

# Nghiên cứu định lượng clenbuterol tồn dư trong thịt gà bằng phương pháp *LC – MS/MS*

Nguyễn Thị Hồng Vân<sup>1</sup>, Kiều Thị Thành<sup>1</sup>,  
Chữ Văn Mên<sup>1</sup>, Lê Thị Hương Hoa<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Học viện Quân Y

<sup>2</sup>Trường Đại học Hòa Bình

## Summary

A method using ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry was developed for determination of banned Clenbuterol (CLE) substance in the chicken. The CLE was separated from chicken by SPE technique and was dissolved in the mobile phase. The LC - MS/MS method with the chromatographic conditions as follows: A new column ACQUITY UPLC® BEH C<sub>18</sub> (2.1 x 50 mm, 1.7 μm) packed with octylsilyl silica gel for chromatography was used as stationary phase, temperature of column was 30 °C, a mixture of 95 volumes of acetonitrile and 5 volumes of 0.1% formic acid solution was used as the mobile phase with a flow rate of 0.2 ml per minute, using a tandem quadrupole mass detector, injection volume was 2 μl. The experimental results proved that the assay was linear over the concentration from 0.1 ng/ml to 10 ng/ml. The LLOQ was 0.1 ng/ml. The intra - day and inter - day accuracy were within 85.86% - 112.97%. The method can be use for assay Clenbuterol in the chicken preparation

**Keywords:** Clenbuterol, residue hormone, assay, LC-MS/MS.

## Đặt vấn đề

Trong y học trước đây, clenbuterol (CLE) là một chất thuộc nhóm β-agonist (hình 1), được sử dụng như thuốc giãn phế quản, điều trị hen suyễn hoặc bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính nhờ tác dụng làm cho người bệnh thở dễ dàng hơn [2]. Clenbuterol thường được dùng với tên biệt dược là Broncodil, Clenburol, Ventolax, Protoven... Ngoài ra, trong chăn nuôi clenbuterol được trộn vào thức ăn cho gia súc, gia cầm do tác dụng làm tăng tạo nạc và giảm mỡ, cải thiện đáng kể trọng lượng của vật nuôi [6].

Theo nhiều nghiên cứu, các loại chất này gây hại cho gia súc và cả cho người nếu ăn phải thịt vật nuôi bằng loại thức ăn có trộn các loại chất trên, vì các hóa chất thuộc nhóm β-agonist thường là những chất kích thích mạnh, làm suy nhược chức năng gan [2]. Người ăn thịt vật nuôi có tồn dư clenbuterol có thể bị ngộ độc cấp

với những triệu chứng như: Rối loạn nhịp tim, co thắt phế quản, phù nề, liệt cơ, tăng huyết áp, rối loạn trao đổi chất [2]... thêm vào đó nếu sử dụng lâu dài có nguy cơ gây ra tăng tỷ lệ quái thai, mắc ung thư [3]... Tại Mỹ, Châu Âu và Trung Quốc, những loại hóa chất trên đã bị cấm sử dụng từ những năm 80-90 của thế kỷ trước [3]. Ở Việt Nam, các chất thuộc nhóm β-agonist trong đó có clenbuterol được xếp vào danh mục 18 hóa chất bị cấm của Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn (Quyết định số 54 ngày 20 tháng 06 năm 2002 của Bộ NN & PTNT) [1]. Tuy nhiên trên thực tế vẫn còn một số hộ chăn nuôi vẫn sử dụng chất clenbuterol để kích thích tăng trọng nhằm thu lợi nhuận bất chính.

Việc xác định dư lượng của clenbuterol và các chất β-agonist, trước đây thường được dùng bằng các xét nghiệm miễn dịch với độ chính xác chưa cao. Hiện nay, sắc ký lỏng khối phổ (*LC-MS/MS*) được đánh giá là phương pháp có độ nhạy cao, phân tích nhanh, chính xác đang được ứng dụng nhiều trong phân tích, định lượng các chất trong dịch sinh học [5, 8]. Sau đây, chúng tôi xin thông báo kết quả nghiên cứu xây dựng phương pháp định lượng clenbuterol trong thịt gà bằng phương pháp *LC-MS/MS*.

