

# NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG ĐỒNG THỜI SALBUTAMOL, RACTOPAMNE VÀ CLENBUTEROL TỒN DƯ TRONG GÀ BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG KHỐI PHỔ

Nguyễn Thị Hồng Vân<sup>1</sup>, Ngô Hồng Huệ<sup>1</sup>, Phạm Xuân Năng<sup>1</sup>, Đỗ Thị Hương Lan<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Liên<sup>2</sup>, Chử Văn Mẫn<sup>1</sup>

## TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này chúng tôi đã phát triển một phương pháp định lượng nhanh và chính xác Salbutamol, Ractopamine và Clenbuterol tồn dư trong thịt gia cầm bằng máy sắc ký khối phổ siêu hiệu năng UPLC-MS/MS. Điều kiện của khối phổ gồm cột sắc ký: C18; 100 × 2,1mm; 1,7µm, pha động: ACN (0,1% acid formic): 0,1% acid formic/H<sub>2</sub>O (tỷ lệ thích hợp) tốc độ dòng: 0,2 mL/phút, thể tích tiêm: 1µL. Phương pháp của chúng tôi đã trình bày kết quả khả quan về độ nhạy, độ chính xác và độ thu hồi của Salbutamol, Ractopamine và Clenbuterol tồn dư trong thịt gia cầm. Phương pháp này đã được chứng minh là nhanh chóng, đáng tin cậy và lặp lại tốt để phân tích chính xác Salbutamol, Ractopamine và Clenbuterol

**Từ khóa:** Salbutamol, Ractopamin, Clenbuterol, LC/MS/MS, thịt gia cầm

## SUMMARY

### DEVELOPMENT OF AN LC/MS/MS METHOD FOR DETERMINATION SALBUTAMOL, RACTOPAMNE AND CLENBUTEROL RESIDUES IN CHICKEN MEAT

In this study, we developed a rapid and accurate quantitative analysis of Salbutamol, Ractopamine and Clenbuterol residues in poultry meat by UPLC-MS/MS. Conditions of mass spectrometry include chromatographic column: C18; 100×2,1mm; 1,7µm, mobile phase: ACN (0.1% Formic Acid): 0.1% Formic Acid in water (appropriate ratio), flow rate: 0.2mL/min, injection volume: 1µL. Our method presented satisfactory results in terms of sensitivity, precision, accuracy, and recovery of quantitatively analyzing simultaneous Salbutamol, Ractopamine and Clenbuterol residues in poultry meat. This method has been proved to be fast, reliable and reproducible to accurately analyze Salbutamol, Ractopamine and Clenbuterol.

**Keywords:** Salbutamol, Ractopamine, Clenbuterol, LC/MS/MS, poultry

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đã có rất nhiều phương pháp được áp dụng để định lượng Salbutamol, Ractopamine và

Clenbuterol trong thực phẩm như sắc ký lỏng hiệu năng cao ghép đầu dò UV, đầu dò huỳnh quang... Tuy nhiên các phương pháp này có độ nhạy thấp, tốn thời gian. Hiện nay, phương pháp sắc ký lỏng khối phổ được đánh giá là phương pháp có độ nhạy, độ chọn lọc cao, chính xác, có thể phân tích đồng thời nhiều chất trong cùng một mẫu giảm chi phí và thời gian nghiên cứu đang được ứng dụng nhiều trong phân tích, định lượng các chất trong thực phẩm. Dựa trên cơ sở đó chúng tôi đã nghiên cứu xây dựng quy trình định lượng Salbutamol, Ractopamine và Clenbuterol tồn dư trong thịt gia cầm bằng phương pháp sắc ký lỏng khối phổ nhằm phát hiện lượng tồn dư kháng sinh trong thịt gia cầm nói riêng và các sản phẩm từ động vật nói chung.

## II. PHƯƠNG PHÁP VÀ NGUYÊN VẬT LIỆU

**1. Nguyên liệu:** Chuẩn Salbutamol sulfat (99,7%) cung cấp bởi Viện kiểm nghiệm thuốc TP. HCM. Chuẩn Ractopamin hydroclorid (95%) và Chuẩn Clenbuterol hydroclorid (95%) cung cấp bởi Sigma Aldrich.

Các dung môi bao gồm Methanol, Isopropanol, Cloroform... đạt độ tinh khiết theo tiêu chuẩn của LC-MS được mua từ công ty Merk (Đức).

