyền thống và phương pháp hiện đại.

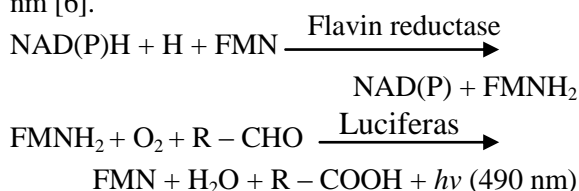
Phương pháp truyền thống là các phương pháp sử dụng các loài động vật thủy sinh như cá, tôm, bọ nước... [1-4] để xác định từng độc chất đơn lẻ. Phương pháp phân tích hiện đại có thể phát hiện các chất ở nồng độ vết như phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS), plasma cảm ứng (ICP) quang phổ phát xạ nguyên tử và phương pháp khối phổ plasma cảm ứng (ICP-MS), thiết bị sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), hệ thống sắc ký khí khối phổ (GC-MS) [3]. Các phương pháp này có độ nhạy cao và phân tích được nhiều độc chất nhưng đòi hỏi máy móc, trang thiết bị hiện đại, khó có thể ứng dụng ngoài phòng thí nghiệm [3]. Trong điều kiện cần phát hiện nhanh các yếu tố gây

* Tác giả liên hệ. ĐT.: 84-983077505.

Email: tranthihuyennga@hus.edu.vn

<https://doi.org/10.25073/2588-1094/vnuees.4162>

độc ngoài hiện trường thì các phương pháp trên đều rất khó thực hiện. Hiện nay, phương pháp phát hiện nhanh độc tính cấp của kim loại nặng và thuốc bảo vệ thực vật trong nước dựa trên cảm biến sinh học, sử dụng vi khuẩn phát quang *Vibrio fischeri* đã và đang được quan tâm nghiên cứu và phát triển. *Vibrio fischeri* là một loại vi khuẩn gram âm, dị dưỡng, dạng hình que, có hai roi hỗ trợ cho việc di chuyển và đặc điểm nổi bật nhất là loại vi khuẩn này có khả năng phát quang sinh học [5]. Bản chất của hiện tượng này là phản ứng hóa học có sự tham gia của enzyme luciferase. Aldehyde chuỗi dài và các FMNH₂ bị oxy hóa để giải phóng năng lượng tự do dưới dạng ánh sáng màu xanh lá cây ở bước sóng 490 nm [6].



Cơ chế tác động đến khả năng phát quang sinh học bao gồm cơ chế gây suy giảm và cơ chế kích thích [7]. Khi chất độc xuất hiện trong môi trường, quá trình trao đổi chất của vi khuẩn bị rối loạn. Đây là một trong những nguyên nhân gây ra hiện tượng suy giảm hoặc kích thích phát quang ở *Vibrio fischeri*. Sự khác biệt về cường độ ánh sáng phát ra liên quan chặt chẽ đến quá trình chuyển hóa bên trong cơ thể sinh vật. *Vibrio fischeri* là một trong những loài rất nhạy cảm với nhiều loại chất độc [8]. Chính sự nhạy cảm này khiến chúng là sự lựa chọn phổ biến của các nhà khoa học trong việc nghiên cứu các phương pháp phát hiện các chất độc ô nhiễm môi trường như các kim loại và thuốc bảo vệ thực vật...

Fulladosa (2005) và cộng sự đã nghiên cứu ảnh hưởng của một số kim loại nặng lên *Vibrio fischeri* đã cho thấy EC₂₀ của Pb(II) > Ag(I) > Hg(II) > Cu(II) > Zn(II) > As(V) > Cd(II) > Co(II) > As(III) > Cr(VI) [9]. Mowat (2002) đã sử dụng công nghệ toán tin để đánh giá ảnh hưởng của một số kim loại nặng (Pb, As, Cd, Cu, Hg, Zn, Cr) lên công cụ phát hiện kim loại có sử dụng vi sinh vật Microtox [10, 11]. Kết quả cho thấy, các giá trị EC₅₀ và khoảng giới

