

NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG ĐỒNG THỜI KHÁNG SINH FLUOROQUINOLON TRONG TÔM BẰNG PHƯƠNG PHÁP LC-MS/MS

Huỳnh Huỳnh Anh Thi¹, Phạm Doan Vi², Đỗ Châu Minh Vĩnh Thọ^{1*}

1. Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

2. Trường Đại học Tây Đô

*Email: dcmvtho@ctump.edu.vn

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Việc lạm dụng kháng sinh và quản lý kháng sinh thiếu kiểm soát có thể dẫn đến sự tồn lưu dư lượng của chúng trên sản phẩm thủy sản. **Mục tiêu nghiên cứu:** Xây dựng, thẩm định và ứng dụng quy trình định lượng đồng thời 4 kháng sinh nhóm fluoroquinolon bằng LC-MS/MS theo hướng dẫn của AOAC, EC. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Enrofloxacin, ciprofloxacin, sarafloxacin, flumequin và các mẫu tôm thu thập tại Kiên Giang, xây dựng quy trình định lượng bằng hệ thống sắc ký lỏng ghép khối phổ LC-MS/MS. **Kết quả:** Các thông số khối phổ phù hợp xác định phân mảnh của sarafloxacin (386,02→342), ciprofoxacin (332,03→288), enrofloxacin (360,06→316), flumequin (261,98→244). Thông số sắc ký: cột GL InertSustain C18 (4,6×250mm, 5 μm), chương trình rửa giải gradient. Phương pháp có khoảng tuyến tính rộng với hệ số tương quan $R^2 > 0,99$, độ thu hồi (87,6–100,06%) và chính xác liên ngày (RSD≤7,5%) tốt, giá trị LOD và LOQ lần lượt trong khoảng 0,03-0,5ppb và 0,125-1,5ppb. Kết quả kiểm 10 mẫu tôm thị trường không có dư lượng kháng sinh phân tích vượt quá LOD của phương pháp. **Kết luận:** Đã xây dựng quy trình định lượng 4 kháng sinh nhóm fluoroquinolon trong tôm bằng phương pháp LC-MS/MS, thẩm định quy trình phân tích đạt yêu cầu theo hướng dẫn của EC 657/2002, kết quả phân tích trên 10 mẫu tôm thu thập tại Kiên Giang không phát hiện dư lượng của 4 kháng sinh này.

Từ khóa: Fluoroquinolon, enrofloxacin, ciprofloxacin, sarafloxacin, flumequin, LC-MS/MS, tôm.

ABSTRACT

SIMULTANEOUS DETERMINATION OF FLUOROQUINOLON IN SHRIMP BY LC-MS/MS

Huynh Huynh Anh Thi¹, Pham Doan Vi², Tho Chau Minh Vinh Do^{1*}

1. Can Tho University of Medicine and Pharmacy

2. Tay Do University

Background: The overuse and the lack of the management of antibiotic can lead to the persistence of their residues on aquaculture products. **Objectives:** To develop, validate a procedure for simultaneous quantitative analysis of fluoroquinolon in shrimp samples by LC-MS/MS according to AOAC, EC guidelines; procedure application for shrimp samples in Kien Giang province. **Materials and methods:** Enrofloxacin, ciprofloxacin, sarafloxacin, flumequin and shrimp samples collected in Kien Giang province, develop simultaneous determination procedure by LC-MS/MS system. **Results:** The suitable mass spectrometry parameters were used to quantify the fragment ion of sarafloxacin (386.02→342), ciprofoxacin (332.03→288), enrofloxacin (360.06→316), flumequin (261.98→244). Suitable chromatographic parameters: GL InertSustain C18 (4.6 × 250 mm, 5 μm), gradient elution program. The method was validated with a wide linear range with correlation coefficient $R^2 > 0.99$, good accuracy (87.6–100.06%) and inter-day precision (RSD<7.5%), LOD and LOQ values were 0.03-0.5ppb and 0.125-1.5ppb, respectively. The antibiotic residues of 10 shrimp samples were not exceeded the LOD of method. **Conclusion:** Developed the analytical procedure for 4 fluoroquinolon antibiotics in shrimp by LC-MS/MS, the analytical procedure was validated according to EC 657/2002 guideline, the analysis results on 10 shrimp samples collected in Kien Giang did not detect residues of these 4 antibiotics.

