

DOI:10.22144/ctujos.2024.465

# NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH IVERMECTIN TRÊN NỀN TÔM THẺ, CÁ TRA VÀ CHẢ CÁ BASA BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG GHEP HAI LẦN KHỐI PHỔ

Võ Kim Huyền<sup>1</sup>, Nguyễn Quốc Châu Thanh<sup>2</sup>, Nguyễn Trọng Tuấn<sup>2</sup>, Trần Hoàng Ái<sup>3</sup> và Đặng Huỳnh Giao<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Học viên cao học khóa 29 ngành Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam

<sup>2</sup>Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam

<sup>3</sup>Khoa Nông nghiệp-Thủy sản, Trường Đại học Cửu Long, Việt Nam

<sup>4</sup>Trường Bách Khoa, Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam

\*Tác giả liên hệ (Corresponding author): dhgiao@ctu.edu.vn

## Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 31/05/2024

Sửa bài (Revised): 20/06/2024

Duyệt đăng (Accepted): 25/08/2024

**Title:** Developing a method for analyzing Ivermectin in whiteleg shrimp, catfish, and fishcake products by Liquid Chromatography with tandem mass spectrometry

**Author(s):** Vo Kim Huyen<sup>1</sup>, Nguyen Quoc Chau Thanh<sup>1</sup>, Nguyen Trong Tuan<sup>1</sup>, Tran Hoang Ai<sup>2</sup> and Dang Huynh Giao<sup>1\*</sup>

**Affiliation(s):** <sup>1</sup>Can Tho University, Viet Nam; <sup>2</sup>University of Cuu Long, Viet Nam

## TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm mục đích xây dựng một phương pháp xác định dư lượng Ivermectin, một loại thuốc chống ký sinh trùng trên nền mẫu thủy sản và sản phẩm thủy sản. Phương pháp này phục vụ nhu cầu kiểm tra, kiểm soát chất lượng sản phẩm trong chuỗi cung ứng thực phẩm. Trong nghiên cứu này, Ivermectin trong các nền mẫu tôm thẻ, cá tra và chả cá basa được chiết bằng kỹ thuật QueChERS (Quick-Easy-Cheap-Effective-Rugged-Safe) và phân tích bằng phương pháp sắc ký lỏng ghép hai lần khối phổ (LC/MS/MS). Các thông số quan trọng của phương pháp như khoảng tuyến tính, giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ), độ chọn lọc, độ lặp lại, độ tái lập và độ đúng được tiến hành khảo sát dựa trên các tiêu chí của các tổ chức trong nước và quốc tế. Kết quả cho thấy phương pháp đáp ứng các yêu cầu phân tích, kiểm soát chất lượng thủy sản và sản phẩm thủy sản với giá trị sử dụng của phương pháp được xác nhận cụ thể như sau LOD=1 µg/kg, LOQ=3 µg/kg, độ lặp lại ≤ 21%, độ tái lập ≤ 32% và giá trị độ thu hồi dao động trong khoảng 90-110%.

**Từ khóa:** Ivermectin, phân tích, sắc ký lỏng ghép khối phổ, thủy sản

## ABSTRACT

The research aims to develop a method for determining the content of Ivermectin, an anti-parasitic drug, in samples of seafood and aquatic products. This method will serve the quality control and inspection needs of the food supply chain. In this study, Ivermectin in whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*), catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) and fishcake (*Pangasius*) products were extracted using QueChERS method (Quick-Easy-Cheap-Effective-Rugged-Safe) and analyzed by Liquid Chromatography with tandem mass spectrometry (LC-MS-MS). Some important parameters such as linear range, the limit of detection (LOD), the limit of quantitation (LOQ), sensitivity, selectivity, repeatability, reproducibility, and accuracy were investigated based on the criteria standards of domestic and international organizations. The results show that the method meets the requirements of analysis and quality control of seafood and aquatic products with the use value of the method specifically confirmed as follows: LOD=1 µg/kg, LOQ=3 µg/kg, repeatability ≤ 21%, reproducibility ≤ 32% and recovery value ranges from 90-110%.

