



Bài Nghiên cứu

Xây dựng phương pháp xác định dư lượng một số halquinol và chất chuyển hóa trong thịt bằng LC-MS/MS

Trần Hồng Ngọc^{1,4}, Hoàng Thảo Ngân³, Nguyễn Thị Phương Mai³, Trần Lệ Hoa⁵, Lưu Thị Huyền Trang³, Trần Cao Sơn^{2,3*}, Nguyễn Thị Kiều Anh²

¹ Cao học 29, Khoa Hóa Phân tích và Kiểm nghiệm thuốc, Trường Đại học Dược Hà Nội, 13-15 Lê Thánh Tông, Cửa Nam, Hà Nội, Việt Nam

² Khoa Hóa Phân tích và Kiểm nghiệm thuốc, Trường Đại học Dược Hà Nội, 13-15 Lê Thánh Tông, Cửa Nam, Hà Nội, Việt Nam

³ Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia, 65 Phạm Thận Duật, Phú Diễn, Hà Nội, Việt Nam

⁴ Trường Đại học Trung Vương, 102 Trần Phú, Mộ Lao, Hà Nội, Việt Nam

⁵ Trung tâm Kiểm nghiệm tỉnh Lào Cai, số 587-589, Yên Ninh, Yên Bái, Lào Cai, Việt Nam

* Tác giả liên hệ: Trần Cao Sơn, Email: sontc@nifc.gov.vn

THÔNG TIN CHUNG

Ngày gửi bài: 02/4/2026

Ngày nhận bản sửa: 28/4/2026

Ngày chấp nhận đăng: 05/5/2026

Từ khoá

Halquinol

Chất chuyển hóa

LC-MS/MS

Thịt

TÓM TẮT

Halquinol là hỗn hợp sản phẩm clo hóa của 8-hydroxyquinolin được sử dụng trong điều trị và ngăn ngừa các bệnh do *E. coli* và *Salmonella* spp đối với vật nuôi, đồng thời cũng được trộn vào thức ăn chăn nuôi nhằm mục đích tăng trọng. Việc lạm dụng halquinol có thể gây ra sự gia tăng của tình trạng kháng thuốc - một thách thức lớn đối với y học hiện đại. Trong nghiên cứu này, halquinol và chuyển hóa của chúng trong thịt đã được nghiên cứu xác định bằng sắc ký lỏng khối phổ (LC-MS/MS), sử dụng cột sắc ký Xbridge Premier BEH C18 VanGuard FIT nguồn ion hóa phun điện từ ion dương (ESI+), theo dõi ion đa phản ứng (MRM). Giá trị sử dụng của phương pháp được xác nhận theo hướng dẫn của Hiệp hội các nhà hóa học phân tích chính thức (AOAC). Kết quả cho thấy phương pháp có tính đặc hiệu tốt, đường chuẩn được xây dựng trong khoảng nồng độ từ 10,0 - 100 µg/kg, giới hạn định lượng là 10,0 µg/kg; độ chụm, độ đúng với độ lệch chuẩn tương đối và độ thu hồi dao động đáp ứng yêu cầu theo AOAC. Phương pháp đã được sử dụng để phân tích hàm lượng halquinol và chất chuyển hóa của chúng trong 18 mẫu thịt trên địa bàn Hà Nội và Thái Nguyên. Kết quả cho thấy chưa phát hiện mẫu dương tính với các chất nghiên cứu.

ABSTRACT

Halquinol is a chlorinated derivative mixture of 8-hydroxyquinoline used for the treatment and prevention of diseases caused by *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. in livestock. It is also incorporated into animal feed as a growth promoter. However, the excessive use of halquinol may contribute to the increasing problem of antimicrobial resistance, which

* Tác giả liên hệ: Trần Cao Sơn, Email: sontc@nifc.gov.vn

<http://doi.org/10.59882/1859-364X/409>

poses a significant challenge to modern medicine. In this study, halquinol and its metabolites in meat were investigated and determined using liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC–MS/MS). Chromatographic separation was performed on an XBridge Premier BEH C18 VanGuard FIT column with electrospray ionization in positive mode (ESI+), operating in multiple reaction monitoring (MRM) mode. The applicability of the method was validated in accordance with the guidelines of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC). The results demonstrated that the method exhibited good specificity, with calibration curves constructed over a concentration range of 10.0–100 µg/kg. The limit of quantification (LOQ) was 10.0 µg/kg. The precision and accuracy, expressed as relative standard deviation and recovery, met AOAC requirements. The validated method was subsequently applied to the determination of halquinol and its metabolites in 18 meat samples collected from Hanoi and Thai Nguyen. The results indicated that none of the analyzed samples contained halquinol residues above the quantification limit of the method.