Keywords: Fluoroquinolon, enrofloxacin, ciprofloxacin, sarafloxacin, flumequin, LC-MS/MS, shrimp.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Kháng sinh không chỉ dùng để điều trị bệnh cho người mà còn được sử dụng rộng rãi trong nông nghiệp với mục đích phòng, trị bệnh cho vật nuôi và thủy sản. Việc lạm dụng sử dụng kháng sinh cùng với sự quản lý sử dụng kháng sinh thiếu hướng dẫn, kiểm soát có thể dẫn đến sự tồn lưu dư lượng của chúng trên sản phẩm thủy sản vượt quá mức cho phép làm ảnh hưởng nghiêm trọng tới sức khỏe của người tiêu dùng và làm gia tăng tỷ lệ đề kháng kháng sinh. Kết quả khảo sát năm 2019 tại An Giang cho thấy có 53% nông dân sử dụng kháng sinh trong nuôi cá, tôm. Trong đó kháng sinh fluoroquinolon chiếm đến 25% [9]. Một báo cáo khác tìm thấy tồn dư kháng sinh flouroquinolon chiếm 90% trong các mẫu môi trường nuôi tôm tại các tỉnh thuộc đồng bằng sông Cửu Long [4]. Hiện nay, các công trình nghiên cứu dư lượng kháng sinh chủ yếu xử lý mẫu bằng phương pháp chiết pha rắn [6][10] hoặc loại tạp bằng dung môi hữu cơ [11][1], cần thiết phải cải tiến một quy trình xử lý mẫu nhanh, tiết kiệm, an toàn với sức khỏe và thân thiện môi trường trong các thử nghiệm phân tích dư lượng các kháng sinh enrofloxacin, ciprofloxacin, sarafloxacin và flumequin trong mẫu tôm. Vì vậy, nhóm nghiên cứu thực hiện đề tài “Nghiên cứu xây dựng quy trình định lượng đồng thời kháng sinh fluoroquinolon trong tôm bằng phương pháp LC-MS/MS” với mục tiêu: Xây dựng, thẩm định quy trình định lượng đồng thời kháng sinh fluoroquinolon trong tôm bằng phương pháp LC-MS/MS và ứng dụng phân tích trên nền mẫu tôm thu thập tại Kiên Giang.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu: Gồm 4 kháng sinh: enrofloxacin (ENR), ciprofloxacin (CIP), sarafloxacin (SAR) và flumequin (FLU). Mẫu trắng: Mẫu tôm tự nuôi quản canh được gửi kiểm không chứa kháng sinh chứng nhận bởi trung tâm Mekong Laboratory. Mẫu thử: 10 mẫu tôm được thu thập ngẫu nhiên tại các siêu thị trên địa bàn tỉnh Kiên Giang.

Trang thiết bị: Hệ thống sắc ký lỏng WATERS ACQUITY UPLC H-Class system, đầu dò khối phổ ba lần tứ cực của Waters (Xevo TQD), cân phân tích ABT 220-5DM, bể siêu âm Wisc WUC-D22H, tủ lạnh sâu Sanyo MDF-236, máy đo pH Consort C1020, máy Vortex VM-10 DAIHAN Scientific, máy li tâm Hitech, máy khuấy từ IKAC-MAG HS 10, máy cô khí nitơ OA-HEAT™.

Hóa chất, dung môi: Chất chuẩn ENR, SAR, FLU được cung cấp bởi công ty TRC (Canada) và CIP do Viện Kiểm nghiệm thuốc Thành phố Hồ Chí Minh cung cấp với độ tinh khiết trên 99%. Methanol (MeOH), acetonitril (ACN), acid formic (AF), isopropanol (ISP) đạt tiêu chuẩn HPLC gradient, nước cất đạt tiêu chuẩn MS của Merck, Đức.

Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu thực nghiệm.

+ Chuẩn bị mẫu: Pha dung dịch chuẩn gốc của 4 kháng sinh trong hỗn hợp dung môi acetonitril : nước (1:1) ở nồng độ 400 ppm, từ dung dịch chuẩn gốc thực hiện pha loãng để thu được dung dịch hỗn hợp chuẩn làm việc có nồng độ từ 0,05-600 ppb. Mẫu trắng: mẫu tôm quản canh không chứa các kháng sinh ENR, CIP, SAR và FLU chứng nhận bởi trung tâm Mekong Laboratory. Mẫu thử giả lập: mẫu hỗn hợp chuẩn của 4 kháng sinh phân tích được thêm vào mẫu trắng với nồng độ thích hợp để xây dựng và thẩm định phương pháp.