**Keywords:** Analysis, Fishery and fishery products, Ivermectin, Liquid Chromatography with tandem mass spectrometry

## 1. GIỚI THIỆU

Việt Nam có đường bờ biển dài hơn 3.260 km với 112 cửa sông, rạch. Hệ thống sông ngòi, kênh rạch đa dạng với 15 con sông có diện tích lưu vực từ 300 km<sup>2</sup> trở lên tạo điều kiện thuận lợi cho nuôi trồng thủy sản (General Statistics Office, 2022). Thủy sản và sản phẩm thủy sản là một trong những mặt hàng chủ lực mang lại giá trị kinh tế cao, tổng sản lượng thủy sản năm 2023 của Việt Nam đạt 9,269 triệu tấn, giá trị kim ngạch xuất khẩu ước đạt khoảng 9,2 tỷ USD (Chinhphu.vn, 2023). Trong quá trình chăn nuôi, để kiểm soát dịch bệnh, các hộ nuôi thủy sản đã sử dụng nhiều loại kháng sinh, thuốc phòng trừ bệnh thiếu kiểm soát và nằm ngoài danh mục cho phép, dẫn đến tình trạng dư lượng hóa chất, kháng sinh trong thủy sản và sản phẩm thủy sản bị cảnh báo liên tục. Ivermectin là một nhóm tác nhân phổ rộng có khả năng tiêu diệt nội và ngoại ký sinh trùng. Do hoạt tính diệt giun sán và diệt côn trùng mạnh bao gồm cả tác dụng chống lại tuyến trùng, bọ chét, ve, chấy và ruồi... Hoạt chất Ivermectin được dùng nhiều trong thú y và y tế, nhưng thời gian gần đây Ivermectin xuất hiện trong một số sản phẩm thủy sản đông lạnh xuất khẩu của một vài doanh nghiệp.

Ivermectin là hỗn hợp của hai hợp chất thuộc nhóm chất avermectin có tên hóa học là 22,23-dihydroavermectin B<sub>1a</sub> và 22,23-dihydroavermectin B<sub>1b</sub> (Campbell, 1989). Độ tính của Ivermectin phụ thuộc vào đường dùng, công thức sản phẩm và loài. Sau khi dùng đường uống ở người, Ivermectin gắn kết cao với protein, thể tích phân bố lớn và có thời gian bán hủy trong huyết tương 16 giờ. Nó được chuyển hóa bởi CYP3A4 ở gan thành nhiều chất chuyển hóa. Ở gia súc, thời gian bán hủy của một liều tiêm tĩnh mạch là 2,8 ngày và tăng lên 8 ngày sau khi tiêm dưới da. Ở động vật dạ dày đơn giản, sinh khả dụng qua đường uống là 95% nhưng giảm xuống còn 25–33% ở động vật nhai lại. Ivermectin được bài tiết qua sữa và dư lượng có thể tồn tại trong gan 14 ngày (Wexler et al., 2014). Trên thế giới, đã có một số nghiên cứu phân tích dư lượng Ivermectin trong thực phẩm có nguồn gốc động vật bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Kỹ thuật sắc ký lỏng ghép khối phổ cũng được áp dụng trong phân tích Ivermectin trên một số nền mẫu động vật như thịt heo và sữa của Yabu et al. (2013), bò rừng, hươu, nai sừng của Casey et al. (2017). Ngoài ra, đã có những nghiên cứu phân tích Ivermectin trên nền mẫu phi thực phẩm như phân tuần lộc của Åsbakk et al. (1999), nền mẫu thức ăn và nước dùng trong chăn nuôi của Heredero et al.