Đặt vấn đề

Halquinol là hỗn hợp được tạo ra do quá trình clo hóa của 8-hydroxyquinolin, bao gồm 5,7-dicloro-8-hydroxyquinolin (5,7-DCHQ; chiếm 57-74% [w/w]), 5-cloro-8-hydroxyquinolin (5-CHQ; chiếm 23-40% [w/w]) và 7-cloro-8-hydroxyquinolin (7-CHQ; chiếm 0-4% [w/w]), được sử dụng trong điều trị và ngăn ngừa các bệnh do *E. coli* và *Salmonella* spp gây bệnh ở vật nuôi [1]. Mặt khác, chúng cũng được trộn vào thức ăn chăn nuôi nhằm mục đích tăng trọng. Halquinol được hấp thu qua đường tiêu hóa và được chuyển hóa chủ yếu tại gan thành dạng glucuronic (chủ yếu) và sulfat (thứ yếu) [2], chủ yếu được chuyển hóa thành 5-cloro-8-hydroxyquinolin glucuronic (5-CHQG) và 5,7-dicloro-8-hydroxyquinolin glucuronic (5,7-DCHQG) [1].

Việc lạm dụng các sản phẩm chứa kháng khuẩn nói chung và nhóm halquinol nói riêng có thể gây ra sự gia tăng của tình trạng kháng chéo thuốc [3] - một thách thức đối với y học hiện đại. Theo báo cáo của JECFA, từ các thí nghiệm trên chuột, halquinol gây độc tính thấp qua đường uống; ở liều cao và trung bình có thể gây tác hại đến thận và gan [4]. Halquinol được dùng qua đường tiêu hóa với lượng trộn vào thức ăn là 60-600 mg/kg (tương ứng với khoảng 2,4-24 mg/kg trọng lượng cơ thể ở lợn), trong tối đa 15 ngày liên tiếp và thời gian ngừng sử dụng đối với các sản phẩm khác nhau từ 0 đến 7 ngày, tùy thuộc vào từng quốc gia [2].

Ủy ban Tiêu chuẩn Thực phẩm Quốc tế (Codex) đã thiết lập hàm lượng tồn dư tối đa (MRLs) cho nhiều loại thuốc thú y, trong đó có

halquinol. Để bảo vệ sức khỏe cộng đồng, JECFA đã đề xuất các giới hạn dư lượng tối đa (MRL) của halquinol trong cơ (40 µg/kg), gan (500 µg/kg), thận (9000 µg/kg) và mỡ động vật (350 µg/kg), coi đây là mức dư lượng an toàn cho người tiêu dùng [1]. Tại Việt Nam, dù được sử dụng rộng rãi trong chăn nuôi nhưng vẫn chưa có văn bản luật nào quy định rõ ràng về hàm lượng halquinol trong thực phẩm. Vì vậy, việc kiểm soát dư lượng halquinol là cần thiết để đảm bảo chất lượng thực phẩm nhằm bảo vệ sức khỏe người tiêu dùng. Tại Việt Nam, hiện chưa có phương pháp tiêu chuẩn để xác định hàm lượng halquinol trong cả mẫu thực phẩm và thức ăn chăn nuôi. Để góp phần kiểm soát dư lượng một số halquinol và chuyển hóa của chúng trong thịt, nghiên cứu này thực hiện nhằm xây dựng phương pháp phân tích một số halquinol trong thịt bằng LC-MS/MS nhằm ứng dụng kiểm soát dư lượng một số halquinol trong mẫu thịt lưu hành trên thị trường.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng và mẫu nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là ba chất halquinol thường được sử dụng cho động vật lấy thịt và 2 chất chuyển hóa của chúng bao gồm: 5-cloro-8-hydroxyquinolin (5-CHQ); 7-cloro-8-hydroxyquinolin (7-CHQ); 5,7-dicloro-8-hydroxyquinolin (5,7-DCHQ); 5-cloro-8-hydroxyquinolin glucuronic (5-CHQG); 5,7-dicloro-8-hydroxyquinolin glucuronic (5,7-DCHQG).

Mẫu thử: Thịt lợn, gà, bò được lọc bỏ da, mỡ, gân và xương, lấy phần cơ. Bảo quản lạnh

ở $-18^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ đến khi phân tích. Tổng cộng 18 mẫu thịt gồm thịt gà, thịt lợn, thịt bò được thu thập mỗi loại thịt 3 mẫu ngẫu nhiên tại các chợ ở tỉnh Thái Nguyên và Hà Nội, mỗi tỉnh 3 mẫu đối với mỗi loại thịt, thời gian thu thập mẫu từ tháng 9/2025 đến tháng 11/2025.

Mẫu trắng (Mẫu nền): Thịt lợn được lọc bỏ da, mỡ, gân và xương, lấy phần cơ, được kiểm tra không phát hiện 5 chất nghiên cứu (nhỏ hơn giới hạn phát hiện).

Mẫu tự tạo: Mẫu dùng để khảo sát điều kiện phân tích và thẩm định phương pháp phân tích được chuẩn bị bằng cách thêm chuẩn ở nồng độ phù hợp với yêu cầu nghiên cứu vào mẫu trắng.