Nội dung nghiên cứu

+ Xây dựng quy trình định lượng: Hỗn hợp chuẩn ENR, CIP, SAR và FLU được pha trong hỗn hợp dung môi acetonitril: nước (1:1) đến nồng độ khoảng 200 ppb và bơm trực tiếp vào hệ thống khối phổ Xevo TQD, sử dụng chế độ Auto tune trong phần mềm

Masslynx 4.1 để tối ưu hóa điều kiện khối phổ để thu được ion mẹ và các phân mảnh con ở chế độ MRM (multi-reaction monitoring) có cường độ tín hiệu tối ưu của các kháng sinh cần phân tích với các thông số khối phổ cần khảo sát: ES⁺ hay ES⁻, thế mao quản, thế cone, tốc độ dòng khí phun (source gas flow), nhiệt độ buồng ion hóa, nhiệt độ khí bay hơi (desolvation temp), tốc độ dòng khí bay hơi (desolvation gas flow), năng lượng va đập (collision energy). Dựa vào cấu trúc hóa học các kháng sinh nghiên cứu, kỹ thuật sắc ký pha đảo được áp dụng với hệ dung môi phân cực bao gồm acetonitril, methanol, nước có thêm hoặc không thêm chất điều chỉnh pH như acid formic, acid acetic băng (< 0,1%) để khảo sát điều kiện sắc ký tối ưu tách đồng thời 4 kháng sinh trong mẫu thử giả lập.

+ Thẩm định quy trình theo EC 657/2002

- Độ đặc hiệu - chọn lọc: Đánh giá sai khác thời gian lưu của chất phân tích trong mẫu thử so với mẫu chuẩn phải dưới 2,5%, sai khác tỷ lệ ion dưới 20%, không ít hơn 4 điểm xác nhận theo EC.

- Tính tuyến tính: Xây dựng đường tuyến tính với 8 điểm ở các mức nồng độ 10%, 25%, 50%, 80%, 100%, 120%, 150%, 200% giá trị MRL của các chất (với MRL của SAR: 10 ppb; CIP: 100 ppb; ENR: 100 ppb; FLU: 500 ppb).

- Độ đúng, độ chính xác: thực hiện trên mẫu trắng thêm chuẩn ở 3 nồng độ 80%, 100%, 120% giá trị MRL; mỗi nồng độ thực hiện 7 mẫu; thực hiện trong 3 thời điểm khác nhau, tổng cộng 63 mẫu. Đánh giá dựa trên độ lệch chuẩn tương đối và độ thu hồi của chất phân tích.

- Giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ): pha loãng tìm giá trị nồng độ các chất thỏa mãn tương ứng S/N ≥ 3 và S/N ≥ 10; tại các nồng độ này được xác nhận là LOD và LOQ khi thỏa mãn độ đặc hiệu - chọn lọc.

+ Ứng dụng quy trình phân tích: Ứng dụng quy trình đã thẩm định phân tích 10 mẫu tôm thu thập tại các siêu thị trên thành phố Rạch Giá – Kiên Giang.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Xây dựng quy trình định lượng

- Điều kiện khối phổ tối ưu: chế độ MRM xác định hai ion sản phẩm ứng với mỗi chất. Ion có tín hiệu cao và ổn định hơn được chọn làm ion định lượng, ion còn lại được dùng để định tính. Các thông số khối phổ tối ưu được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Kết quả khảo sát điều kiện khối phổ tối ưu phân tích các chất

Chất phân tích	Kiểu ion hóa ESI	m/z ion mẹ	m/z ion con	Nhiệt độ khí bay hơi (°C)	Tốc độ dòng khí bay hơi (l/h)	Thế cone (V)	Thế mao quản (kV)	Năng lượng va đập (V)	Ghi chú
ENR	ES ⁺	360,06	245	500	1000	35	4,0	25	định tính
			316			35	4,0	25	định lượng
CIP		332,03	245			40	4,0	25	định tính
			288			40	4,0	20	định lượng
SAR		386,02	299			42	4,0	26	định tính
			342			42	4,0	20	định lượng
FLU		261,98	202			30	4,0	30	định tính
			244			30	4,0	18	định lượng