(2023), nền mẫu thuốc của Wimalasinghe et al. (2021). Tuy nhiên, đối với các mẫu thủy sản và sản phẩm thủy sản đến thời điểm hiện tại vẫn chưa được nghiên cứu. Vì thế, nghiên cứu xây dựng phương pháp phân tích dư lượng Ivermectin trên nền mẫu thủy sản và sản phẩm thủy sản là rất cần thiết về mặt khoa học lẫn ứng dụng thực tiễn. Phương pháp được xây dựng dựa trên kỹ thuật xử lý mẫu QueChERS (Quick-Easy-Cheap-Effective-Rugged-Safe) và thiết bị phân tích sắc ký lỏng ghép hai lần khối phổ (LC/MS/MS) góp phần phát triển quy trình phân tích Ivermectin trong các loại sản phẩm thủy sản với mục tiêu kiểm tra, kiểm soát tồn dư hợp chất này trong chuỗi cung ứng thực phẩm.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Thiết bị và hóa chất

Thiết bị phân tích sắc ký lỏng ghép hai lần khối phổ LC/MS/MS đầu dò Quattro micro API của hãng Waters. Cột sắc ký C18, Waters 50 mm x 2,1 mm, 1,7 μm, phần mềm ứng dụng Masslynx. Ion hóa dương ESI (+), tỉ lệ khối lượng/điện tích ion mẹ  $m/z = 892,36$  ion định lượng có  $m/z = 306,96$  ion định tính có  $m/z = 568,65$ . Năng lượng ion hóa capillary 1 kV, thế cone 15(V), collision energy lần lượt là 26 và 12 eV. Dung môi sử dụng, kênh A: acid formic 0,1% trong ammonium acetate 0,5 mM; kênh B: ammonium acetate 0,5 mM trong methanol.

Hóa chất phân tích: nước HPLC, acetonitrile (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>N, 99,9%), Formic acid (CH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, sodium chloride (NaCl, 99,5%), ammonium acetate (CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>, 98%, Merck, Đức), magnesium sulfate (MgSO<sub>4</sub>, 99,5%, Fisher Scientific, Mỹ); bột C18 99,5%, PSA 99,6% (Agilent technologies, Mỹ); Chất chuẩn Ivermectin (≥ 98%, Dr. Ehrenstorfer – LGC Standard, Đức).

### 2.2. Vật liệu nền

Mẫu nền sử dụng là tôm thẻ, cá tra, chả cá basa được thu mua ngẫu nhiên tại chợ Xuân Khánh, thành phố Cần Thơ. Mẫu tôm và chả cá basa khi đến phòng thí nghiệm được lấy ở những điểm khác nhau trong túi mẫu, bao gồm ba điểm trên, giữa và dưới sau đó xay nhuyễn để đảm bảo độ đồng nhất của mẫu. Đối với mẫu cá tra loại bỏ nội tạng, xương và da chỉ lấy phần thịt sau đó xay nhuyễn toàn bộ phần thịt thu được để phân tích.

### 2.3. Phương pháp tiến hành

#### 2.3.1. Chuẩn bị mẫu

Mẫu tôm, cá chỉ lấy phần thịt và mẫu chả cá với khối lượng 100 g cho mỗi mẫu được xay nhuyễn

bằng máy xay thịt hiệu Philips với tốc độ 1500 vòng/phút, trong 3 phút.

2.3.2. Pha chế hóa chất

Chuẩn Ivermectin được cân chính xác 0,01 g để cho vào bình định mức 10 mL, hòa tan bằng 5 mL acetonitrile (ACN), đậy nắp, đánh siêu âm đến khi chuẩn tan hoàn toàn để nguội.

Dung dịch Ivermectin nguội được định mức đến vạch bằng acetonitrile, thu được dung dịch chuẩn Ivermectin có nồng độ 1000 mg/L (nồng độ chính xác của chuẩn gốc được tính lại theo từng khối lượng cân và đặc tính kỹ thuật của từng chuẩn), lưu trữ ở nhiệt độ -18 – 0°C.

Chuẩn làm việc 1 mg/L được pha từ dung dịch chuẩn Ivermectin có nồng độ 1000 mg/L bằng việc hút 10 µL cho vào bình định mức 10 mL, định mức đến vạch bằng acetonitrile, lưu trữ ở nhiệt độ -18 – 0°C.