Hóa chất và chất chuẩn

Các chất chuẩn được sử dụng bao gồm: 5-cloro-8-hydroxy quinolin (Cloxiquin) (độ tinh khiết 99,20%, số lô 1474445); 7-cloro-hydroxy quinolin (độ tinh khiết 98,83%, số lô 77YKZ-119-1) của hãng LGC (Anh); 5,7-dicloro-8-hydroxy quinolin (hãng CATO (Trung Quốc), độ tinh khiết 97,5%, số lô 0703-RE-0107); 5-cloro-8-hydroxyquinolin glucuronic (hãng Biosynth (Anh), độ tinh khiết 99,00%, số lô 33822); 5,7-dicloro-8-hydroxyquinolin glucuronic (hãng LGC (Anh), độ tinh khiết 95,00%, số lô 9-MBA-154-4). Dung môi, hoá chất gồm: acetonitril (ACN), acid formic, amoniac, dinatri ethylenediaminetetraacetat, amoni bicarbonat loại tinh khiết phân tích hoặc tinh khiết sắc ký.

Thiết bị và dụng cụ

Hệ thống sắc ký lỏng SCIEX Exion LC 20AD (Hoa Kỳ) ghép nối detector khối phổ SCIEX Triple Quad 6500+ (Hoa Kỳ); máy đồng nhất mẫu Philips HR2223 (Trung Quốc); cân phân tích (có độ chính xác 0,1 mg), Mettler Toledo (Thụy Sĩ); máy ly tâm lạnh HERMLE-326K (Đức); máy vortex IKA vortex Genius (Đức); tủ lạnh. Dụng cụ: Micropipet tùy chỉnh, bình định mức, pipet Pasteur, cốc có mỏ,...

Phương pháp nghiên cứu

Điều kiện sắc ký lỏng khối phổ LC-MS/MS

Dựa vào tài liệu tham khảo [5-7] và điều

kiện thực tế sẵn có, lựa chọn cột pha đảo Xbridge Premier BEH C18 VanGuard FIT (3,5 μm , 2,1 mm $\times$ 150 mm) (Waters, Mỹ). Pha động gồm kênh A và kênh B với chế độ gradient dung môi (%B: 0 $\rightarrow$ 4,0 phút: 0%; 4,0 $\rightarrow$ 8,0 phút: 0% $\rightarrow$ 100%; 8,0 $\rightarrow$ 10,0 phút: 0%), tốc độ dòng 0,45 mL/phút, thể tích tiêm 10 μL . Xác định điều kiện MS dựa vào tính năng tối ưu hóa của thiết bị, lựa chọn ion mẹ, ion con phù hợp để định tính và định lượng, năng lượng va chạm,... Tiến hành khảo sát và lựa chọn thành phần pha động để thu được pic các chất phân tích gọn, sắc nét, đáp ứng cao.

Khảo sát điều kiện xử lý mẫu

Trên cơ sở tham khảo tài liệu [5-7], quy trình xử lý mẫu dự kiến như sau: Mẫu thử được rửa đông (nếu cần) ở nhiệt độ phòng, đồng nhất mẫu bằng máy xay. Cân chính xác khoảng 5,00 g mẫu vào ống falcon 50 mL, thêm chính xác 10 mL dung môi chiết, lắc xoáy 2 phút. Lắc ngang 10 phút, siêu âm 15 phút. Giữ trong tủ đông ở nhiệt độ -20°C trong 30 phút. Ly tâm ở 6000 vòng/phút trong 5 phút. Lấy phần dịch nổi, lọc qua màng lọc 0,2 μm và tiến hành phân tích.

Thẩm định phương pháp

Tiến hành thẩm định phương pháp theo hướng dẫn của AOAC 2016 [8], bao gồm: độ đặc hiệu, giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ), khoảng tuyến tính, ảnh hưởng nền, độ lặp lại, độ thu hồi.

Ứng dụng phân tích mẫu thực

Mẫu thử được rửa đông (nếu cần), xử lý mẫu và sắc ký theo quy trình phân tích đã lựa chọn. Các chất nghiên cứu được định tính dựa vào thời gian lưu, phổ MS/MS gồm ion mẹ, ion con và tỷ lệ cường độ ion. Nồng độ chất phân tích trong mẫu được tính toán dựa trên đường chuẩn được thiết lập cùng ngày phân tích với $R^2 \geq 0,99$.

Kết quả nghiên cứu

Tối ưu hóa điều kiện phân tích 5 chất halquinol bằng LC-MS/MS

Tối ưu hóa điều kiện khối phổ

Tiêm không qua cột vào hệ thống MS dung

Bảng 1. Điều kiện MS/MS lựa chọn

Chất phân tích	Mảnh ion mẹ (m/z)	Mảnh ion con (m/z)	Tỷ lệ cường độ ion	Thế phân mảnh (CE) (eV)
5-CHQ	180	117* 145	0,20	47 47
7-CHQ	181,1	90* 118	0,09	73 53
5,7-DCHQ	214	179* 115	0,79	47 47
5-CHQG	355,7	180* 145,2	0,08	47 47
5,7-DCHQG	389,8	214,2* 179,2	0,11	47 47

*Ion định lượng

dịch chuẩn hỗn hợp nồng độ mỗi chất 100 ppb trong acetonitril. Các điều kiện khối phổ, phân mảnh ion được tối ưu hóa tự động dựa trên tính năng của thiết bị khối phổ. Thông số khối phổ được lựa chọn là ion hóa ở chế độ ESI (+); thế ion hóa: +4500 V; nhiệt độ nguồn ion hóa: 550°C; chế độ chọn lọc đa phản ứng (MRM - Multiple Reaction Monitoring). Kết quả được trình bày trong bảng 1.