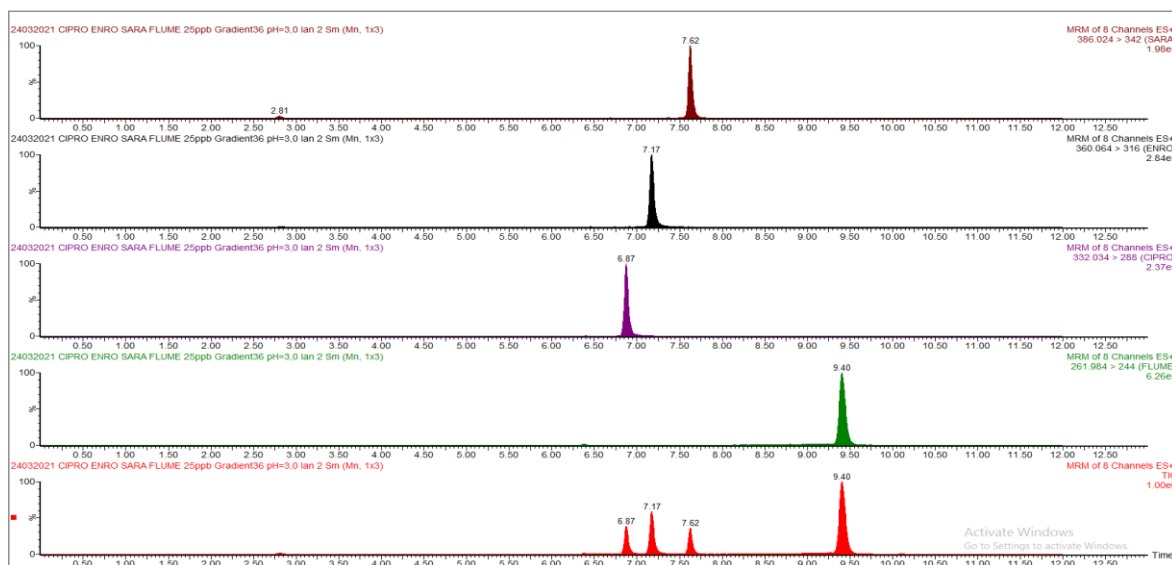
Nhận xét: Các chất phân tích đều đảm bảo có 2 mảnh con (1 mảnh định tính và 1 mảnh định lượng) đáp ứng đủ 4 điểm IP theo EC. Các chất được phân tích ở điều kiện tín

hiệu tối ưu của các mảnh.

- Điều kiện sắc ký thích hợp: Pha tĩnh: Cột GL InertSustain™ C18 (4,6 x 250 mm, 5 μm). Pha động: acetonitril - nước acid formic pH=3,0 theo chương trình gradient được trình bày ở Bảng 2. Thể tích tiêm mẫu: 10μL. Tốc độ dòng: 1 mL/phút.

Bảng 2. Gradient pha động thích hợp

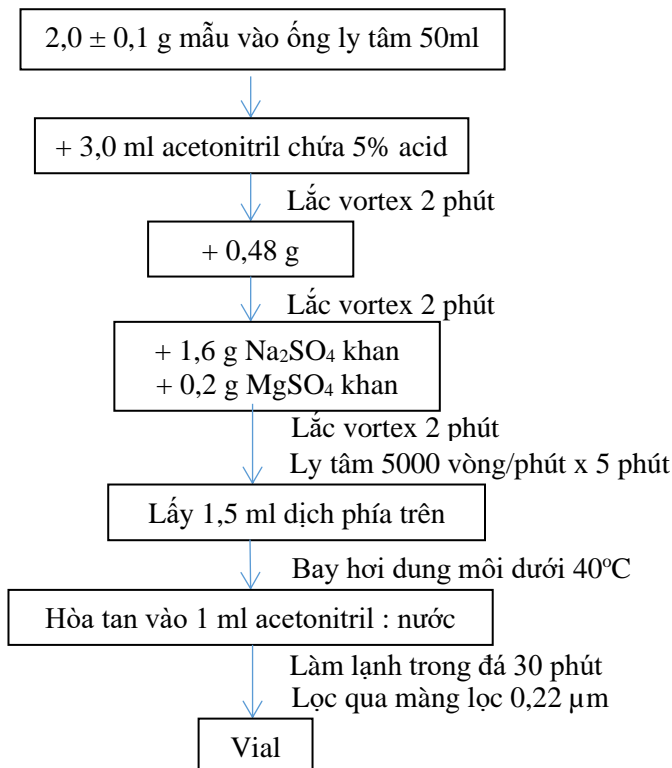
Thời gian (phút)	Tốc độ dòng (mL/phút)	ACN	Nước acid formic pH = 3,0
0	1	5	95
2,0	1	5	95
2,1	1	20	80
5,2	1	40	60
5,3	1	65	35
9,0	1	80	20
9,1	1	5	95
11	1	5	95