**2. Thiết bị:** Hệ thống sắc ký lỏng khối phổ LC-MS Xevo TQD (Water – Mỹ), Cân phân tích MS 205 DU (Mettler Toledo – Thụy Sĩ), Thiết bị bốc hơi dung môi có cấp khí N<sub>2</sub> (Thermo – Mỹ), Máy sinh khí nitơ (PEAK – Mỹ), Máy lắc vortex (IKA Labdancer, Đức); Máy lắc ngang (IKA HS 260 basic, Đức). Tất cả các thiết bị và dụng cụ phân tích được hiệu chuẩn theo quy định của ISO/IEC 17025 và GLP

### 3. Phương pháp

**Khảo sát điều kiện sắc ký và 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 lượng, định tính. Các thông số MS/MS được tự động tối ưu bằng chế độ MS tune của thiết bị. Tiến hành khảo sát điều kiện sắc ký với cột phân tích pha đảo C18; 100 × 2,1mm; 1,7µm (Water – Mỹ).

Dựa vào các tài liệu tham khảo, lựa chọn pha động gồm hai thành phần: pha A là acetonitril

<sup>1</sup>Học viện Quân y

<sup>2</sup>Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương

Chịu trách nhiệm chính: Chử Văn Mẫn

Email: chuvanmen@vmmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 21.12.2021

Ngày phản biện khoa học: 15.2.2022

Ngày duyệt bài: 23.2.2022

(0,1% acid formic) và pha B là nước (0,1% acid formic). Lựa chọn chế độ gradien. Thay đổi tỷ lệ thành phần pha động. Pha động được chọn phải đảm bảo pic cần phân tích trong sắc ký đồ tách rõ ràng, không bị chập với các pic nhiễu khác, ít bị doãng pic, thời gian lưu hợp lý.

**Khảo sát xử lý mẫu thịt gà.** Dựa vào các tài liệu tham khảo, tiến hành xử lý mẫu theo nguyên tắc: chiết bằng dung dịch đệm phosphat, rồi làm sạch bằng kỹ thuật chiết pha rắn, khảo sát khối lượng thịt gà và thể tích dung môi K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>. Cân thịt gà đã xay nhuyễn cho vào ống ly tâm 50ml. Thêm dung dịch K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,1M vào các mẫu đã chuẩn bị, 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. Làm sạch bằng cột SPE MCX 6 ml/150 mg. Hoạt hóa cột bằng 5ml MeOH, 5 ml nước cất, sau đó cho 5 ml đệm chiết mẫu K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,1M. Tải mẫu lên cột, tốc độ 1ml/phút. (Không để khô cột giai đoạn cho mẫu lên cột và rửa cột). Rửa bằng 4 ml nước, sau đó rửa tiếp bằng 4ml MeOH 10%. Rửa giải bằng 4ml MeOH. Dung dịch rửa giải được thổi khô bằng khí N<sub>2</sub> ở 40°C. Hòa tan cạn khô bằng 1 ml acetonitril (ACN) và nước với tỷ lệ 95:5, vortex và lọc qua màng lọc 0,45µm. Dịch lọc được phân tích bằng máy LC/MS/MS.

**Mẫu đường chuẩn (CC) và giới hạn định lượng dưới (LLOQ):** Dung dịch chuẩn gốc của ba loại hormon được pha trong MeOH (SS) (100µg/mL). Pha tạo dung dịch chuẩn trung gian hỗn hợp: clenbuterol 40000ng/l, salbutamol 200ng/l, ractopamine 20000ng/l. (dung dịch WS0). Từ Từ WS0 pha loãng thành 6 dung dịch chuẩn làm việc.

Chuẩn bị các hỗn hợp dung dịch chuẩn kiểm tra trung gian (QC-W) có nồng độ clenbuterol 100000ng/l, salbutamol 1000 ng/l, ractopamin 100000 ng/l bằng cách pha loãng dung dịch chuẩn gốc kiểm tra bằng methanol.

**Đường chuẩn:** Các mẫu đường chuẩn trong nền mẫu (có nồng độ từ 0,5, 5, 10, 20, 50, 100,

150 ng) được chuẩn bị bằng cách thêm các dung dịch chuẩn làm việc trong methanol (WS) tương ứng vào các mẫu thịt gà trắng, rồi xử lý mẫu theo quy trình ở trên. Đường chuẩn bao gồm: 1 mẫu trắng và 7 mẫu đường chuẩn.