Khảo sát dung môi pha động

Tiến hành khảo sát 3 hệ pha động gồm (1) A: acid formic 0,1% trong nước và B: acid formic 0,1% trong acetonitril; (2) A: acid formic 0,1% trong nước và B: acetonitril; (3) A: acid formic 0,1%, amoni format 10mM trong nước và B: acetonitril), thực hiện phân tích dung dịch chuẩn có nồng độ mỗi chất là 100 ng/mL trong acetonitril. Kết quả được trình bày ở Hình 2.

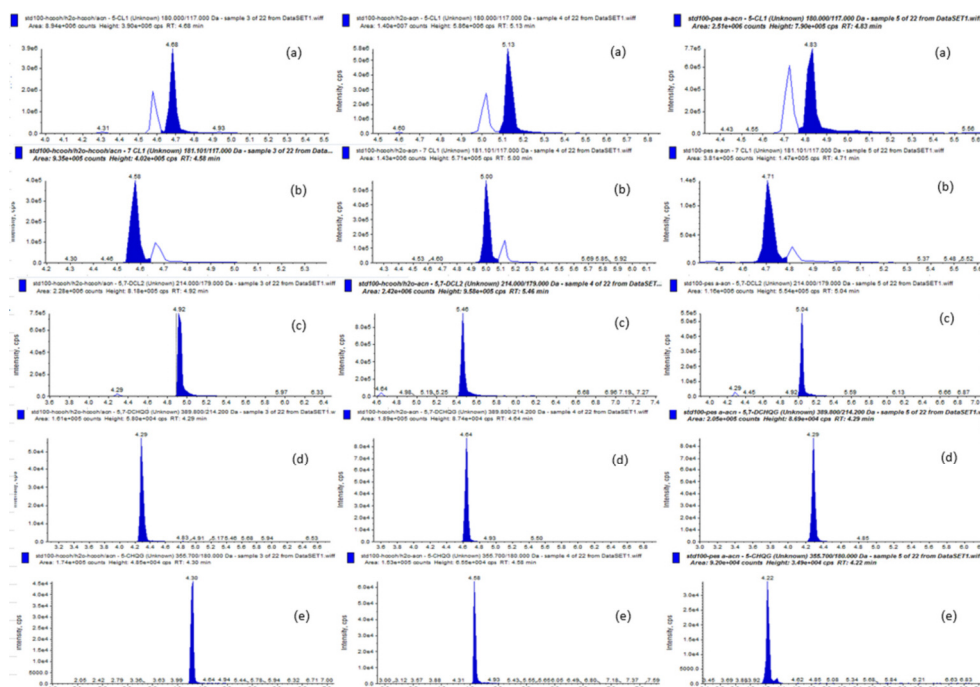
Kết quả ở Hình 2 cho thấy, khi sử dụng hệ pha động (2), pic các chất phân tích cân xứng, chân pic gọn, cường độ tín hiệu cao hơn so với kết quả thu được đối với 2 hệ pha động (1) và (3). Do đó, hệ pha động (2) được lựa chọn.

Khảo sát quy trình xử lý mẫu

Tiến hành phân tích mẫu trắng thêm hỗn hợp chuẩn 5 chất 5-CHQ, 7-CHQ, 5,7-DCHQ, 5-CHQG, 5,7-DCHQG để sau khi xử lý nồng độ mỗi chất trong dung dịch sắc ký khoảng 100 ng/mL.

Khảo sát dung môi chiết

Khảo sát 4 hệ dung môi chiết gồm 1) ACN 80%



Hệ pha động (1)

Hệ pha động (2)

Hệ pha động (3)

Hình 2. Sắc ký đồ các chất nghiên cứu trong khảo sát điều kiện pha động

a) 5-CHQ; b) 7-CHQ; c) 5,7-DCHQ; d) 5-CHQG; e) 5,7-DCHQG

chứa 100 ppm Na₂EDTA; 2) ACN 80% chứa 0,1% HCOOH và 100 ppm Na₂EDTA; 3) ACN 80% chứa 1% HCOOH và 100 ppm Na₂EDTA và 4) ACN 80% chứa 1% NH₃ và 100 ppm Na₂EDTA. Kết quả được trình bày ở Hình 3.

Kết quả ở hình 3 cho thấy dung môi 2 cho hiệu suất thu hồi cao (88% - 97%) và ổn định đối với tất cả các chất, do đó lựa chọn dung môi 2 cho nghiên cứu tiếp theo.

Khảo sát số lần chiết

Thực hiện chiết 1 lần và 2 lần theo điều kiện đã lựa chọn. Kết quả khảo sát cho thấy hiệu suất thu hồi đối với các chất nghiên cứu khi thực hiện chiết 2 lần so với chiết 1 lần tương đương nhau. Do đó, lựa chọn chiết 1 lần cho xử lý mẫu.