Hình 1: Sắc ký đồ của hỗn hợp chuẩn 4 kháng sinh ở điều kiện thích hợp

Quy trình xử lý mẫu thích hợp

Sau khi tham khảo các nghiên cứu trước đó nhóm nghiên cứu tiến hành xử lý mẫu theo quy trình: chiết bằng acetonitril có acid hóa bằng acid formic 5%, loại nước bằng các muối natri sulfat khan và magie sulfat khan, bay hơi dịch chiết bằng khí nitơ và hòa lại vào dung môi acetonitril : nước (1:1), dịch chiết này được làm lạnh và lọc qua màng lọc 0,22 μm để loại các chất kém phân cực. Quy trình này được sử dụng để thẩm định và tiến hành áp dụng trên mẫu thực. Quy trình xử lý mẫu thích hợp được trình bày ở sơ đồ Hình 2.



Hình 2: Quy trình xử lý mẫu thích hợp

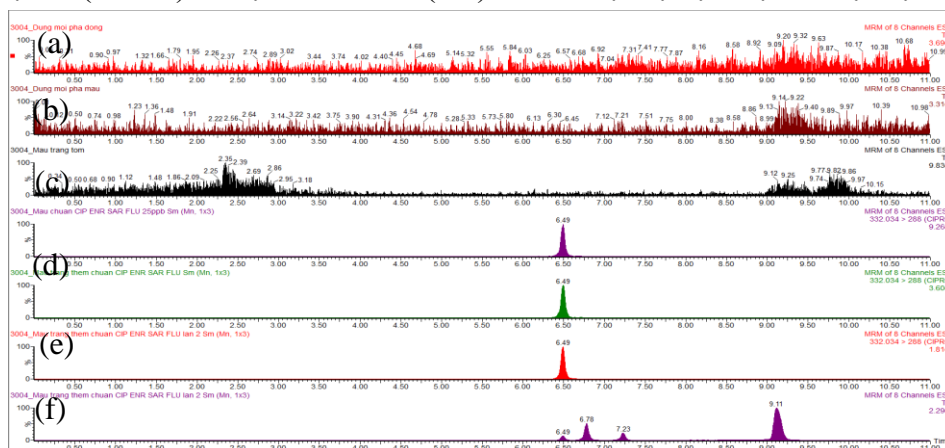
Thẩm định quy trình phân tích theo EC 657/2002

- Độ đặc hiệu – chọn lọc:

Bảng 3. Độ đặc hiệu – chọn lọc của các chất phân tích

Chất phân tích	SAR	CIP	ENR	FLU
Sai khác thời gian lưu (%)	0,12	0,08	0,1	0,09
Sai khác tỷ lệ ion (%)	0,72	5,29	1,62	1,49
Số điểm IP	4	4	4	4

Nhận xét: Các chất phân tích đáp ứng yêu cầu về sai khác thời gian lưu ($\leq 2,5\%$), sai khác tỷ lệ ion ($\leq 20\%$) và đạt số điểm IP (≥ 4). Do đó đạt độ đặc hiệu – chọn lọc.



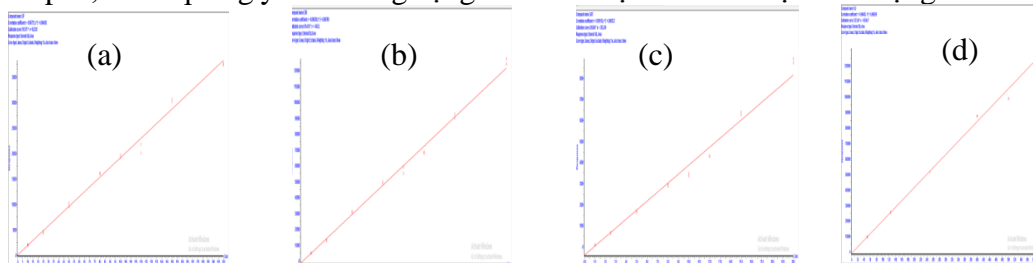
Hình 3: Sắc ký đồ mẫu dung môi pha động (a), dung môi mẫu (b), mẫu trắng (c), mẫu chuẩn (d), mẫu trắng thêm chuẩn (e), mẫu trắng thêm chuẩn lần 2 (f) của CIP