Pha động A: Dung dịch 0,5 mM ammonium acetate; 0,1% acid fomic trong nước; cân 0,0385 g ammonium acetate cho vào bình định mức 1000 mL hòa tan với nước tiếp tục cho 100 µL acid fomic vào và định mức tới vạch bằng nước. Dung dịch được bảo quản trong chai thủy tinh và lưu ở nhiệt độ phòng.

Pha động B: Methanol (MeOH) 0,5 mM ammonium acetate; cân 0,0385 g ammonium acetate cho vào bình định mức 1000 mL hòa tan với methanol và định mức đến vạch, bảo quản trong chai thủy tinh và lưu ở nhiệt độ phòng.

2.3.3. Tiến hành xử lý mẫu

Mẫu được cân  $5,0 \pm 0,1$  g cho vào ống ly tâm nhựa có nắp 50 mL, thêm vào 5 mL nước dùng cho HPLC và 10 mL ACN lắc 15 phút. Thêm tiếp 4 g MgSO<sub>4</sub> và 1 g NaCl, vortex 5 phút. Ly tâm mẫu ở tốc độ 4000 vòng/phút trong 3 phút tại nhiệt độ phòng.

Làm sạch mẫu: Lấy dung dịch sau ly tâm cho vào ống nghiệm 15 mL có chứa khoảng 2 g MgSO<sub>4</sub> vortex 5 phút. Ly tâm 3000 vòng/phút trong 3 phút ở nhiệt độ phòng.

Hút 5 mL dung dịch phía trên sau ly tâm cho vào ống thủy tinh thổi khô dưới dòng khí N<sub>2</sub> với nhiệt độ khoảng 50°C. Hòa tan cạn khô với 0,5 mL MeOH: ammonium acetate 0,5 mM. Chuyển dịch lọc vào eppendorf chứa 0,03 g C18 và 0,02 g Primary Secondary Amine (PSA), ly tâm và lọc qua màng lọc nylon 0,22 µm vào eppendorf.

2.3.4. Điều kiện LC/MS/MS

Điều kiện cho LC

Nhiệt độ cột: 40°C.

Pha động: 0,5 mM ammonium acetate: 0,1% formic acid trong nước (A), 0,5 mM ammonium acetate trong methanol (B). Tốc độ dòng: 0,2 mL/phút. Thể tích tiêm: 10 µL. Thời gian phân tích mẫu: 6 phút.

**Bảng 1. Chương trình gradient dòng**

Thời gian (phút)	B (%)	A (%)
0,2	10	90
1,7	10	90
3,2	90	10
3,3	90	10
6,5	10	90

Điều kiện cho đầu dò khối phổ

Kiểu ion hóa: ESI (+). Capillary: 1kV. Desolvation Temp: 320°C. Desolvation: 650 L/H. Cone: 15 V

**Bảng 2. Điều kiện phân mảnh**

Chỉ tiêu	Ion mẹ (m/z)	Ion con (m/z)	Năng lượng va chạm (V)
Ivermectin	892,36	306,96 <sup>(*)</sup> 568,65	26 12

Ghi chú: <sup>(\*)</sup>ion định lượng

2.3.5. Xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp

Khoảng tuyến tính: Mẫu thêm chuẩn với nồng độ 3; 10; 15; 20; 25 µg/kg được phân tích và đánh giá thông qua độ tuyến tính và độ lệch chuẩn.

Giới hạn phát hiện (LOD): sử dụng độ lệch chuẩn của mẫu thêm chuẩn tại nồng độ 3,0 µg/kg với 10 lần lặp lại để xác định LOD lý thuyết. Phân tích lặp lại 10 lần mỗi nền mẫu thêm chuẩn nồng độ là LOD được lựa chọn để khảo sát, đánh giá khả năng phát hiện Ivermectin dư trên tỉ lệ signal/noise (S/N), tỉ lệ ion, độ lệch thời gian lưu (RT).

Giới hạn định lượng (LOQ): Sau khi xác nhận giá trị sử dụng LOD tiến hành tính toán xác định LOQ thông qua LOD với công thức LOQ= 3LOD. Sau đó, xác nhận LOQ bằng các đánh giá tín hiệu nhận dạng và độ chính xác (độ chụm, độ thu hồi).