Từ các kết quả khảo sát, điều kiện xử lý mẫu được lựa chọn là: Cân chính xác khoảng 5,00 g mẫu thử đã được đồng nhất vào ống falcon 50 mL. Thêm chính xác 10 mL ACN 80% chứa 0,1% HCOOH và 100 ppm Na₂EDTA. Lắc xoay 2 phút, sau đó lắc ngang 15 phút, siêu âm 10 phút. Giữ trong tủ đông ở nhiệt độ -20°C trong 30 phút.

Lý tâm 6000 vòng/phút trong 5 phút. Lọc dịch nổi qua màng lọc 0,2 µm.

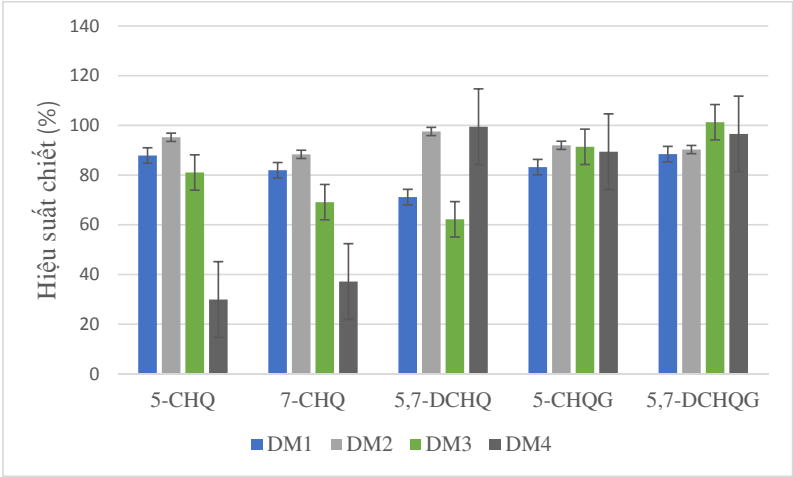
Thẩm định phương pháp

Độ đặc hiệu

Độ đặc hiệu của phương pháp được đánh giá bằng cách phân tích mẫu trắng (mẫu nền thịt), mẫu chuẩn, mẫu trắng thêm chuẩn. Kết quả ở Bảng 2 và minh họa ở Hình 4 cho thấy thời gian lưu của pic các chất phân tích trong mẫu trắng thêm chuẩn có thời gian lưu tương đương với thời gian lưu của chúng trong mẫu chuẩn (độ sai lệch nhỏ hơn 1%), mẫu trắng không phát hiện có chất nghiên cứu. Số điểm nhận dạng (Identification Points, IP) của mỗi chất bằng 5 như số liệu ở bảng 1 và tỷ lệ cường độ ion định lượng/ion định tính đáp ứng yêu cầu theo quy định của tiêu chuẩn châu Âu EC (2021/808) [9]. Kết quả này cho thấy phương pháp phân tích đạt yêu cầu về tính đặc hiệu.

Giới hạn định lượng, giới hạn phát hiện

Tiến hành phân tích mẫu trắng thêm chuẩn ở các mức nồng độ thấp dần, xác định tỷ lệ tín hiệu và nhiễu (S/N) dựa trên phần mềm của thiết bị với



Hình 3. Kết quả khảo sát dung môi chiết (n = 3)

Bảng 2. Kết quả đánh giá độ đặc hiệu của phương pháp

Chất phân tích	Thời gian lưu (phút)		Tỷ lệ cường độ ion định lượng/ ion định tính				Đánh giá
	Mẫu chuẩn	Mẫu trắng thêm chuẩn	Mẫu chuẩn	Mẫu trắng thêm chuẩn	Độ lệch (%)	Yêu cầu (%)	
5-CHQ	4,67	4,67	0,20	0,17	-15,00	±25	Đạt
7-CHQ	4,54	4,55	0,09	0,11	22,22	±30	Đạt
5,7-DCHQ	4,98	4,98	0,79	0,77	-2,53	±20	Đạt
5-CHQG	4,10	4,11	0,08	0,10	25,00	±50	Đạt
5,7-DCHQG	4,17	4,16	0,11	0,13	18,18	±30	Đạt

số thí nghiệm lặp lại 6 lần. LOD và LOQ là nồng độ có tỷ lệ (S/N) lần lượt khoảng 3 và 10. Kết quả cho thấy giá trị LOD và LOQ của cả 5 chất nghiên cứu đều là 3,3 µg/kg và 10 µg/kg.