- Tính tuyến tính của đường chuẩn, LOD, LOQ:

Bảng 4. Khoảng tuyến tính, phương trình hồi quy, LOD, LOQ

Chất phân tích	Khoảng tuyến tính (ppb)	Phương trình hồi quy	Hệ số tương quan (r ²)	LOD (ppb)	LOQ (ppb)
CIP	10 - 200	y = 191,071x + 65,5031	0,995	0,5	1,5
ENR	10 - 200	y = 614,418 x – 1443,5	0,997	0,03	0,125
SAR	1 - 20	y = 426,848x – 395,249	0,990	0,125	0,5
FLU	50 - 600	y = 2123,84x – 9534,57	0,997	0,3	1,5

Nhận xét: Trong khoảng nồng độ khảo sát của các kháng sinh đều đạt tính tuyến tính với giá trị R² > 0,99 với khoảng tuyến tính bao phủ giá trị MRL (SAR: 10 ppb; CIP: 100 ppb; ENR: 100 ppb; FLU: 500 ppb), giá trị LOD (0,03-0,5ppb) và LOQ (0,125-0,5ppb) đặc trưng cho phân tích khối phổ, nên đáp ứng yêu cầu ứng dụng cho mẫu thực tế để xác định dư lượng các chất này.



Hình 4: Đường tuyến tính của của CIP (a), ENR (b), SAR (c) và FLU (d) truy xuất từ phần mềm Masslynx 4.1

- Độ đúng, độ chính xác trong ngày và liên ngày:

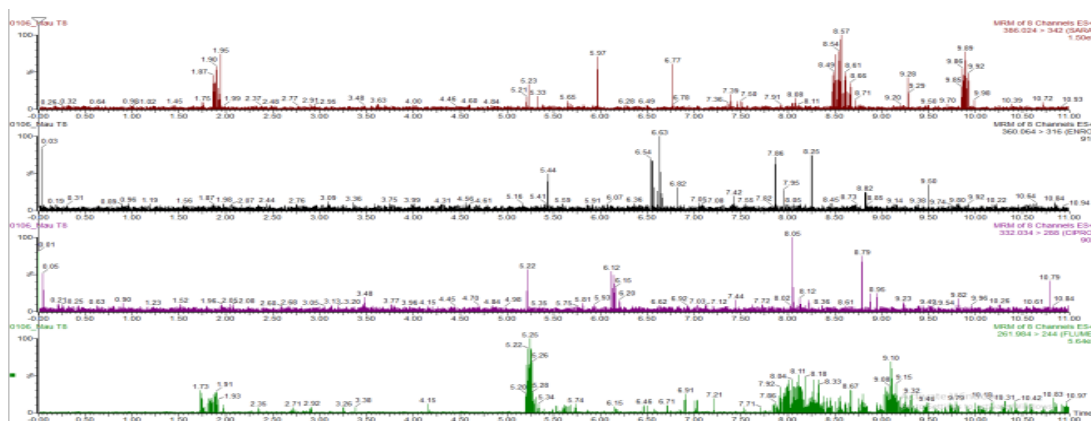
Bảng 5. Độ đúng, độ chính xác trong ngày và liên ngày

Chất phân tích	Nồng độ thêm chuẩn (ppb)	Ngày 1 (n=7)			Ngày 2 (n=7)			Ngày 3 (n=7)			%RSD 3 ngày (n=21)
		TB	RSD (%)	Thu hồi (%)	TB	RSD (%)	Thu hồi (%)	TB	RSD (%)	Thu hồi (%)	
SAR	8	7,87	2,89	98,42	7,66	4,72	95,72	7,68	4,73	95,96	4,17
	10	9,28	5,64	92,84	9,20	4,17	92,04	9,61	3,87	96,07	4,77
	12	10,89	4,95	90,76	11,18	2,88	93,20	11,77	3,55	98,07	4,94
CIP	80	80,26	6,81	100,04	79,60	2,58	99,50	80,45	1,84	100,56	4,14
	100	95,91	4,74	95,91	93,63	7,50	93,63	96,38	4,96	96,38	5,69
	120	110,04	5,21	91,70	116,90	5,07	97,41	116,75	3,73	97,29	5,30
ENR	80	75,34	4,87	94,17	78,83	4,94	98,53	74,64	5,34	93,30	5,39
	100	89,70	3,54	89,70	92,04	5,48	92,04	91,32	4,32	91,32	4,44
	120	106,19	6,91	88,49	107,12	7,26	89,27	105,07	4,65	87,56	6,12
FLU	400	382,14	3,56	95,54	401,12	2,26	100,28	368,89	5,78	92,22	5,21
	500	485,87	4,35	97,17	480,07	3,75	96,01	453,53	4,45	90,71	5,01
	600	580,62	4,66	96,77	593,84	2,89	98,97	581,68	5,68	96,95	4,43