hạn phát hiện trong cùng một độc tính đã có sự khác biệt, do đó các kết quả này khó để so sánh với các nghiên cứu trước, đặc biệt là khi các thí nghiệm đã được thực hiện dưới các điều kiện thí nghiệm khác nhau [9]. Ở Việt Nam, đến nay chưa có nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng cụ thể của từng chất độc đối với vi khuẩn *Vibrio fischeri*. Do đó, nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của một số chất gây độc tính cấp thường gặp trong nước sinh hoạt (chủ yếu là kim loại nặng và hóa chất bảo vệ thực vật) tới khả năng phát quang của *Vibrio fischeri* để xây dựng mối quan hệ phản ứng khi vi khuẩn *Vibrio fischeri* tiếp xúc với As(V), Pb(II), Hg(II), DDT, Lindane, 2,4 D, làm cơ sở thăm dò độ nhạy cho nghiên cứu chế tạo bộ kit phát hiện nhanh ngoài hiện trường. Trong nghiên cứu này, vi khuẩn *Vibrio fischeri* được phân lập từ nước đầm tôm của Viện Công nghệ mới/Viện KH&CN Quân sự.

2. Thục nghiệm

2.1. Hoá chất

- Dung dịch As(V), Pb(II), Hg(II) được chuẩn bị bằng cách hòa tan muối tương ứng trong nước de-ion. Muối dạng tinh thể hoặc dạng bột có độ tinh khiết > 99% (Merck)

- Dung dịch DDT, Lindane, 2,4 D được chuẩn bị bằng cách hòa trong axeton tạo mẫu gốc, các mẫu thử nghiệm được tiếp tục pha loãng bằng nước cất, Hóa chất dạng bột, độ tinh khiết > 98% (Supelco)

- Dung dịch pha loãng vi khuẩn bằng NaCl 2% để đảm bảo áp suất thẩm thấu.

2.2. Chuẩn bị mẫu

Thực hiện thao tác thí nghiệm sơ bộ để tìm ra các khoảng nồng độ phù hợp nhất đối với từng độc tố, cho phép xác định được giá trị EC₁₀, EC₅₀, EC₉₀. Theo đó, các dãy nồng độ thử nghiệm được pha như sau: Pb(II) 0,003-0,75 mg/L; As(V) 0,8-102,4 mg/L; Hg(II) 0,0012-0,16mg/L; DDT 40-70mg/L; 2,4 D 15-45 mg/L; Lindane 35-55 mg/L.

2.3. Thử nghiệm ảnh hưởng của một số hóa chất độc hại đến sự phát quang *Vibrio fischeri*

Nguyên lý của thí nghiệm này dựa trên sự ức chế phát xạ ánh sáng của *Vibrio fischeri* khi tiếp xúc với độc tố [12]. Các thử nghiệm thực hiện với từng dãy nồng độ khác nhau của mỗi độc tố trong cuvet chứa vi khuẩn có cường độ phát quang tương đồng, ở khoảng thời gian tiếp xúc 5-15-30-45 phút. Cường độ phát quang (CĐPQ) được đo trên thiết bị Deltatox II, theo hướng dẫn của chế độ đo độc tính cấp và được biểu thị gián tiếp qua % ánh sáng mất đi hoặc thêm vào dựa theo công thức:

$$\% \text{CĐPQ} = 100\% - \% \text{ ánh sáng mất đi } (C_t > S_t)$$

$$\% \text{CĐPQ} = 100\% + \% \text{ ánh sáng thêm vào } (C_t < S_t)$$

$$\% \text{ ánh sáng mất đi} = \frac{C_t - S_t}{C_t} 100\% \quad (C_t > S_t)$$

$$\% \text{ ánh sáng thêm vào} = \frac{C_t - S_t}{C_t} 100\% \quad (C_t < S_t)$$

Trong đó, C_t : trị số ánh sáng của mẫu đối chứng tại thời điểm t (5, 15, 30 và 45 phút).

S_t : trị số ánh sáng của mẫu kiểm tra tại thời điểm t (5, 15, 30 và 45 phút).

2.4. Xác định nồng độ ngưỡng (EC_{10} , EC_{50} , EC_{90})

Nồng độ ngưỡng EC_{10} được định nghĩa là nồng độ gây suy giảm cường độ ánh sáng nhỏ (tức là giảm 10%). Phạm vi nồng độ hóa chất đo giá trị EC_{10} được suy ra từ đường đồ thị mối quan hệ nồng độ độc tố và cường độ ánh sáng.