---

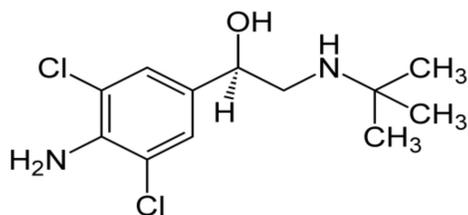
Chịu trách nhiệm: Lê Thị Hương Hoa

Email: lthhoa@daihochoabinh.edu.vn

Ngày nhận: 31/3/2021

Ngày phân biện: 4/5/2021

Ngày duyệt bài: 24/5/2021



Hình 1. Công thức hóa học của clenbuterol

## Nguyên liệu và phương pháp

### Chất đối chiếu

Clenbuterol của Sigma-Aldrich, Mỹ; lô: 21898-19-1, hàm lượng: 98,0%.

### Dung môi, hóa chất

Acetonitril, methanol, acid phosphoric, amoni hydroxyd, dikali hydrophosphat ( $K_2HPO_4$ ) đạt tiêu chuẩn tinh khiết dùng cho phân tích hoặc sắc ký.

### Trang thiết bị

Máy sắc ký lỏng ACQUITY UPLC H-Class's Quaternary Solvent Manager, khối phổ: Xevo TQD Waters, cân kỹ thuật độ chính xác 0,01 g, cân phân tích Mettler Toledo độ chính xác 0,01 mg; máy ly tâm; máy đo pH Metrohm 780 (Thụy Sĩ), máy lắc vortex, micropipet, cột chiết SPE MCX, dụng cụ thủy tinh cần thiết (bình định mức, pipet, ống đong, phễu lọc...).

### Phương pháp nghiên cứu

#### Khảo sát điều kiện xử lý mẫu

**Mẫu trắng:** Mẫu thịt gà được lấy tại Ban Cung cấp Động vật của Học viện Quân Y, không chứa chất clenbuterol.

**Mẫu chuẩn:** Cân chất chuẩn và pha trong methanol. Sau đó thêm dịch chiết từ mẫu trắng để được các dung dịch chuẩn trong nền mẫu.

**Mẫu tự tạo:** Thêm chất chuẩn clenbuterol vào mẫu thịt gà đã xay nhuyễn.

**Mẫu kiểm tra QC - quality control sample:** Chuẩn bị độc lập với mẫu chuẩn.

**Phương pháp xử lý mẫu:** Khảo sát, lựa chọn phương pháp xử lý mẫu phù hợp để chiết được tối đa hoạt chất và loại được các tạp chất.

#### Khảo sát các điều kiện sắc ký, khối phổ

Sử dụng hệ thống sắc ký khối phổ **UPLC - MS/MS** loại tứ cực chập 3 với nguồn ion hóa kiểu **ESI**. Chọn chế độ khảo sát tự động để chọn ion mẹ, ion con dùng để định tính, định lượng. Các thông số **MS/MS** được tự động tối ưu bằng chế độ MS tune của thiết bị.

#### Thẩm định, đánh giá phương pháp

Theo các chỉ tiêu quy định trong USP hiện hành và các quy định về thẩm định phương pháp phân tích trong dịch sinh học: Độ đặc hiệu - chọn lọc, độ đúng, độ chính xác, khoảng tuyến tính, giới hạn định lượng (LOQ), giới hạn phát hiện (LOD); giới hạn định lượng dưới (LLOQ), giới hạn định lượng trên (ULOQ).