Nhận xét: Các giá trị độ thu hồi trung bình của cả 4 chất CIP, ENR, SAR và FLU đều nằm trong khoảng 80-110% và giá trị RSD < 23% đáp ứng yêu cầu của EC.

Ứng dụng quy trình đã thẩm định để phân tích các mẫu tôm

Phân tích 10 mẫu tôm thu thập tại các siêu thị trên địa bàn tỉnh Kiên Giang cho kết quả không phát hiện mẫu nào có tồn dư dư lượng 4 kháng sinh CIP, ENR, SAR và FLU.



Hình 8: Sắc ký đồ phân tích mẫu T8

IV. BÀN LUẬN

Điều kiện khối phổ và sắc ký thích hợp

Các mảnh con định tính và định lượng của 4 chất phân tích phù hợp với các nghiên cứu đã công bố [3][6]. Cấu trúc đặc trưng của các chất phân tích phù hợp với kiểu ion hóa dương (ES+). Các thông số khối phổ được tối ưu hóa để tín hiệu các mảnh ghi nhận được cao nhất. Thử nghiệm cho thấy tín hiệu các chất tăng theo nhiệt độ dòng khí bay hơi và tốc độ dòng khí bay hơi, tối ưu ở giá trị 500°C và 1000 L/giờ. Do cấu trúc tương tự nhau, nên thế cone phù hợp để bắt các ion nằm ở khoảng 30V đến 40V, dưới giá trị này thế không đủ mạnh để hướng các chất vào cone sample, trên giá trị này tín hiệu nền tăng cao do bắt các chất gây nhiễu. Hệ pha động trong rửa giải sắc ký cũng được khảo sát. Loại pha động là methanol cho pic tín hiệu thấp và chân pic rộng hơn [11], với pha động là nước (không có chất điều chỉnh pH), flumequin cho pic đẹp, cân đối, tuy nhiên các chất sarafloxacin, enrofloxacin và ciprofloxacin lại kéo đuôi nhiều do không chuyển dạng hoàn toàn. Phân tích đồng thời các chất bằng đầu dò khối phổ không yêu cầu tách các chất trên sắc ký đồ tổng (TIC), tuy nhiên để tăng tín hiệu các chất và giảm nhiễu nền, từ đó tăng độ nhạy của phương pháp, nhóm nghiên cứu thực hiện rửa giải gradient để tách hoàn toàn các chất trên cột nhưng vẫn đảm bảo các pic cân đối và thời gian mỗi mũi tiêm không quá dài.

Quy trình xử lý mẫu

Phương pháp xử lý mẫu phổ biến trong phân tích nền mẫu thực phẩm là sử dụng chiết pha rắn (SPE) [6][10]. Tuy nhiên, các ứng dụng chiết pha rắn bị hạn chế bởi loại chất hấp thụ và đặc tính của các thành phần mẫu, vật liệu chiết pha rắn được đóng gói chặt làm tăng thời gian chiết và gây ra áp suất ngược [7]. Để khắc phục nhược điểm thời gian chiết kéo dài và dễ mất mẫu khi sử dụng SPE, nhiều nghiên cứu đã sử dụng chiết lỏng – lỏng với n-hexan để loại tạp kém phân cực [1][11]. Kết quả phương pháp này cho độ thu hồi tốt hơn, tuy nhiên vấn đề lớn nhất là dung môi loại tạp n-hexan rất độc hại, ảnh hưởng sức khỏe con người và môi trường. Bên cạnh đó, kỹ thuật chiết lỏng – lỏng nếu không loại bỏ n-hexan tạp kém phân cực gắn chặt trên bề mặt C18 có thể gây tắc cột. Vấn đề lớn nhất trong xử lý mẫu thực phẩm nói chung và nền mẫu tôm nói riêng là loại bỏ tạp kém phân cực và chất béo. Trong đó thành phần đáng quan tâm trong nền mẫu tôm là astaxanthin (chất tạo nên màu đỏ của tôm khi nấu chín), đây là một carotenoid kém phân cực nếu không loại bỏ tốt dễ làm dơ cột và ảnh hưởng hình dạng pic chất phân tích [8]. Thành phần này lại dễ dàng đông đặc ở nhiệt độ thấp tương tự như chất béo. Vì thế nhóm nghiên cứu đã ứng dụng tính chất này để đông đặc và tách các