Độ chọn lọc: Khảo sát lặp lại 10 lần mẫu trắng, xem xét độ nhiễu nền của mẫu.

**Độ lặp lại:** Tính toán độ lệch chuẩn (S) và độ lệch chuẩn tương đối (% RSD) thông qua việc phân tích 10 mẫu tại nồng độ 3,0 µg/kg.

**Độ tái lập:** Phân tích lặp lại 20 mẫu thêm chuẩn tại mức nồng độ 3,0 µg/kg mỗi ngày 10 mẫu, trong điều kiện tái lập nội bộ phòng thí nghiệm. Tính toán độ lệch chuẩn (S) và độ lệch chuẩn tương đối (% RSD).

### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Khoảng tuyến tính

Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính gồm các điểm chuẩn 3; 10; 15; 20; 25 µg/kg qua hai ngày, hệ số hồi quy lần lượt là 0,9947; 0,9944 (Bảng 3).

**Bảng 3. Độ lệch các điểm chuẩn**

Mẫu	Ngày 1	Ngày 2
<b>R<sup>2</sup></b>	<b>0,9947</b>	<b>0,9944</b>
3 µg/kg	5,00 %	3,67 %
10 µg/kg	4,50 %	6,80 %
15 µg/kg	5,87 %	0,00 %
20 µg/kg	3,65 %	4,95 %
25 µg/kg	1,76 %	1,68 %

Đánh giá độ lệch của các điểm chuẩn kết quả cho thấy nồng độ các điểm chuẩn đáp ứng được các yêu cầu bao gồm R<sup>2</sup> ≥ 0,99, độ lệch điểm chuẩn tại giá trị định lượng ≤ 6%, các điểm chuẩn còn lại chênh lệch không quá 7%. Khảo sát cho thấy giá trị hồi quy tuyệt tính, khoảng tuyến tính của phương pháp rộng thể hiện nồng độ điểm chuẩn được lựa chọn phù hợp.

#### 3.2. Giới hạn phát hiện (LOD)

Mẫu thêm chuẩn ở nồng độ 3 µg/kg được khảo sát lặp lại 10 lần để xác định giá trị phát hiện lý thuyết, số liệu được thể hiện ở Bảng 4.

**Bảng 4. Kết quả khảo sát các nền mẫu tôm, cá tra, chà cá basa tại nồng độ 3 µg/kg (n = 10)**

Nền Mẫu	R	Nồng độ trung bình	LOD Lý Thuyết
Tôm	10,64	3,06±0,03	0,29
Cá Tra	8,45	2,88±0,04	0,34
Chà cá Basa	8,21	2,89±0,04	0,34

Kết quả sau khi khảo sát cho thấy giá trị giới hạn phát hiện (LOD lý thuyết) của Ivermectin trên nền mẫu tôm, cá tra và chà cá basa lần lượt là 0,29 µg/kg, 0,34 µg/kg, 0,34 µg/kg. LOD được chọn cho các nền mẫu vừa nêu là 1,0 µg/kg để xác nhận giá trị sử dụng.

Liên Minh Châu Âu qui định các tiêu chí xác nhận một chất (The European Commission, 2021) bao gồm:

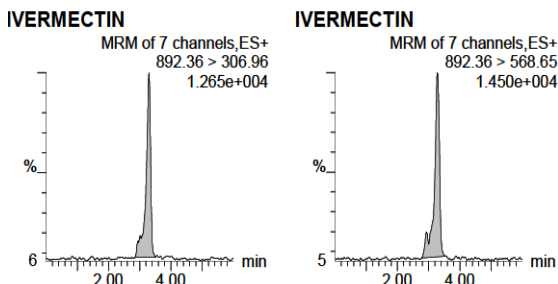
- Tỷ lệ S/N ≥ 3.
- So với chuẩn tỉ lệ ion được phép dao động ± 40 %.
- Độ lệch thời gian lưu cho phép ± 1% so với thời gian chuẩn.