### Kết quả nghiên cứu

#### Khảo sát điều kiện sắc ký

##### Lựa chọn cột sắc ký

Khảo sát phân tích mẫu trên 2 loại cột (ACQUITY UPLC<sup>®</sup> HSS C<sub>18</sub> (1,8 μm; 2,1 x 30 mm) và ACQUITY UPLC<sup>®</sup> BEH C<sub>18</sub> (1,7 μm; 2,1 x 50 mm)), đã lựa chọn được cột ACQUITY UPLC<sup>®</sup> BEH C<sub>18</sub> (1,7 μm; 2,1 x 50 mm) làm cột phân tích.

##### Lựa chọn pha động

Khảo sát trên hệ pha động gồm dung dịch acid formic 0,1% trong nước và acetonitril ở các tỷ lệ 95 : 5 và 90 : 10. Ở tỷ lệ 95 : 5 cho khả năng tách tốt, pic gọn, cân đối và thời gian lưu phù hợp. Do đó lựa chọn tỷ lệ này để tiếp tục khảo sát những bước tiếp theo.

##### Điều kiện phân tích sắc ký

Hệ thống sắc ký lỏng: ACQUITY UPLC H-Class's Quaternary Solvent Manager, khối phổ: Xevo TQD Waters. Cột sắc ký Acquity UPLC<sup>®</sup> BEH (2,1 x 50 mm, 1,7 μm); Nhiệt độ cột: 30 °C. Pha động: Acetonitril – Dung dịch acid formic 0,1% (95 : 5); tốc độ dòng: 0,2 ml/phút. Thể tích tiêm: 2 μl.

##### Điều kiện phân tích khối phổ

Bảng 1. Các thông số của detector khối phổ để định lượng clenbuterol

Thông số	Các giá trị
Chế độ ion hóa	ESI (+)
Capillary voltage (kV)	1,5
Cone voltage (V)	24
Desolvation temperature (°C)	360
Desolvation gas (L/H)	800
Cone gas (L/H)	25
Collision energy (V)	58
Mảnh ion mẹ (Parent ion, m/z Dalton)	277,06
(Mảnh in con (Product ion, m/z Dalton)	167,97

## Phương pháp chuẩn bị mẫu

### Mẫu trắng

Là mẫu dịch chiết từ thịt gà theo quy trình chiết mẫu thử.

### Mẫu chuẩn

Các mẫu chuẩn được chuẩn bị bằng cách thêm chuẩn vào nền mẫu. Từ dung dịch chuẩn gốc 100 mcg/ml, pha thành các dung dịch chuẩn trung gian có nồng độ 1000 ng/ml và 10 ng/ml. Sau đó, chuẩn bị 7 dung dịch chuẩn trong methanol có nồng độ từ 0,1 - 7 ng/ml.

Chuẩn bị các mẫu đường chuẩn trong dịch chiết bằng cách phối hợp các dung dịch chuẩn trong methanol tương ứng với nền mẫu trắng.

### Mẫu kiểm tra (QC)

Hòa tan chất chuẩn CLE trong methanol để thu được dung dịch chuẩn gốc có nồng độ CLE chính xác khoảng 100 µg/mL (QC-W). Chuẩn bị độc lập với mẫu chuẩn. Pha loãng với methanol thành chuẩn kiểm tra làm việc QC (cách pha tương tự pha mẫu chuẩn). Từ đó, pha với dịch chiết để tạo thành chuẩn LQC (giới hạn định lượng) = 3 LLOQ; MQC gần với nồng độ giữa trong dãy chuẩn; HQC (ở nồng độ cao trong dãy chuẩn) = 60 – 80 % ULOQ.

### Mẫu thử

Cân 1 g thịt gà đã xay nhuyễn cho vào ống ly tâm 50 ml. Thêm 10 ml dung dịch K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,1 M, lắc vortex 10 phút. Ly tâm 15 phút ở tốc độ 4000 vòng/phút. Lấy 5 ml dịch chiết (sau ly tâm) cho qua cột SPE MCX (Cột SPE MCX đã được hoạt hóa bằng 5 ml MeOH, 5 ml nước cất, sau đó cho 5 ml đệm chiết mẫu K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,1 M). Tải mẫu lên cột, tốc độ 1 ml/phút. (Không để khô cột giai đoạn cho mẫu lên cột và rửa cột). Rửa bằng 4 ml nước, rửa tiếp bằng 4 ml MeOH. Rửa giải bằng 4 ml dung dịch NH<sub>4</sub>OH 5% trong MeOH.