**Các mẫu kiểm tra:** Thêm các dung dịch chuẩn kiểm tra trong methanol (QC-W) vào mẫu thịt gà trắng rồi xử lý theo quy trình để tạo ra các mẫu kiểm tra có nồng độ LQC = 2-3x LLOQ; MQC (gần điểm giữa đường chuẩn) và HQC = 75% - 90% ULOQ.

**Thẩm định phương pháp phân tích.** Tiến hành thẩm định quy trình định lượng đồng thời Salbutamol, Ractopamine và Clenbuterol tồn dư trong thịt gia cầm bằng phương pháp sắc ký lỏng khối phổ LC-MS/MS theo các chỉ tiêu quy định trong USP [5,6] 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 dưới, tỉ lệ thu hồi, ảnh hưởng nền mẫu, độ nhiễu chéo, độ ổn định.

**Phương pháp xử lý số liệu.** Giá trị trung bình, độ lệch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối, phương trình hồi quy, hệ số tương quan hồi quy được xác định bằng phần mềm Microsoft Excel 2010.

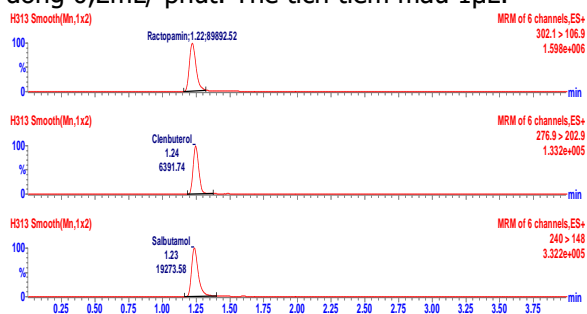
### III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

**Kết quả lựa chọn điều kiện sắc ký lỏng khối phổ.** Tiến hành khảo sát xác định các ion bằng kỹ thuật ion hóa phun điện tử ESI với chế độ bắn phá ion dương. Để tối ưu hóa điều kiện khối phổ, tiêm trực tiếp dung dịch chuẩn Salbutamol, Ractopamin và Clenbuterol nồng độ 1µg/mL vào khối phổ. Chọn chế độ ESI (+), lựa chọn ion mẹ có dạng [M+H]<sup>+</sup>, sau đó phân mảnh ion mẹ để thu được ion con. Ion con có cường độ cao nhất được lựa chọn để định lượng. Lựa chọn chế độ tự động điều chỉnh các thông số của thiết bị phân tích khối phổ. Xác định các thông số tối ưu của khối phổ, kết quả được trình bày ở Bảng 1.

**Bảng 1. Thông số của detector khối phổ**

Các điều kiện khối phổ	Clenbuterol	Salbutamol	Ractopamin
Chế độ ion hóa	ESI (+)	ESI (+)	ESI (+)
Điện thế mao quản (kV)	3	3	3
Điện thế hội tụ (V)	25	25	30
Nhiệt độ hóa hơi (°C)	360	360	360
Lưu lượng khí hóa hơi (L/Hr)	800	800	800
Lưu lượng khí hội tụ (L/Hr)	25	25	25
Năng lượng va chạm (eV)	12	12	122
Ion ban đầu (Dalton)	276,9	240,0	302,1
Ion tạo thành (Dalton)	167,8   202,9	148,0   165,9	106,9   164,1

**Xác định các điều kiện sắc ký.** Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng cột ACQUITY UPLC® BHE C<sub>18</sub> (2,1×100 mm; 1,7 μm). Pha tĩnh sử dụng là cột C<sub>18</sub> ít phân cực nên pha động là dung môi phân cực. Qua tham khảo tài liệu chúng tôi lựa chọn hệ dung môi pha động gồm các thành phần: acetonitril (0,1% acid formic) và nước (0,1% acid formic) (tỷ lệ thích hợp). Tốc độ dòng 0,2mL/ phút. Thể tích tiêm mẫu 1μL.