**Bảng 5. Kết quả xác nhận giá trị của LOD với 10 lần lặp lại trên các nền mẫu tôm, cá tra, chà cá basa tại nồng độ 1µg/kg**

Nền Mẫu	RT	Tỉ lệ ion	S/N
Tôm	3,26-3,33	0,68-0,88	30-174
Cá tra	3,27-3,33	0,72-0,85	66-171
Chà cá basa	3,26-3,33	0,75-0,88	42-226

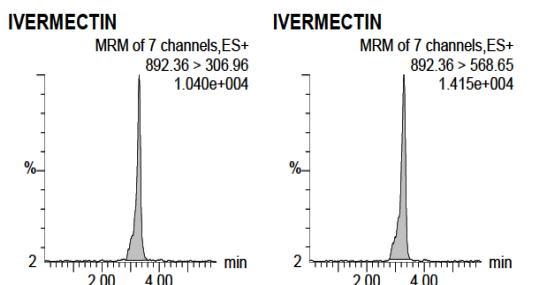
Khảo sát thực nghiệm và đánh giá cho thấy mẫu được thêm chuẩn tại 1 µg/kg đều đạt, phương pháp phát hiện chính xác. Tín hiệu phát hiện rõ, chiều cao peak thể hiện rõ ràng, dễ nhận thấy thể hiện qua tỉ lệ ion (S/N) lớn đủ điều kiện đáp ứng các qui định trên, hình ảnh peak trên sắc ký đồ phát hiện rõ (Hình 1 - 3). Các mẫu có thời gian lưu lệch nhau nhỏ và nằm trong khoảng cho phép của phương pháp.

Name: 080324- IVER- LOD- 06



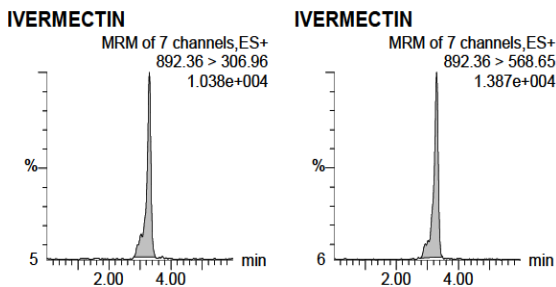
**Hình 1. Sắc ký đồ mẫu thêm chuẩn 1 µg/kg nền tôm**

Name: 080324- IVER- LOD- 17



**Hình 2. Sắc ký đồ mẫu thêm chuẩn 1 µg/kg nền cá tra**

Name: 080324- IVER- LOD- 21



**Hình 3. Sắc ký đồ mẫu thêm chuẩn 1 µg/kg nền chả cá basa**

Tại giá trị nồng độ 1 µg/kg, kết quả phân tích đã cho thấy phương pháp đáp ứng đầy đủ các tiêu chí về nhận diện một chất trong kỹ thuật sắc ký lỏng ghép khối phổ. Giá trị LOD khảo sát đáp ứng đầy đủ yêu cầu của các cơ quan quản lý về mục đích phân tích dư lượng Ivermectin trong thủy sản và sản phẩm thủy sản.

**3.3. Giới hạn định lượng (LOQ)**

Kết quả phân tích của phương pháp sau khi xem xét các yếu tố định danh được đánh giá về độ chính xác bao gồm độ thu hồi và độ lệch chuẩn tương đối của các mẫu thêm chuẩn thể hiện độ chính xác của kết quả. Theo hướng dẫn của The Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2016) về xác định giá trị LOQ trong khoảng nồng độ <7 µg/kg là  $RSD_R \leq 8\%$  và độ thu hồi R kỳ vọng của chất phân tích trong khoảng nồng độ 1-10 µg/kg là 60-115%. Số liệu cho thấy tại nồng độ 3 µg/kg, phương pháp định lượng tốt, độ chính xác phù hợp với hướng dẫn và đáp ứng yêu cầu của Liên minh Châu Âu về phương pháp phân tích dư lượng các hoạt chất được lý được sử dụng trong động vật sản xuất thực phẩm  $RSD_R \leq 30\%$ , R (70-120%) trên cả ba nền mẫu (The European Commission, 2021).