Lấy dung dịch rửa giải, thổi khô bằng khí nitơ ở 40°C. Hòa tan cần khô bằng 1 ml hỗn hợp của acetonitril và acid formic (95 : 5), lắc bằng máy vortex và lọc qua màng lọc 0,45 µm, được dung dịch để tiêm sắc ký.

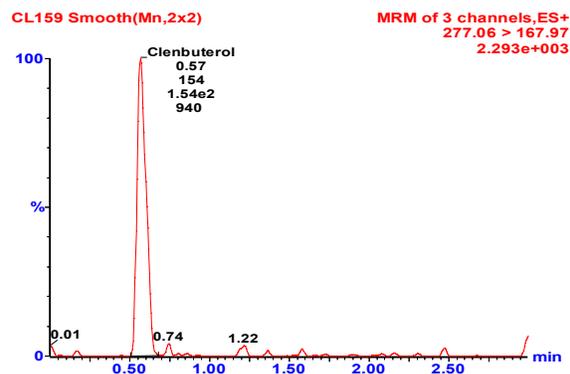
### Thẩm định phương pháp

#### Tính tương thích của hệ thống

Phân tích sắc ký lặp lại 6 lần mẫu tự tạo ở nồng độ LOQ (0,3 ng/ml), ghi lại sắc ký đồ, đáp ứng pic của 6 lần phân tích. Kết quả được nêu ra ở bảng 2 và hình 2.

Bảng 2. Sự phù hợp của hệ thống sắc ký

STT	CLE	
	t <sub>R</sub>	Đáp ứng
1	0,57	146,03
2	0,56	149,21
3	0,57	154,01
4	0,56	146,11
5	0,56	139,61
6	0,56	137,36
<b>TB</b>	0,56	145,18
<b>CV (%)</b>	0,91	4,21



Hình 2. Sắc ký đồ mẫu kiểm tra sự tương thích của hệ thống sắc ký

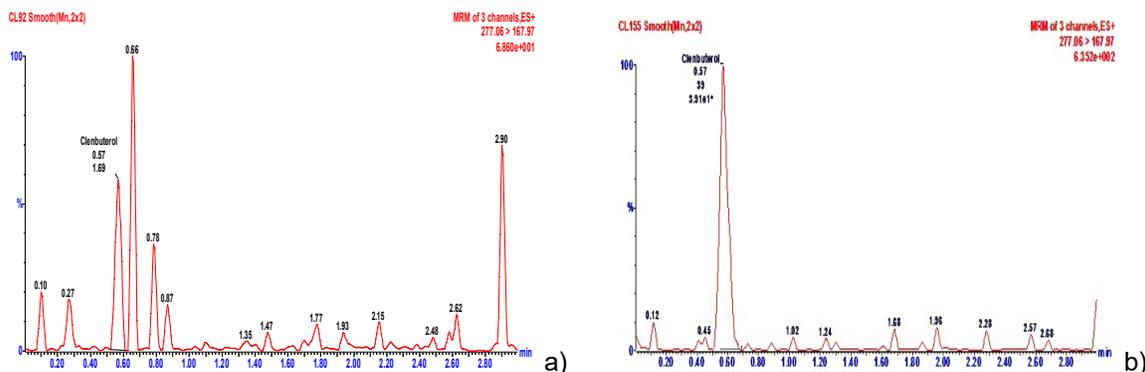
Ta thấy: Độ lệch của thời gian lưu của clenbuterol là 0,91 % (< 2%); của diện tích pic là 4,21% (< 5%), đạt yêu cầu. Như vậy, phương pháp là phù hợp với hệ thống sắc ký đã chọn.