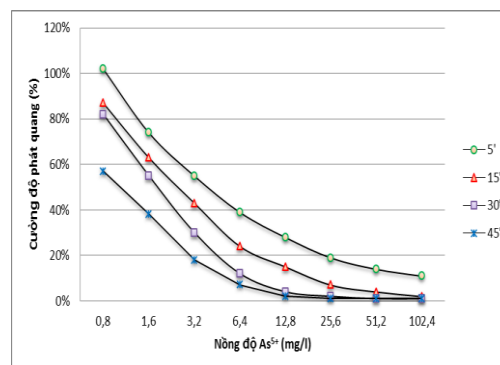
Tương tự xác định các ngưỡng EC_{50} , EC_{90} lần lượt khi ứng với vị trí suy giảm lần lượt 50%, 90% ánh sáng.

3. Kết quả và biện luận

3.1. Ảnh hưởng của các kim loại nặng đến cường độ phát quang của *Vibrio fischeri*

3.1.1. Ảnh hưởng của nồng độ As(V)

Dãy nồng độ mẫu As(V) được pha loãng để thử độc tính là: 0,8 mg/L; 1,6 mg/L; 3,2 mg/L; 6,4 mg/L; 12,8 mg/L; 25,6 mg/L; 51,2 mg/L; 102,4 mg/L; 225,9 mg/L. Kết quả thử nghiệm được trình bày trong Hình 1.



Hình 1. Sự ảnh hưởng của As(V) đến cường độ phát quang của *Vibrio fischeri*.

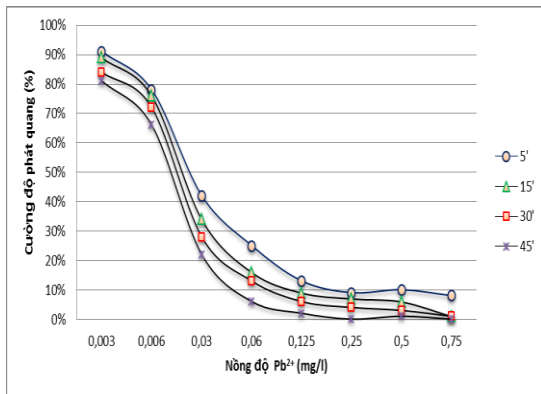
Kết quả phân tích cho thấy: Với thời gian tiếp xúc 5 phút, ở nồng độ 0,8mg/l As(V), cường độ phát quang lớn hơn 100% chứng tỏ với nồng độ kim loại thấp đã kích thích khả năng phát quang. Hiện tượng này được lí giải nhờ vào mô hình của Ting và cộng sự [7] cho rằng trong điều kiện đầy đủ O_2 chất độc có khả năng dư thừa H^+ để cung cấp cho quá trình sản xuất FMNH₂ và thể điện hóa trong môi trường không ôxi hóa chất độc nên chất độc sẽ trở thành chất kích thích sản xuất FMNH₂ thúc đẩy phản ứng phát quang sinh học. Từ nồng độ 1,6 mg/L đến 102,4 mg/L, cường độ phát quang giảm dần. Giá trị EC_{10} được xác định nằm trong khoảng $1 \pm 0,2$ mg/L. Đồng thời, hai giá trị EC_{50} nằm trong khoảng 5 ± 1 mg/L và EC_{90} không xác định được trong dãy nồng độ As⁵⁺ khảo sát, tức là $> 102,4$ mg/L.

Với thời gian tiếp xúc 15 phút: khi nồng độ kim loại tăng, cường độ phát quang của *Vibrio fischeri* giảm mạnh hơn so với thời điểm 5 phút. Nhìn vào đồ thị xác định được các nồng độ ảnh hưởng đến 10%, 50% và 90% khả năng phát quang của vi khuẩn như sau: EC_{10} là $< 0,8$ mg/L, EC_{50} là $3 \pm 0,2$ mg/L và EC_{90} là 25 ± 1 mg/L. Như vậy, sau 15 phút tiếp xúc độc tính của As⁵⁺ với vi khuẩn tại thời điểm này đã tăng mạnh.