**Bảng 6. Kết quả khảo sát các thông số đánh giá LOQ trên nền tôm nguyên liệu, cá tra, chả cá basa (n = 10)**

Thông số	Tôm	Cá tra	Chả cá basa
$RSD_R$	3,13	3,94	3,91
R	96,2-107,8	90,7-103,5	92,1-102,7

Ghi chú: Đơn vị (%).

Ivermectin là chất hạn chế sử dụng trong chăn nuôi tồn dư cho phép trong thực phẩm có nguồn gốc động vật dao động từ 30 đến 100 µg/kg theo quy định của Liên Minh Châu Âu (The European Commission, 2014).

Giới hạn định lượng của phương pháp được xác nhận tại giá trị 3 µg/kg là phù hợp với mục đích phân tích dư lượng có trong thủy sản dùng làm thực phẩm trong nước và xuất khẩu.

**3.4. Độ nhạy**

Kết quả phân tích tại nồng độ 1 µg/kg là giá trị LOD lặp lại 10 lần, trên mỗi nền mẫu đều phát hiện đúng. Kết quả thực nghiệm trình bày trong mục đánh giá LOD cho thấy phương pháp có độ nhạy đạt 100 % tại giới hạn phát hiện Bảng 5.

Kết quả này cho thấy độ nhạy của phương pháp cao, những mẫu dương tính phương pháp đều cho ra kết quả đúng.

**3.5. Độ chọn lọc**

Độ chọn lọc đánh giá thông qua kết quả khảo sát mẫu trắng cho thấy phát hiện đúng mẫu âm tính trong các mẫu phân tích. Qua khảo sát một loạt 10 mẫu trắng trên 3 nền mẫu tôm nguyên liệu, cá tra, chả cá basa tất cả đều không phát hiện chất phân tích cho thấy rằng độ chọn lọc phương pháp tốt.

**3.6. Độ chính xác của phương pháp (độ chụm và độ đúng)**

Phân tích 10 mẫu thêm chuẩn tại nồng độ 3 µg/kg trong 2 ngày liên tục/nền mẫu. Kết quả phân tích được dùng để tính toán độ lặp lại, độ tái lập (độ chụm) và độ đúng (độ thu hồi).

**Bảng 7. Kết quả khảo sát độ chính xác tại nồng độ 3 µg/kg trên các nền mẫu tôm, cá tra, chả cá basa thêm chuẩn**

Mẫu	Tôm	Cá tra	Chả cá basa
$RSD_{R1}$	3,13	3,94	3,91
$R_1$	96,2-107,8	90,7-103,5	92,1-102,7
$RSD_{R2}$	3,79	3,49	4,15
$R_2$	92,9-107,5	98,1-108,2	93,7-106,6
$RSD_R$	3,42	4,87	4,16
R	92,9-107,8	90,7-108,2	92,1-106,6

Ghi chú: Đơn vị (%)

Đánh giá kết quả khảo sát cho thấy độ lặp lại trên các nền mẫu đều phù hợp với AOAC (2016),  $RSD_R \leq 21\%$ . Giá trị độ lặp lại có xu hướng tăng theo thứ tự mẫu tôm, cá tra, chả basa kết quả này có thể được giải thích là do độ phức tạp của các thành phần đa lượng hiện diện trong mẫu gây nên.

Độ tái lập của phương pháp trên 3 nền mẫu đều tốt, kết quả độ lệch chuẩn tương đối của 2 ngày khảo sát đại diện cho độ tái lập cho thấy phương pháp có tính ổn định khi phân tích. Thể hiện ở kết quả  $RSD_R$  của 2 ngày phân tích trên 3 nền mẫu đều nhỏ hơn

5%, rất tốt so với hướng dẫn của AOAC (2016) là  $\leq 32\%$ .