Ảnh hưởng nền mẫu

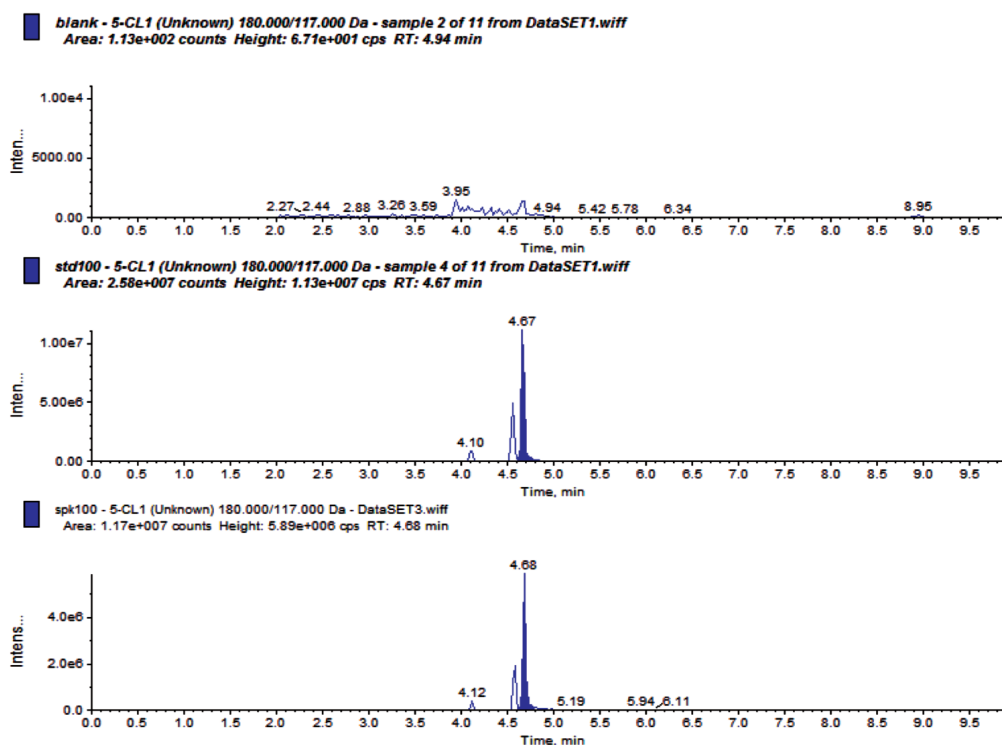
Ảnh hưởng nền mẫu được đánh giá dựa vào hệ số ME (Matrix Effect). Tiến hành phân tích dung dịch hỗn hợp chuẩn pha trong dung môi và dung dịch chuẩn pha trong dịch chiết của mẫu trắng. Kết quả giá trị ME (tỷ số hệ số góc của đường chuẩn chất phân tích trong dung dịch nền mẫu và hệ số góc của đường chuẩn chất phân tích trong dung môi) ở bảng 3 cho thấy phương pháp có ảnh hưởng nền mẫu từ -29,62% đến +52,94%, do đó cần xây dựng đường chuẩn trên nền mẫu.

Khoảng tuyến tính

Thêm hỗn hợp dung dịch chuẩn của 5 chất nghiên cứu vào mẫu trắng ở các mức nồng độ 10; 20; 50; 80; 100 µg/kg tương ứng với nồng độ dung dịch phân tích lần lượt là 5; 10; 25; 40; 50 ng/mL. Xử lý mẫu và tiến hành sắc ký. Kết quả được trình bày ở bảng 3 cho thấy trong khoảng nồng độ khảo sát, đáp ứng phân tích (diện tích pic) và nồng độ có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ với R^2 đều lớn hơn 0,99, độ chệch nằm trong khoảng -6,57%-7,44% (<15%) ở tất cả các mức nồng độ đối với cả 5 chất, đáp ứng quy định của AOAC 2016 [8].

Độ lặp lại và độ đúng

Độ lặp lại và độ đúng của phương pháp được



Hình 4. Sắc ký đồ phân tích 5-CHQ của mẫu trắng (a), mẫu trắng thêm chuẩn (b), mẫu chuẩn (c)

Bảng 3. Kết quả đánh giá ME%, khoảng tuyến tính của phương pháp

Chất phân tích	ME%	Khoảng tuyến tính		
		Phương trình hồi qui	Độ chệch (%)	R^2
5-CHQ	52,94%	$y=234364x-242925$	-4,30 đến 4,48	0,9966
7-CHQ	10,29%	$y=14824x-6455,8$	-1,45 đến 2,17	0,9999
5,7-DCHQ	23,41%	$y=15107x+134429$	-6,48 đến 3,06	0,9975
5-CHQG	-23,88%	$y=4592,8x-11916$	-6,57 đến 4,87	0,9996
5,7-DCHQG	-29,62%	$y=2054,9x+743,52$	-5,80 đến 7,44	0,9988

Bảng 4. Kết quả đánh giá độ thu hồi (R%) và độ lặp lại (RSDr %) của phương pháp

Chất phân tích	R%	RSDr, %
5-CHQ	97,83%-100,05%	8,62%-9,99%
7-CHQ	96,32%-106,65%	5,68%-6,62%
5,7-DCHQ	95,72%-99,28%	6,91%-9,79%
5-CHQG	89,45%-100,30%	6,54%-8,29%
5,7-DCHQG	93,07%-99,87%	5,74%-9,54%

đánh giá thông qua giá trị độ lệch chuẩn tương đối RSDr% và độ thu hồi R% khi phân tích mẫu trắng thêm chuẩn. Mẫu trắng được thêm chuẩn ở các mức hàm lượng là 10; 20; 100 µg/kg. Tiến hành phân tích lặp lại 6 lần ở mỗi mức nồng độ. Kết quả ở bảng 4 cho thấy phương pháp có độ thu hồi và độ lặp lại đáp ứng theo yêu cầu của AOAC [8] (độ thu hồi trong khoảng 60-115%, $RSD \leq 21\%$ tại mức nồng độ 10 µg/kg và độ thu hồi trong khoảng 80 - 110%, $RSD \leq 15\%$ tại mức nồng độ 20-100 µg/kg).