#### Độ chọn lọc - đặc hiệu

Phân tích các mẫu trắng với ít nhất 6 mẫu có nguồn gốc khác nhau đồng thời với mẫu tự tạo có pha chuẩn CLE ở nồng độ LLOQ (≈ 0,1 ng/ml). Kết quả được trình bày ở bảng 3 và hình 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của mẫu trắng tại thời điểm trùng thời gian lưu của CLE

STT	Đáp ứng mẫu trắng	Đáp ứng mẫu ở LLOQ	Tỷ lệ % đáp ứng mẫu trắng/mẫu LLOQ
1	4,59	36,82	12,45
2	3,31	36,59	9,03
3	7,26	36,73	19,76
4	2,70	38,13	7,08
5	6,89	39,07	17,64
6	1,69	34,12	4,95
<b>Kết luận</b>			Đạt (< 20%)



Hình 3. Sắc ký đồ các mẫu: a) mẫu trắng ; b) mẫu thêm chuẩn CLE nồng độ ở LLOQ.

Trên sắc ký đồ, pic của CLE được nhận diện rõ ràng, tách hoàn toàn khỏi pic tạp chất có trong mẫu, tại thời điểm 0,57 phút (trùng với thời gian lưu của CLE): Tỷ lệ đáp ứng của mẫu trắng so với mẫu có CLE tại nồng độ LLOQ đều nhỏ hơn 20%, đạt yêu cầu. Phương pháp đạt yêu cầu về độ chọn lọc, đặc hiệu.

#### Đường chuẩn và khoảng tuyến tính

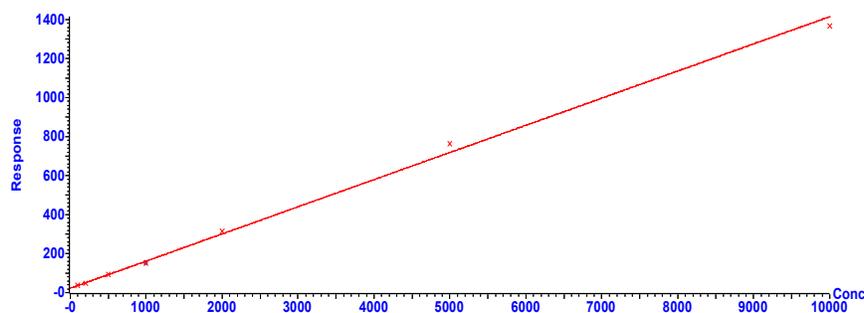
Phân tích các mẫu chuẩn CLE trong mẫu thịt gà có nồng độ 0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0 ng/ml theo quy trình đã xây dựng. Xác định sự tương quan giữa nồng độ clenbuterol trong dịch chiết và đáp ứng đo được bằng phương pháp hồi quy tuyến tính. Kết quả được trình bày trong bảng 4 và hình 4.

Bảng 4. Sự tương quan giữa nồng độ và diện tích pic clenbuterol trong mẫu thịt gà

Tên mẫu	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
Nồng độ thực (ng/mL)	0,098	0,196	0,49	0,98	1,96	4,9	9,8
Diện tích pic	37,18	48,66	93,21	153,52	314,07	763,16	1365,80
Phương trình hồi quy ( $y = ax+b$ )	$y = 0,139182 x + 22,7104$						
Nồng độ xác định từ đường chuẩn	0,10	0,19	0,51	0,94	2,09	5,32	9,65
Nồng độ xác định từ đường chuẩn so với giá trị thực (%)	106,05	95,11	103,37	95,91	106,80	108,57	98,47

(\* y: đáp ứng pic clenbuterol; x: nồng độ clenbuterol)

Compound name: Clenbuterol  
 Correlation coefficient:  $r = 0.998710$ ,  $r^2 = 0.997421$   
 Calibration curve:  $0.139182 \cdot x + 22.7104$   
 Response type: External Std, Area  
 Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