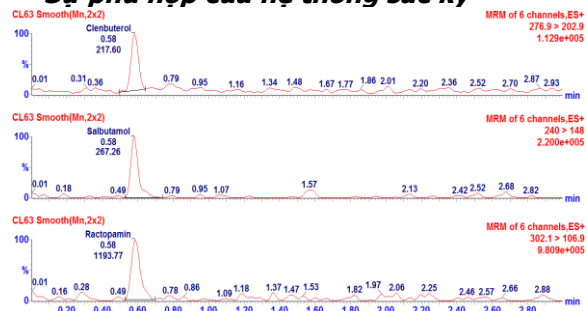
**Hình 1: Sắc ký đồ của Salbutamol,**

**Ractopamin và Clenbuterol sau khảo sát**

**Kết quả lựa chọn phương pháp xử lý mẫu.** Phương pháp chiết pha rắn: quy trình xử lý mẫu cho tỷ lệ thu hồi hoạt chất cao. Lựa chọn khối lượng thịt gà là 1g và thể tích K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,1M chiết là 10mL.

**Kết quả thẩm định phương pháp phân tích**

**Sự phù hợp của hệ thống sắc ký**



**Hình 2: Sự phù hợp của hệ thống sắc ký**

Các pic lặp lại 6 lần của các chất đều tách rõ ràng khỏi các pic khác trong sắc ký đồ, có hình dạng cân đối, không bị giãn pic, đỉnh nhọn và có cường độ lớn.

Thời gian lưu của SAL, RAC, CLB ở 6 lần phân tích lần lượt là 0,578 ± 0,004 (phút); 0,578 ± 0,004 (phút) và 0,572 ± 0,004 (phút), giữa các lần phân tích có sự lặp lại với RSD% đều là 0,71% (< 2%, đạt yêu cầu). Đáp ứng pic của các chất trong hỗn hợp giữa các lần phân tích có

sự lặp lại với RSD% của RAC (3,78%) và SAL (3,75%) cao hơn đối với CLB (3,31%), nhưng đều < 5% (đạt yêu cầu).

**Độ chọn lọc - đặc hiệu.** Trên sắc ký đồ mẫu trắng, tại thời điểm trùng với thời gian lưu của SAL, RAC và CLB trong mẫu chuẩn (từ 0,57 – 0,58 phút) thấy không xuất hiện pic. Tỷ lệ đáp ứng của mẫu trắng đối với mẫu LLOQ dưới 20% (2,46% - 12,76%). Do đó, phương pháp phân tích có tính đặc hiệu và chọn lọc tốt đối với SAL, CLB, RAC và đáp ứng yêu cầu về độ đặc hiệu - chọn lọc.

**Giới hạn định lượng dưới (LLOQ).** Kết quả cho thấy tỷ lệ đáp ứng ở mẫu trắng ở tất cả các mẫu của SAL, RAC, CLB đều < 20% so với mẫu LLOQ, tức đáp ứng của mẫu LLOQ lớn hơn 5 lần so mẫu trắng và độ chính xác khi tiến hành phân tích trên các mẫu LLOQ độc lập CV ≤ 20%.

**Đường chuẩn và khoảng tuyến tính.** Dựa vào các bảng và hình trên cho thấy có sự tương quan tuyến tính giữa nồng độ của CLB, SAL, RAC thêm vào trong nền mẫu với diện tích pic sắc kí, với hệ số tương quan cao (R > 0,99 và R<sub>2</sub> > 0,99). Đối với cả 3 chất SAL, RAC, CLB độ đúng so với giá trị thực của nồng độ đều nằm trong khoảng giới hạn cho phép là 85 - 115% và 80 - 120% đối với điểm LLOQ. Như vậy, đường chuẩn và khoảng tuyến tính đã xây dựng đáp ứng được các tiêu chuẩn theo qui định.

**Độ đúng và độ chính xác.** Độ đúng, độ chính xác trong ngày và khác ngày

Ở cả ba nồng độ QCs, độ đúng trong ngày của RAC, CLB, SAL lần lượt nằm trong các khoảng 96,36 - 103,03%, 99,96 - 104,17% và 99,87 - 102,98% đều nằm trong khoảng 85 - 115% và độ lặp lại với giá trị CV% < 15%. Nồng độ LLOQ có độ đúng nằm trong giới hạn cho phép là 80 - 120% và độ lặp lại CV% đều < 20%.

Ở cả ba nồng độ QCs của 3 chất SAL, RAC, CLB; độ đúng khác ngày lần lượt nằm trong các khoảng 99,53 - 102,18%, 100,15 - 102,26% và 98,42 - 101,64% đều phương pháp đều cho độ đúng nằm trong khoảng 85 -115% và độ lặp lại khác ngày với giá trị RSD < 15%. Nồng độ LLOQ có độ đúng nằm trong giới hạn cho phép là 80% - 120% và độ lặp lại khác ngày là < 20% đạt yêu cầu.