Từ kết quả thẩm định phương pháp thu được ở trên cho thấy phương pháp xây dựng được đáp ứng yêu cầu về độ đặc hiệu, độ đúng, độ chính xác, có độ nhạy và khoảng nồng độ làm việc phù hợp để áp dụng phân tích mẫu trong thực tế.

Ứng dụng

Phương pháp đã được ứng dụng để xác định dư lượng 5 chất nghiên cứu 5-CHQ, 7-CHQ, 5,7-DCHQ, 5-CHQG, 5,7-DCHQG trong 18 mẫu thịt (lợn, gà, bò) được thu thập ngẫu nhiên trên thị trường Hà Nội và Thái Nguyên. Kết quả cho thấy trong 18 mẫu thịt, không có mẫu nào phát hiện dương tính với các chất nghiên cứu (với LOD là 3,3 µg/kg).

Bàn luận

Phương pháp LC-MS/MS được lựa chọn trong nghiên cứu này có ưu điểm vượt trội về độ nhạy và độ đặc hiệu, cho phép định lượng đồng thời 5 chất gồm 3 chất nhóm halquinol và 2 chất chuyển hóa chính trong nền mẫu thịt. So sánh với các nghiên cứu trước đây chỉ định lượng được 2 chất (5-CHQ và 5,7-DCHQ) [6, 10] hoặc 4 chất (5-CHQ, 5,7-DCHQ, 5-CHQG, 5,7-DCHQG) [5], phương pháp xây dựng được còn phân tích thêm chất 7-CHQ - đây là chất có trong halquinol do quá trình clo hóa 8-hydroquinolin. Độ nhạy của phương pháp trong nghiên cứu với LOD và LOQ lần lượt là 3,3 µg/kg và 10 µg/kg,

đáp ứng yêu cầu khi phân tích mẫu ở mức giới hạn dư lượng tối đa do JECFA khuyến nghị [7]. Giá trị LOQ thu được của phương pháp tương đồng với nghiên cứu của Lee Tae Ho và cộng sự [5] trên nền mẫu thịt, nhưng thấp hơn so với nghiên cứu trên nền mẫu gan là 20 µg/kg [10].

Phân tích dư lượng trong nền mẫu phức tạp bằng LC-MS/MS thường ưu tiên sử dụng chuẩn nội, đặc biệt là chuẩn nội đồng vị, nhằm hiệu chỉnh ảnh hưởng nền và sai số hệ thống. Tuy nhiên, trong một số trường hợp không có chuẩn nội phù hợp, phương pháp ngoại chuẩn kết hợp dựng chuẩn trên nền mẫu đã được áp dụng [5, 6]. Trong nghiên cứu này, đường chuẩn được xây dựng trên nền mẫu thịt nhằm giảm thiểu ảnh hưởng nền. Kết quả thẩm định cho thấy độ chệch từ -6,57% đến 7,44%; độ thu hồi nằm trong khoảng 89,45-106,65% và độ lặp lại có RSDr nằm trong khoảng 5,68%-9,99% đối với cả 5 chất nghiên cứu, đáp ứng yêu cầu của AOAC ở mức nồng độ nghiên cứu [11].

Quá trình xử lý mẫu phân tích của nghiên cứu được thực hiện khá đơn giản, nhanh, kinh tế, có thể thực hiện ở hầu hết các phòng thí nghiệm. So với nghiên cứu khác, yêu cầu sử dụng cột chiết pha rắn [10] đắt tiền hơn và yêu cầu dụng cụ phức tạp. Điều kiện xử lý mẫu tương đồng với nhóm nghiên cứu Hàn Quốc với hiệu suất đạt được từ 88,33%-97,53% so với 87,18%-106,84%, nhưng độ chính xác với RSD đạt được từ 0,4%-6,8% thấp hơn so với 3,05-15,62% đối với 5 chất phân tích [5]. Độ thu hồi của nghiên cứu cao hơn so với xử lý mẫu bằng chiết pha rắn chỉ đạt khoảng 57% [10].