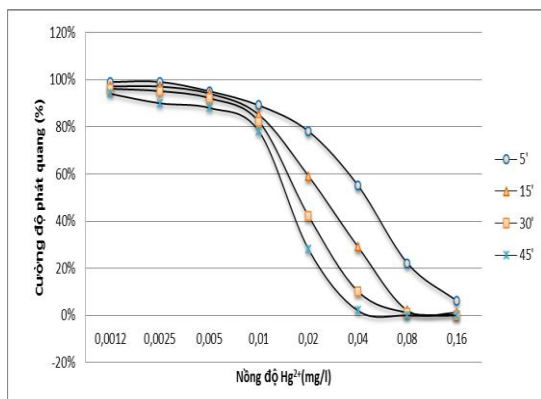
Với thời gian tiếp xúc 30 phút: khi nồng độ kim loại tăng, cường độ phát quang của *Vibrio fischeri* giảm hơn nữa so với thời điểm 15 phút. Các khoảng nồng độ ảnh hưởng (EC) xác định được như sau: EC_{10} là $< 0,8$ mg/L, EC_{50} là $2 \pm 0,2$ mg/L, EC_{90} là 20 ± 2 mg/L. Như vậy, sau 30

phút tiếp xúc, độc tính của As(V) với vi khuẩn tiếp tục tăng và thể hiện độc tính cao ở các nồng độ trên 8 mg/L.

Với thời gian tiếp xúc 45 phút: Khi nồng độ kim loại tăng, cường độ phát quang của vi khuẩn suy giảm mạnh. Nhìn vào đồ thị, xác định được các khoảng nồng độ ảnh hưởng như sau: $EC_{10} < 1,8$ mg/L, EC_{50} khoảng $1,2 \pm 0,2$ mg/L và EC_{90} 5 ± 1 mg/L. Như vậy, sau thời gian 45 phút tiếp xúc độc tính của As(V) tới vi khuẩn *Vibrio fischeri* được xác định là mạnh nhất, rất độc. So với sản phẩm mới nhất DeltaTox II thì thời gian chờ để đọc kết quả là 15 phút [12] thì quy trình của chúng tôi có thể đọc được cường độ phát quang khá chính xác sau 15 phút và sau 45 phút thì kết quả rõ nhất.



Hình 2. Sự ảnh hưởng của Pb(II) đến cường độ phát quang của *Vibrio fischeri*.



Hình 3. Sự ảnh hưởng của Hg(II) đến cường độ phát quang của *Vibrio fischeri*.

3.1.2. Ảnh hưởng của nồng độ Pb(II)

Tương tự As(V), dãy nồng độ Pb(II) được pha loãng từ 0,003 mg/L; 0,006 mg/L; 0,03 mg/L; 0,06 mg/L; 0,125 mg/L; 0,25 mg/L; 0,5 mg/L; 0,75 mg/L. Kết quả được minh họa trong hình 2.

Các đường đồ thị cường độ phát quang của vi khuẩn tại các thời điểm 5, 15, 30, 45 phút có chiều hướng thay đổi tương đối giống nhau và khoảng cách giữa các đường hẹp cho thấy tại cùng nồng độ, cường độ phát quang có sự chênh lệch không lớn giữa các khoảng thời gian. Tuy nhiên, cường độ phát quang có sự giảm mạnh ở khoảng nồng độ 0,006-0,06mg/L. Có thể thấy, cường độ phát quang của *Vibrio fischeri* trong trường hợp này chịu ảnh hưởng nhiều do nồng độ hơn là khoảng thời gian tiếp xúc. Qua đồ thị hình 2 xác định được các giá trị nồng độ ảnh hưởng như sau: EC_{10} , EC_{50} , và EC_{90} tương ứng là $0,003 \pm 0,001$ mg/L; $0,03 \pm 0,01$ mg/L; $0,25 \pm 0,1$ mg/L, ứng với thời gian tiếp xúc là 5 phút; $< 0,003$ mg/l; $0,025 \pm 0,01$ mg/L; $0,11 \pm 0,02$ mg/L, ứng với thời gian tiếp xúc 15 phút.