tạp chất này ra khỏi nền mẫu phân tích. Các thông số tỷ lệ dung môi chiết, pH dung môi chiết, thời gian ngâm lạnh,... cũng được khảo sát để tối ưu độ thu hồi các chất. Quy trình chiết và làm sạch mẫu không những cho độ thu hồi cao mà còn chứng tỏ ưu điểm nhanh, tiết kiệm dung môi, thân thiện với môi trường và an toàn cho người thực hiện.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng thành công quy trình định lượng đồng thời dư lượng 4 kháng sinh CIP, ENR, SAR và FLU trong tôm bằng phương pháp LC-MS/MS. Quy trình định lượng này đã được thẩm định đạt theo hướng dẫn của AOAC, EC 2002. Quy trình phân tích có tính chọn lọc, chính xác, tin cậy cao cùng với phương pháp xử lý mẫu nhanh, tiết kiệm, thân thiện môi trường và độ thu hồi cao. Quy trình được ứng dụng vào thực tế để kiểm tra trên 10 mẫu tôm tại Kiên Giang. Kết quả phân tích 10 mẫu tôm trên thị trường không phát hiện mẫu chứa dư lượng 4 kháng sinh CIP, ENR, SAR và FLU.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Thanh Trúc, Trần Thị Như Trang (2013), “Phân tích đồng thời các kháng sinh quinolone trong thịt, tôm, cá bằng phương pháp sắc kí lỏng ghép khối phổ”, *Tạp chí Phát triển KH&CN*, 16(2), tr.39-46.
2. AOAC International (2002), “AOAC Guidelines for Single Laborator Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals”, Section 3.3, 3.4.1, 3.4.2, 3.4.6, pp.18-22.
3. Bortolotte, A. R., Daniel, D., de Campos Braga, P. A., & Reyes, F. G. R. (2019). A simple and high-throughput method for multiresidue and multiclass quantitation of antimicrobials in pangasius (*Pangasionodon hypophthalmus*) fillet by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 1124, 17-25.
4. Braun, G., Braun, M., Kruse, J., Amelung, W., Renaud, F. G., Khoi, C. M., Sebesvari, Z. (2019). Pesticides and antibiotics in permanent rice, alternating rice-shrimp and permanent shrimp systems of the coastal Mekong Delta, Vietnam. *Environment international*, 127, 442-451.
5. European Union (2002), Commission decision of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results.
6. Lu, Z., Deng, F., He, R., Tan, L., Luo, X., Pan, X., & Yang, Z. (2019). A pass-through solid-phase extraction clean-up method for the determination of 11 quinolone antibiotics in chicken meat and egg samples using ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Microchemical Journal*, 151, 104213.
7. Saha, S., Singh, A. K., Keshari, A. K., Raj, V., Rai, A., & Maity, S. (2018). Modern extraction techniques for drugs and medicinal agents. *Ingredients extraction by physicochemical methods in food*, pp.65-106.
8. Soumya, R., & Sachindra, N. M. (2015). Carotenoids from fishery resources. *Fish processing byproducts: quality assessment and applications*. Studium Press, Houston, 273-298.
9. Ström, G. H., Björklund, H., Barnes, A. C., Da, C. T., Nhi, N. H. Y., Lan, T. T., Boqvist, S. (2019). Antibiotic Use by Small-Scale Farmers for Freshwater Aquaculture in the Upper Mekong Delta, Vietnam. *Journal of aquatic animal health*, 31(3), 290-298.
11. Priyanka, V. J. J., Chauhan, S. L., & Garg, S. R. (2019). Analysis of Quinolones Residues in Milk using High Performance Liquid Chromatography. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 8(2), 3049-3058.
12. Saxena, S. K., Rangasamy, R., Krishnan, A. A., Singh, D. P., Uke, S. P., Malekadi, P. K., & Gupta, A. (2018). Simultaneous determination of multi-residue and multi-class antibiotics in aquaculture shrimps by UPLC-MS/MS. *Food chemistry*, 260, 336-343.

(Ngày nhận bài: 15/8/2021 - Ngày duyệt đăng: 20/9/2021)