Hình 4. Đường chuẩn của clenbuterol

Kết quả thẩm định cho thấy trong khoảng nồng độ từ 0,1 - 10 ng/ml, có sự tương quan tuyến tính giữa nồng độ CLE và diện tích pic thu được với  $r > 0,998$ . Nồng độ CLE tính lại theo đường chuẩn so với giá trị lý thuyết nằm trong khoảng 95,11% - 106,80% đều nằm trong khoảng giới hạn cho phép là 85% - 115% và 80% - 120% đối với điểm LLOQ, đáp ứng quy định của phương pháp phân tích thuốc trong dịch sinh học <sup>[5, 8]</sup>.

#### **Xác định độ đúng, độ lặp lại của phương pháp**

Thẩm định độ đúng và độ lặp lại trên 4 loại mẫu: LLOQ, LQC, MQC và HQC chứa CLE có nồng độ tương ứng là 0,1 ng/ml; 0,3 ng/ml; 1,5 ng/ml và 8,0 ng/ml. Kết quả được trình bày ở bảng 6 cho thấy các giá trị của độ đúng, độ lặp lại thu được trong ngày và các ngày khác nhau (I, II, III) đều cao (85,86% - 112,97%), CV% đều nhỏ hơn < 15%, đạt yêu cầu, phù hợp với phương pháp phân tích thuốc trong dịch sinh học <sup>[5, 8]</sup>.

**Bảng 5. Kết quả khảo sát độ đúng, độ lặp lại trong ngày và khác ngày**

Ngày	Mẫu LLOQ ( $\approx 0,1$ ng/ml)		LQC ( $\approx 0,3$ ng/ml)		MQC ( $\approx 1,5$ ng/ml)		HQC ( $\approx 8,0$ ng/ml)		
	Nồng độ ( <sup>a</sup> ) (ng/mL)	Độ đúng ( <sup>b</sup> ) (%)	Nồng độ ( <sup>a</sup> ) (ng/mL)	Độ đúng ( <sup>b</sup> ) (%)	Nồng độ ( <sup>a</sup> ) (ng/mL)	Độ đúng ( <sup>b</sup> ) (%)	Nồng độ ( <sup>a</sup> ) (ng/mL)	Độ đúng ( <sup>b</sup> ) (%)	
I	1	0,10	106,23	0,27	91,77	1,44	98,00	7,64	97,41
	2	0,09	96,04	0,31	108,21	1,60	108,96	7,01	89,44
	3	0,10	98,31	0,28	97,71	1,63	111,20	7,81	99,64
	4	0,09	95,82	0,31	108,61	1,26	85,86	8,36	106,58
	5	0,11	112,17	0,29	100,83	1,28	86,97	8,49	108,23
	6	0,11	108,72	0,28	97,61	1,37	93,49	8,72	111,27
	TB		102,88		100,79		97,41		100,05
	CV (%)		6,86		6,54		11,07		8,12
II	1	0,10	105,94	0,28	96,23	1,49	101,41	7,03	95,04
	2	0,09	92,81	0,29	100,17	1,33	90,37	7,61	102,86
	3	0,10	98,97	0,28	97,37	1,46	99,53	7,81	105,57
	4	0,11	112,39	0,30	103,11	1,41	96,05	7,67	103,68
	5	0,09	92,01	0,32	111,96	1,52	103,17	7,89	106,57
	6	0,11	108,65	0,30	105,07	1,41	95,69	7,76	104,80
III	1	0,09	96,63	0,26	90,95	1,31	89,13	7,11	96,11
	2	0,11	109,68	0,28	95,31	1,38	94,01	7,81	105,49
	3	0,11	112,97	0,31	106,53	1,46	99,42	7,01	94,73
	4	0,10	97,80	0,29	100,26	1,47	100,02	6,90	93,24
	5	0,09	89,95	0,30	102,89	1,35	91,98	7,91	106,89
	6	0,10	103,00	0,32	110,17	1,49	101,32	6,95	93,87
$\bar{X}$	0,10	102,12	1,43	0,29	101,38	1,43	97,03	7,64	
CV (%)	8,40	7,46	7,15	5,83	6,08	7,15	7,17	7,18	