Với thời gian tiếp xúc lớn hơn 30 phút, cường độ phát quang của *Vibrio fischeri* giảm mạnh khi tăng nồng độ của Pb(II). Các giá trị EC_{10} , EC_{50} và EC_{90} lần lượt là $< 0,003$ mg/l; $0,02 \pm 0,01$ mg/L; $0,09 \pm 0,01$ mg/L, ứng với thời gian tiếp xúc 30 phút, $< 0,003$ mg/L, $0,015 \pm 0,01$ mg/L, $0,055 \pm 0,01$ mg/L, ứng với thời gian tiếp xúc là 45 phút.

3.1.3. Ảnh hưởng của nồng độ Hg(II)

Cường độ phát quang của *Vibrio fischeri* khi tiếp xúc với dãy nồng độ Hg(II) được thể hiện trên hình 3.

Các đường đồ thị cường độ phát quang của vi khuẩn tại các thời điểm 5, 15, 30, 45 phút có chiều hướng thay đổi tương đối giống nhau và đồ thị cường độ phát quang tại các thời điểm có sự giảm nhỏ tại các khoảng nồng độ 0,0012-0,01 mg/l, nhưng tạo độ dốc lớn, đột ngột trong khoảng nồng độ từ 0,01 - 0,08 mg/l. Sự giảm nhanh chóng mức ánh sáng của vi khuẩn trong phạm vi nồng độ Hg (II) hẹp có thể là do với ái lực rất cao của Hg (II) cho nhóm -SH như

những nhóm có mặt trong glutathione và cysteine, thành phần tham gia vào cơ chế bảo vệ tế bào hoặc do thực tế chúng hoạt động mạnh trên màng tế bào gây thay đổi cả chức năng và khả năng ổn định tế bào. Điều này cho thấy cường độ phát quang giảm mạnh ở khoảng nồng độ này và sự tăng giảm ít hơn ở các khoảng nồng độ nghiên cứu còn lại. Qua đồ thị xác định được các giá trị nồng độ ảnh hưởng như sau: EC₁₀, EC₅₀, và EC₉₀ tương ứng là 0,01 ± 0,01mg/l; 0,045 ± 0,01mg/L; 0,12 ± 0,01mg/L, ứng với thời gian tiếp xúc là 5 phút; 0,007 ± 0,001mg/L; 0,03 ± 0,002mg/L; 0,06 ± 0,01mg/L, ứng với thời gian tiếp xúc 15 phút.

Với thời gian tiếp xúc lớn hơn, cường độ phát quang của *Vibrio fischeri* giảm mạnh khi tăng nồng độ của Hg(II). Các giá trị EC₁₀, EC₅₀ và EC₉₀ lần lượt là 0,005 ± 0,001mg/l; 0,019 ± 0,001mg/L; 0,04 ± 0,01mg/L, ứng với thời gian tiếp xúc 30 phút, 0,0025 ± 0,001mg/L; 0,015 ± 0,01mg/L, 0,035 ± 0,002 mg/L, ứng với thời gian tiếp xúc là 45 phút.

Từ những kết quả đánh giá khả năng phát quang của vi khuẩn *Vibrio fischeri* khi bị nhiễm độc bởi kim loại nặng (As, Pb, Hg) có thể thấy rằng, khi tăng nồng độ độc chất lên thì độ phát quang giảm dần. Ngưỡng phát hiện của phép đo chúng tôi đã tiến hành với As là 0,8mg/l, còn Pb là 0,003mg/l, và Hg là 0,0012mg/l; thời gian phát hiện ổn định là 15 phút và cường độ phát quang tối đa là sau 45 phút.

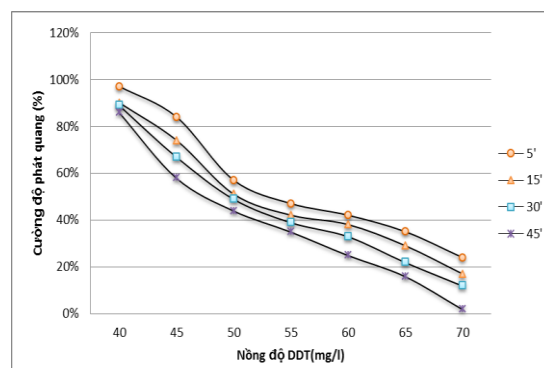
3.2. Ảnh hưởng của một số thuốc bảo vệ thực vật đến cường độ phát quang của *Vibrio fischeri*

3.2.1. Ảnh hưởng của nồng độ DDT

Dãy thử nghiệm độc tính của DDT được pha là 40mg/L, 45mg/L, 50mg/L, 55mg/L, 60mg/L, 65mg/L, 70mg/L. Kết quả được thể hiện ở hình 4.