Độ đúng phản ánh mức độ chênh lệch giữa giá trị thực và giá trị phân tích được, biểu hiện thông qua độ thu hồi của phương pháp. Kết quả dữ liệu phân tích thu được cho thấy giá trị độ thu hồi của nền mẫu cá tra có dao động lớn nhất 90,7-108,2%. Tuy nhiên, độ thu hồi của cả 3 nền mẫu đều dao động trong khoảng 60-115 % phù hợp với hướng dẫn của AOAC (2016).

#### 4. KẾT LUẬN

Phương pháp phân tích Ivermectin trên nền mẫu thủy sản và sản phẩm thủy sản qua khảo sát cho thấy

giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng đáp ứng tốt các nhu cầu phân tích, kiểm soát hiện tại ở các thị trường trong và ngoài nước. Phương pháp phân tích Ivermectin được xây dựng phù hợp với những hướng dẫn của AOAC (2016) trong xác nhận giá trị sử dụng phương pháp. Độ chụm của phương pháp thu được tốt thể hiện qua độ lặp lại và độ tái lập đều cao hơn giá trị kỳ vọng theo hướng dẫn của AOAC (2016). Độ thu hồi trên các mẫu thêm chuẩn trong khoảng từ 90 đến 110 %. Số lượng mẫu thống kê đáp ứng các quy định xác nhận phương pháp hiện hành, các thông số đều được khảo sát chi tiết, cẩn thận. Các nền mẫu khảo sát được lấy ngẫu nhiên đảm bảo tính đại diện.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO (REFERENCES)

- AOAC. (2016). *Guidelines for Standard Method Performance Requirements*.
- Åsbakk, K., Bendiksen, H. R., & Oksanen, A. (1999). Ivermectin in reindeer feces: determination by HPLC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(3), 999–1003. <https://doi.org/10.1021/JF980919Q>
- Herederer, C. A. M., Segato, G., Menotta, S., Faggionato, E., Vismarra, A., Genchi, M., & Bertini, S. (2023). A New Method for Ivermectin Detection and Quantification through HPLC in Organic Matter (Feed, Soil, and Water). *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. <https://doi.org/10.1155/2023/6924263>
- Casey, C. R., Andersen, W. C., Lanier, S., Nickel, T. J., Murphy, L., & Ayres, P. (2017). *Analysis of Avermectin Residues in Game Meats (Bison, Deer, Elk, and Rabbit) by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) (CARTS No. IR01040 LIB 2 of 3)*.
- Chinhphu.vn. (2023). *Aquatic product output exceeds plan (in Vietnamese)*. <https://baochinhphu.vn/nam-2023-san-luong-thuy-san-vuot-so-voi-ke-hoach-102231221141638477.htm>
- Wexler, P., Abdollahi, M., Peyster, A. D., Shayne, C. G., Greim, H., Harper, S., Virginia, C. M., Ray, S., Tarazona, J., & Timothy, J. W. (2014). *Encyclopedia Of Toxicology Third Edition* (3rd ed.). Academic Press.
- The European Commission. (2014). *Commission Implementing Regulation (EU) No 418/2014 of 24 April 2014 amending the Annex to Regulation (EU) No 37/2010 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin, as regards the substance ivermectin*.
- The European Commission. (2021). *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*.
- General Statistics Office. (2022). *Promoting the development of aquaculture – General Statistics Office of Vietnam (in Vietnamese)*. <https://www.gso.gov.vn/ti-n-tuc-thong-ke/2022/10/day-manh-phat-trien-nuoi-trong-thuy-san/>
- Campbell, W. C. (1989). Ivermectin and Abamectin. In *Ivermectin and Abamectin*. Springer New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4612-3626-9>
- Wimalasinghe, R. M., Zhao, D., Wang, L., & Rustum, A. (2021). Development and Validation of a Stability-Indicating Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC) Method for Identification, Assay, and Estimation of Related Substances of Ivermectin Drug Substance. *Journal of AOAC International*, 104(6), 1505–1513. <https://doi.org/10.1093/JAOACINT/QSAB088>
- Yabu, M., Summers, M., & Young, M. S. (2013). *QuEChERS Sample Preparation for LC-MS/MS Determination of Avermectins in Meat and Milk*.