**Độ nhiễm chéo.** Kết quả đánh giá độ nhiễm chéo được trình bày ở bảng dưới. Độ nhiễm chéo của AS: tỷ lệ đáp ứng đều < 20%, đạt, Độ nhiễm chéo của IS: tỷ lệ đáp ứng đều < 5%, đạt.

**Bảng 2. Đánh giá độ nhiễm chéo**

Chất phân tích	STT	Đáp ứng pic			Tỷ lệ đáp ứng	Đạt/ không đạt
		Mẫu trắng	Mẫu ULOQ	Mẫu LLOQ		
SAL	1	5,35	12424,74	224,63	2,38	Đạt

	2	8,28	11831,23	225,79	3,67	Đạt
	3	4,57	11048,23	219,45	3,78	Đạt
	4	6,25	11919,98	230,50	2,71	Đạt
	5	7,56	11949,68	221,41	3,42	Đạt
	6	6,45	12283,34	223,83	2,88	Đạt
	CV (%)		4,04	1,09	18,70	
RAC	1	33,84	50001,31	1193,45	2,84	Đạt
	2	40,53	4996,28	1201,98	3,37	Đạt
	3	30,45	4983,48	1210,46	2,52	Đạt
	4	29,34	4979,35	1194,13	2,46	Đạt
	5	22,41	5015,39	1184,33	1,89	Đạt
	6	30,04	4993,57	1204,31	2,24	Đạt
CV (%)		3,64	1,73	2,73		
CLB	1	7,44	5401,52	228,39	11,12	Đạt
	2	8,29	5420,30	222,51	9,23	Đạt
	3	9,31	5392,37	227,87	13,12	Đạt
	4	5,30	5394,45	219,45	8,83	Đạt
	5	8,52	5396,76	227,37	11,69	Đạt
	6	3,48	5400,25	225,42	9,28	Đạt
CV (%)		2,45	1,23	16,17		

**Tỷ lệ thu hồi.** Ở cả ba mức nồng độ với phương pháp phân tích đều cho tỷ lệ thu hồi cao đạt yêu cầu trong khoảng  $\pm 15\%$ . Giá trị CV% kết quả giữa các lần phân tích của mỗi nồng độ  $\leq 15\%$ , cả trong nền mẫu và trong mẫu thật, tức là độ lặp lại tốt. Độ thu hồi khi thực hiện phương pháp cao hơn phương pháp nghiên cứu của Nguyễn Thị Hà cs (2011), khi tiến hành định lượng đồng thời SAL, CLB, RAC theo cùng nguyên tắc với phương pháp đã xây dựng. Trong chuyên luận đó hiệu suất thu hồi salbutamol dao động trong khoảng 72,70 đến 89,33%; ractopamin dao động khoảng 75,22 - 83,12%;

clenbuterol dao động từ 70,27 đến 85,70%

**Ảnh hưởng của nền mẫu.** Giá trị CV% của MF trên 6 lô nền mẫu của mỗi nồng độ đều  $\leq 15\%$ . Đáp ứng pic của dung dịch chuẩn thêm vào nền mẫu sau xử lý gần giống đáp ứng pic của các mẫu tương ứng trong pha động, điều này chứng tỏ không có hiệu ứng nền trong giai đoạn tạo ion ở đầu dò khối phổ. Do đó phương pháp phân tích đang sử dụng đạt yêu cầu về ảnh hưởng của nền mẫu.

**Độ ổn định.** Kết quả độ ổn định thu được như sau.

**Độ ổn định của dung dịch chuẩn gốc**

**Bảng 3. Độ ổn định của dung dịch chuẩn gốc**

STT	CLB (100 $\mu\text{g/mL}$ )		RAC (100 $\mu\text{g/mL}$ )		SAL (100 $\mu\text{g/mL}$ )	
	Ban đầu (0 giờ)	7 ngày 2°C - 8°C	Ban đầu (0 giờ)	7 ngày 2°C - 8°C	Ban đầu (0 giờ)	7 ngày (2°C-8°C)
1	96,74	97,38	95,65	96,35	94,79	97,49
2	97,32	100,55	98,32	101,52	96,87	99,57
3	94,75	99,83	93,76	103,15	97,83	102,68
Trung bình	96,23	99,25	95,97	100,34	96,50	99,91
CV (%)	2,24	3,16	2,49	3,55	2,51	2,61
Độ lệch (%)	-	3,88	-	4,67	-	3,72
Kết luận	-	Đạt	-	Đạt	-	Đạt

**Độ ổn định của mẫu thật gà.** Độ ổn định của các mẫu thật gà ở các điều kiện khác nhau được trình bày ở Bảng 4, 5, 6 và 7.