Đồ thị hình 4 cho thấy các đường biểu diễn cường độ phát quang của dãy nồng độ trong từng khoảng thời gian có sự thay đổi không đồng đều. Mức giảm ánh sáng ở 15 phút đầu có xu hướng nhanh hơn ở các thời gian sau. Khoảng nồng độ từ 50-70 mg/L độ độc đường đồ thị thấp hơn cho thấy sự suy giảm ánh sáng

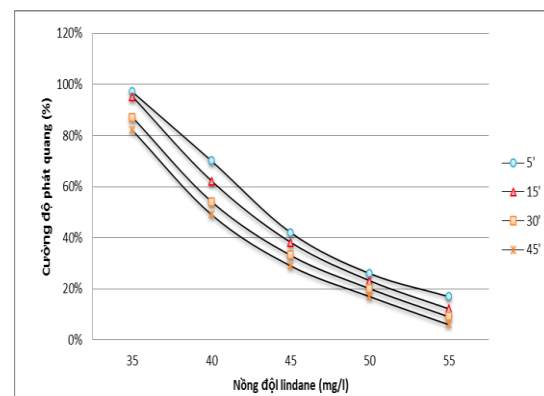
chậm hơn. Ngưỡng nồng độ ảnh hưởng được xác định như trong Bảng 1.



Hình 4. Sự ảnh hưởng của DDT đến cường độ phát quang của *Vibrio fischeri*.

Bảng 1. Ngưỡng nồng độ ảnh hưởng của DDT đến cường độ phát quang của *Vibrio fischeri* trong các khoảng thời gian

	Thời gian tiếp xúc (phút)			
	5	15	30	45
EC ₁₀ (mg/L)	42 ± 1	40 ± 1	40 ± 1	-
EC ₅₀ (mg/L)	54 ± 1	50 ± 1	50 ± 1	50 ± 1
EC ₉₀ (mg/L)	-	-	-	65 ± 1



Hình 5. Sự ảnh hưởng của Lindane đến cường độ phát quang của *Vibrio fischeri*.

3.2.2. Ảnh hưởng của nồng độ Lindane

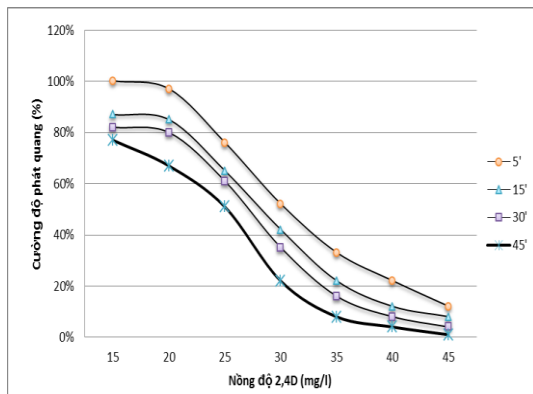
Theo khảo sát ban đầu, so với DDT và 2,4 D, Lindane có khoảng phát hiện hẹp và cường độ ánh sáng suy giảm nhanh chóng ở mỗi

khoảng nồng độ. Dãy thử nghiệm độc tính của lindane được pha là 35mg/L, 40mg/L, 45mg/L, 50mg/L, 55mg/L. Kết quả ảnh hưởng được trình bày trên hình 5.