#### **Giới hạn định lượng dưới của phương pháp (LLOQ)**

Phân tích các mẫu thịt gà (mẫu trắng), mẫu thịt gà có thêm chuẩn clenbuterol ở nồng độ thấp nhất trong khoảng tuyến tính (khoảng 0,1 ng/ml), mỗi loại có 6 mẫu độc lập. Kết quả được trình bày ở bảng 6. Kết quả cho thấy tỉ lệ

đáp ứng ở mẫu trắng so với mẫu LLOQ khoảng 11,9% (< 20%) và ở nồng độ LLOQ (khoảng 0,1 ng/mL) đạt yêu cầu về độ đúng (83,65% - 119,94%; CV = 11,82%), đáp ứng yêu cầu giới hạn định lượng dưới của phương pháp phân tích thuốc trong dịch sinh học <sup>[5, 8]</sup>.

**Bảng 6. Kết quả xác định giới hạn định lượng dưới (LLOQ)**

Số TT	Đáp ứng pic mẫu trắng	Mẫu thêm chuẩn		Độ đúng (%)
		Đáp ứng pic	Nồng độ tìm thấy (ng/ml)	
1	4,59	36,82	0,10	103,44
2	3,31	36,59	0,10	101,73
3	7,26	36,73	0,10	102,80
4	2,70	38,13	0,11	113,05
5	6,89	39,07	0,12	119,94
6	1,69	34,12	0,08	83,65
<b>Trung bình</b>	4,41	36,91	0,10	104,10
<b>CV (%)</b>				11,82

**Ảnh hưởng của nền mẫu** của nền mẫu được trình bày ở bảng 7 (trong đó Chuẩn bị các mẫu và tiến hành như quy trình MF là hệ số ảnh hưởng của nền mẫu) đã nêu, kết quả đánh giá sự ảnh hưởng

**Bảng 7. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của nền mẫu**

STT	Đáp ứng mẫu LQC		Đáp ứng mẫu HQC		MF	
	Trong dung môi	Trong nền mẫu	Trong dung môi	Trong nền mẫu	Mẫu LQC	Mẫu HQC
1	201,59	157,24	3565,94	3209,35	0,78	0,9
2	203,92	161,10	3729,19	2908,77	0,79	0,78
3	187,95	171,03	4224,58	3590,89	0,91	0,85
4	162,57	149,56	3794,43	3490,88	0,92	0,92
5	172,40	163,78	3331,94	2865,47	0,95	0,86
6	206,31	167,11	3399,27	3025,35	0,81	0,89
<b>TB</b>	187,95	161,64	3671,28	3181,78	0,86	0,87
<b>CV (%)</b>	9,68	4,70	8,82	9,56	8,70	5,73

Kết quả cho thấy giá trị CV (%) của MF là 5,73 - 8,70%, đạt yêu cầu  $\leq 15\%$ .

**Độ ổn định của CLE trong mẫu thịt gà**

Nghiên cứu độ ổn định của CLE trong mẫu thịt gà trên các lô LQC và HQC. Đánh giá độ ổn định của CLE bằng cách so sánh nồng độ CLE có trong các mẫu được bảo quản và các mẫu có nồng độ tương ứng được phân tích ngay sau khi hòa tan chuẩn CLE vào dịch chiết từ thịt gà. Kết quả được trình bày ở bảng 8.