Tại Việt Nam đã có quy định không sử dụng kháng sinh trộn cùng thức ăn trong chăn nuôi với mục đích tăng trọng, mà chỉ được sử dụng để điều trị dự phòng, điều trị bệnh theo đơn nhằm giảm nguy cơ kháng thuốc [11]. Kết quả của nhóm nghiên cứu ở Brazil đã chứng minh sử dụng halquinol có thể gây nguy cơ kháng kháng sinh chéo trên người và vật nuôi [3]. Điều này cho thấy việc kiểm soát dư lượng halquinol trong thực phẩm là cần thiết. Kết quả phân tích mẫu thực, Molognoni và cộng sự [12] đã xác định được sự có mặt của 5-CHQ và 5,7-DCHQ có trong một số mẫu thức ăn chăn nuôi, mẫu có hàm lượng halquinol cao nhất lên tới 19 mg/kg thức

ăn. Phân tích các mẫu thực phẩm (thịt, cá, gan) thu thập tại Hàn Quốc chưa phát hiện mẫu dương tính với các halquinol [8]. Nghiên cứu này đã áp dụng phương pháp xây dựng được phân tích 18 mẫu thịt gồm thịt gà, thịt lợn, thịt bò thu thập tại Hà Nội và Thái Nguyên, kết quả không phát hiện mẫu nào dương tính với các halquinol và các chất chuyển hóa nghiên cứu. Tuy nhiên, do số lượng mẫu còn hạn chế nên nghiên cứu sẽ tiếp tục phân tích với cỡ mẫu lớn hơn, đa dạng loại mẫu và lấy mẫu ở nhiều nơi khác nhau để có thể đánh nguy cơ tồn dư của halquinol trong thực phẩm, bảo vệ người tiêu dùng.

Kết luận

Nghiên cứu đã xây dựng được phương pháp LC-MS/MS xác định dư lượng 3 chất nhóm halquinol dùng phổ biến trong chăn nuôi là 5-CHQ, 7-CHQ, 5,7-DCHQ và 2 chất chuyển hóa

chính của chúng là 5-CHQG, 5,7-DCHQG. Mẫu thử được xử lý nhanh, đơn giản với độ thu hồi cao. Phương pháp đã được thẩm định đáp ứng theo yêu cầu của AOAC về độ đặc hiệu, độ đúng, độ chính xác, khoảng tuyến tính với độ nhạy cao (LOD là 3,3 µg/kg). Phương pháp đã ứng dụng phân tích 18 mẫu thịt (lợn, gà, bò) chứng tỏ tính khả thi của phương pháp trong thực tiễn. Kết quả chưa phát hiện dư lượng của halquinol và chuyển hóa của chúng trong các mẫu nghiên cứu do đó cần tiếp tục ứng dụng phương pháp phân tích các chất nghiên cứu trong số lượng mẫu nhiều hơn và có thể mở rộng sang đối tượng mẫu là phủ tạng (gan, thận), sữa, trứng, ... phục vụ kiểm soát chất lượng thực phẩm lưu hành trên thị trường.

Xung đột lợi ích

Không.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Residue Monograph prepared by the meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), 85th Meeting 2017: Halquinol. 85th meeting ed. Amy-Lynn Hall AC, Joe Boison, editor. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) and World Health Organization (WHO); 2017.
2. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. In: Series WFA, editor. Geneva: World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2020. p. 141-96.
3. Evangelista AG, Janotto LD, Possamai AP, Perry CC, Ribeiro FL, Luciano FB. Cross-resistance between halquinol and antibiotics of importance in human and animal health. *Int Microbiol*. 2025;1-15. doi:https://doi.org/10.1007/s10123-025-00707-x.
4. Swetha R, Jayakumar K, Narayanaswamy M, Shridhar NB, Sanganal J, Rao S. Organ directed toxicity of halquinol in a repeated dose 28 day oral toxicity study in female rats. *Indian J Pharmacol*. 2007;39(2):97-102. doi:https://doi.org/10.4103/0253-7613.32528.
5. Lee TH, Park SY, Kim JY, Choi J-D, Moon G. Establishment of analysis method for the quantification of residues of halquinol and its metabolites in livestock and fishery products using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Applied Biological Chemistry*. 2023;66(1). doi:https://doi.org/10.1186/s13765-023-00793-3.
6. Zheng W, Choi JM, Kim SK, Shim JH, Kang YS, Abd El-Aty AM, et al. Determination of halquinol residual levels in animal-derived food products using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Biomed Chromatogr*. 2018;32(11):e4339. doi:https://doi.org/10.1002/bmc.4339.
7. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. In: Series WFA, editor. 79. Geneva: World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2021. p. 72-92.
8. INTERNATIONAL AOAC Appendix F: Guidelines for standard method performance requirements. Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL 2016.
9. Commission E. Commission implementing regulation (EU) 2021/808 of 22 March 2021 on the performance of analytical methods for residues of pharmacologically active substances used in food-producing animals and on the interpretation of results as well as on the methods to be used for sampling and repealing Decisions 2002/657/EC and 98/179/EC. *Official Journal of the European Union*. 2021. p. 84-109.
10. Mushigeri S, Ganesh M, Radhakrishna PM. A validated method for halquinol extraction from chicken liver matrix for residual HPLC Studies. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2006;17(2):133-41. doi:https://doi.org/10.1515/jbcp.2006.17.2.133.
11. Chính phủ Việt Nam. Nghị định số 13/2020/NĐ-CP ngày 21 tháng 01 năm 2020 quy định chi tiết Luật Chăn nuôi. Hà Nội 2020.
12. Molognoni L, de Souza NC, de Sá Ploêncio LA, Mücke GA, Daguer H. Simultaneous analysis of spectinomycin, halquinol, zilpaterol, and melamine in feedingstuffs by ion-pair liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2018;1569:110-7. doi:https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.07.040.