Đồ thị cho thấy sự giảm không đồng đều mức phát xạ ánh sáng ở các khoảng thời gian thử nghiệm. Mức giảm ánh sáng tương đối đồng đều ở các khoảng nồng độ. Ở các khoảng thời gian có sự giảm ánh sáng nhẹ, biểu hiện ở khoảng các giữa các đường của 4 khoảng nồng độ nhỏ. Như vậy đối với lindane, ánh sáng phát ra phụ thuộc chính vào khoảng nồng độ hơn là thời gian tiếp xúc. Các giá trị EC_{10} , EC_{50} và EC_{90} xác định được tại các khoảng thời gian tiếp xúc lần lượt được thể hiện tại kết quả nghiên cứu Bảng 2 về ngưỡng nồng độ ảnh hưởng của Lindane đến cường độ phát quang của *Vibrio fischeri*.

Bảng 2. Ngưỡng nồng độ ảnh hưởng của Lindane đến cường độ phát quang của *Vibrio fischeri* trong các khoảng thời gian

	Thời gian tiếp xúc (phút)			
	5	15	30	45
EC_{10} (mg/L)	37 ± 1	36 ± 1	-	-
EC_{50} (mg/L)	44 ± 1	43 ± 1	42 ± 1	41 ± 1
EC_{90} (mg/L)	-	-	55 ± 1	54 ± 1



Hình 6. Sự ảnh hưởng của 2,4 D đến cường độ phát quang của *Vibrio fischeri*.

Bảng 3. Ngưỡng nồng độ ảnh hưởng của 2,4D đến cường độ phát quang của *Vibrio fischeri* trong các khoảng thời gian

	Thời gian tiếp xúc (phút)			
	5	15	30	45
EC_{10} (mg/L)	15 ± 1	-	-	-
EC_{50} (mg/L)	31 ± 1	28 ± 1	27 ± 1	25 ± 1
EC_{90} (mg/L)	-	44 ± 1	39 ± 1	34 ± 1

3.2.3. Ảnh hưởng của 2,4 D

Dãy nồng độ 2,4 D được pha là: 15mg/L, 20 mg/L, 25mg/L, 30mg/L, 35mg/L, 40mg/L, 45mg/L. Khác với DDT và Lindane, cả nồng độ và thời gian tiếp xúc đều có ảnh hưởng đáng kể đến độ phát quang của vi khuẩn. Kết quả được thể hiện trong hình 6.

Ánh sáng giảm mạnh ở khoảng nồng độ 25-30mg/L. Mức giảm ánh sáng ở 15 -30 phút có sự thay đổi ít hơn so với các khoảng thời gian còn lại. Các giá trị EC_{10} , EC_{50} và EC_{90} xác định được tại các khoảng thời gian tiếp xúc lần lượt trong Bảng 3.

Đối với ba độc chất là DDT, lindane, 2,4D thì có thể thấy EC_{50} có thể được phát hiện khá ổn định sau 15 phút, đây cũng là khoảng thời gian phản ứng đã được rất nhiều sản phẩm thương mại đã công bố như Deltatox II [12].

4. Kết luận

Từ kết quả nghiên cứu trên cho thấy, các kim loại nặng As(V), Pb(II), Hg(II), và chất bảo vệ thực vật DDT, Lindane, 2,4 D đã thể hiện ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng phát quang của vi khuẩn *Vibrio fischeri*. Trong khoảng thời gian 15 phút tiếp xúc, ngưỡng độc tính EC_{50} được xác định đối với Pb(II) $0,02 \pm 0,01$ mg/L; As(V) $2 \pm 0,2$ mg/L; Hg(II) $0,04 \pm 0,01$ mg/L; DDT 50 ± 1 mg/L; 2,4 D 27 ± 1 mg/L; Lindane 42 ± 1 mg/L.

Lời cảm ơn

Công trình này được hoàn thành với sự hỗ trợ kinh phí từ đề tài: “Nghiên cứu chế tạo kit phát hiện nhanh độc tính của nguồn nước cấp cho sinh hoạt, ứng dụng trong hoạt động dã ngoại của bộ đội”.