**Bảng 8. Kết quả độ ổn định của CLE trong mẫu thịt gà**

Độ ổn định	Mẫu	Nồng độ ban đầu (ng/ml; n = 6)		Nồng độ sau bảo quản (ng/ml; n = 6)		Độ lệch (%)
		Nồng độ	CV (%)	Nồng độ	CV (%)	
		Sau 3 chu kỳ đông - rã	LQC	0,31	9,6	
	HQC	8,00	4,7	7,87	3,2	3,3
Ở nhiệt độ phòng trong thời gian ngắn (6 giờ)	LQC	0,31	9,6	0,30	8,6	6,5
	HQC	8,00	4,7	8,22	4,8	2,7
Độ ổn định trong autosampler (12 giờ, 20°C)	LQC	0,31	9,6	0,32	14,3	2,7
	HQC	8,0	4,7	8,4	3,3	5,0
Độ ổn định dài ngày (-35°C ± 5°C, 30 ngày)	LQC	0,31	9,6	0,34	7,4	10,9
	HQC	8,0	4,7	8,2	4,3	2,5

Từ bảng 8 cho thấy biến thiên nồng độ CLE của mẫu sau bảo quản so với ban đầu đều nhỏ hơn 15%, đạt yêu cầu để định lượng hoạt chất trong dịch sinh học [6, 9].

### Kết luận

Nghiên cứu đã xây dựng được phương pháp định lượng clenbuterol (CLE) trong thịt gà bằng phương pháp **LC – MS/MS**. Kết quả thẩm định cho thấy, phương pháp có độ đặc hiệu cao, có giới hạn định lượng dưới nhỏ (0,1 ng/ml), khoảng tuyến tính khá rộng ( 0,1 - 10 ng/ml), có độ đúng cao (85,86% - 112,97%) và độ lặp lại tốt với giá trị CV% nhỏ (5,83% - 8,40%), thời gian phân tích sắc ký nhanh (3 phút cho 1 lần tiêm mẫu), chất phân tích ổn định trong nền mẫu thịt gà với một thời gian dài. Phương pháp đưa ra đã đáp ứng các yêu cầu của phương pháp phân tích thuốc trong dịch sinh học của EMA và US-FDA [6, 9]. Chúng tôi hy vọng phương pháp này có thể áp dụng để định lượng clenbuterol trong các mẫu để xem xét sự nhiễm chất cấm trong các chế phẩm từ thịt gà.

### Tài liệu tham khảo

1. Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn (2002), Quyết định số 54/2002/QĐ-BNN, ngày 20 tháng 6 năm 2002 về việc cấm sản xuất, nhập khẩu, lưu thông và sử dụng một số loại kháng sinh hóa chất trong sản xuất và kinh doanh thức ăn chăn nuôi.

2. Nguyễn Lê Kiều Thu (2005), "Tác dụng dược lý của clenbuterol", *Bộ môn Dược lý, Chi cục Chăn nuôi và Thú Y Thành phố Hồ Chí Minh*.

3. Bottemiller Helena (2011), "Amid scandal, China bans more food additives", *Food Safety News*, Retrieved August 22, 2012.

4. Changchuan Guo, Feng Shi, Liping Gong, Huijie Tan, Defu Hu, Jinling Zhang, C. Guo et al. (2015), "Ultra - trace analysis of 12  $\beta$ -agonists in pork, beef, mutton and chicken by ultrahigh - performance liquid - chromatography - quadrupole - orbitrap tandem mCLEs spectrometry", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 107, pp. 526–553.

5. European Medicines Agency, Committee for Medicinal Product for Human Use (2011), *Guideline on Bioanalytical Method Validation*.

6. John Comerford (2017), " Use of beta - agonists in cattle feed".

7. Liqi Wang, Zhenling Zeng, Xufeng Wang, Jianwen Yang, Zhaohua Chen, Limin He (2013), "Multiresidue analysis of nine - agonists in animal muscles by LC-MS/MS bCLEed on a new polymer cartridge for sample cleanup", *J. Sep. Sci.*, 36, pp. 1843–1852.

8. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration (2013), *Guideline for Industry - Bioanalytical Method Validation*.