Tài liệu tham khảo

- [1] Coleman R.N., Qureshi A.A. (1985). Microtox and Spirillum volutans tests for assessing toxicity of environmental samples. Bulletin of Environmental Contamination Toxicology. Vol 26. pp.150–156.
- [2] Reteuna C., Vaseur P., Cabridenc R. (1989), “Performances of three bacterial assays in toxicity assessment”, Journal of Hazardous Materials. Vol 310. pp. 56-67.
- [3] Wang W. (1991), “Literature review on higher plants for toxicity testing, Water”, Air Soil Pol. Vol 59. pp. 381–400.
- [4] Weis, P. and J.S. Weis. 1974. Schooling Behavior of Menidia menidia in the Presence of the Insecticide Sevin (Carbaryl). Marine biology. Vol 28. pp. 261-263.
- [5] Yaashikaa P. R., Saravanan A. Kumar P. S. (2016). Isolation and identification of *Vibrio cholerae* and *Vibrio parahaemolyticus* from prawn (*Penaeus monodon*) seafood: Preservation strategies. Microbial Pathogenesis. Vol 99. pp. 5-13.
- [6] Tarasova A. S., et al. (2012), "Bioluminescence as a tool for studying detoxification processes in metal salt solutions involving humic substances", Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. Vol 117.pp. 164-170.
- [7] Ting W., et al. (2016), "The joint effects of sulfonamides and quorum sensing inhibitors on *Vibrio fischeri*: Differences between the acute and chronic mixed toxicity mechanisms", Journal of Hazardous Materials. Vol 310. pp. 56-67.
- [8] Eberhard, A., Burlingame A.L., Eberhard C., Kenyon G.L., Nealson K.H. and Oppenheimer N.J. (1981). Structural identification of autoinducer of Photobacterium fischeri luciferase. Biochemistry. Vol 20. pp. 2444-2449.
- [9] Fulladosa E., Murat J.C., Martí'nez M., Villaescusa I. (2005). Patterns of metals and arsenic poisoning in *Vibrio fischeri* bacteria; Chemosphere. Vol 60. pp. 43–48.
- [10] Mowat, F.S., Bundy, K.J. (2002). Experimental and mathematical/computational assessment of the acute toxicity of chemical mixtures from the Microtox assay. Adv. Environ. Res. Vol 6. pp. 547–558.
- [11] McCloskey, J.T., Newman, M.C., Clark, S.B., 1996. Predicting the relative toxicity of metal ions using ion characteristics: Microtox bioluminescence assay. Environmental Toxicology Chemistry. Vol 15 (10). pp. 1730–1737.
- [12] Modern Water (2012), DeltaTox II User's Manual Modern Water inc Modern Water Monitoring Ltd.

Study the Inhibition of some Toxicants on the Luminescent Ability of *Vibrio fischeri*

Nguyen Thi Dung¹, Nguyen Van Hoang¹, Bui Thi Thu Ha¹,
Tran Thi Huyen Nga², Pham Kien Cuong¹

¹Institute of New Technology, Academy of Military Science and Technology,
17 Hoang Sam, Hanoi, Vietnam

²Faculty of Environmental Sciences, VNU University of Science, 334 Nguyen Trai, Hanoi, Vietnam

Abstract: This research focused on the relationship between concentrations of some toxic chemicals in the water and their influence on the luminescence of *Vibrio fischeri* (heavy metals: Pb (II), Hg (II), As (V), pesticides: DDT, Lindane and 2,4D). Experiments carried out with the following concentrations: Pb (II) 0,003-0,75 mg/L; As(V) 0,8-102,4 mg/L; Hg(II) 0,0012-0,16mg/L; DDT 40-70mg/L; 2,4 D 15-45 mg/L; Lindane 35-55 mg/L, the luminescence was investigated after 5, 10, 15,

30, 45 minutes. EC value (the effect concentrations of toxicant) represented the threshold of organism by toxicant, the lower the $EC_{(50)}$, the less the concentration of a toxicant is required to harm (reduce the luminescence). The results figured that the toxicants (three heavy metals Pb, As, Hg and three organic chemicals DDT, 2,4D, Lindane) can reduce the luminescence of *Vibrio fischeri* at low concentration. The EC_{50} of six toxicants were Pb (II): $0,02 \pm 0,01$ mg/L; As (V): $2 \pm 0,2$ mg/L; Hg (II): $0,04 \pm 0,01$ mg/L; DDT: 50 ± 1 mg/L; 2,4 D: 27 ± 1 mg/L; Lindane: 42 ± 1 mg/L.

Keywords: EC, *Vibrio fischeri*, heavy metals, pesticides.