**Bảng 4. Độ ổn định của mẫu ở nhiệt độ phòng, auto sampler, 3 chu kỳ đông - rã đông của Salbutamol**

STT		Nồng độ (ng/L)					
		Nhiệt độ phòng		Autosampler		3 chu kỳ đông-rã	
		Ban đầu	Sau 6 (h)	Tiếp ngay	Sau 24 (h)	Ban đầu	Sau 3 chu kỳ
LQC (1 ng/L)	1	1,15	1,02	1,13	1,05	0,97	0,92
	2	1,13	1,15	1,02	1,07	0,96	0,93
	3	1,03	0,94	0,97	1,16	1,12	0,98

	4	0,93	0,92	0,92	0,92	1,04	0,96
	5	0,94	0,98	0,91	0,97	1,03	1,02
	6	0,91	1,12	1,04	0,93	1,11	1,08
TB		1,02	1,03	0,97	1,12	1,08	0,94
CV (%)		2,34	2,67	2,79	2,01	1,99	2,04
Độ lệch (%)		2,52		3,27		2,15	
HQC (16 ng/L)	1	15,87	16,26	15,98	16,16	16,04	15,94
	2	16,21	16,17	15,92	16,05	15,97	15,89
	3	16,23	15,93	16,43	16,02	15,83	16,23
	4	16,12	16,03	16,59	16,02	16,304	15,72
	5	15,98	16,18	15,94	15,88	16,15	16,04
	6	16,04	16,14	16,05	15,94	15,87	16,11
TB		16,13	16,02	16,26	16,01	16,23	15,96
CV (%)		3,23	3,04	3,69	4,91	3,69	5,08
Độ lệch (%)		4,92		6,91		2,84	
Kết luận		Đạt		Đạt		Đạt	

**Bảng 5. Độ ổn định của mẫu ở nhiệt độ phòng, auto sampler, 3 chu kỳ đông - rã đông của Ractopamin**

STT	Nồng độ (ng/L)						
	Nhiệt độ phòng		Autosampler		3 chu kỳ đông-rã		
	Ban đầu	Sau 6 (h)	Tiêm ngay	Sau 24 (h)	Ban đầu	Sau 3 chu kỳ	
LQC (100 ng/L)	1	90,30	92,55	90,30	91,75	90,30	92,15
	2	87,56	95,72	87,56	95,69	87,56	93,45
	3	92,14	93,41	92,14	97,56	92,14	95,36
	4	91,27	96,85	91,27	94,03	91,27	96,21
	5	88,93	97,07	88,93	93,98	88,93	90,55
	6	93,25	94,11	93,25	97,02	93,25	89,54
TB		90,58	94,95	90,58	95,00	90,58	92,88
CV (%)		2,31	1,97	2,31	2,29	2,31	2,84
Độ lệch (%)		4,82		4,88		3,18	
HQC (1600 ng/L)	1	1450,25	1443,05	1450,22	1520,25	1450,22	1490,88
	2	1359,98	1449,67	1359,95	1506,32	1359,95	1471,21
	3	1425,74	1457,06	1425,77	1485,33	1425,77	1535,17
	4	1453,00	1398,33	1453,02	1477,04	1453,02	1505,01
	5	1460,12	1470,77	1460,16	1515,63	1460,16	1451,33
	6	1395,06	1490,62	1395,05	1466,51	1395,05	1422,66
TB		1424,03	1451,58	1424,03	1495,18	1424,03	1479,38
CV (%)		2,77	2,14	2,77	1,47	2,77	2,70
Độ lệch (%)		1,93		5,00		3,89	
Kết luận		Đạt		Đạt		Đạt	

**Bảng 6. Độ ổn định của mẫu ở nhiệt độ phòng, auto sampler, 3 chu kỳ đông - rã đông của Clenbuterol**

STT	Nồng độ (ng/L)						
	Nhiệt độ phòng		Autosampler		3 chu kỳ đông-rã		
	Ban đầu	Sau 6 (h)	Tiêm ngay	Sau 24 (h)	Ban đầu	Sau 3 chu kỳ	
LQC (200 ng/L)	1	205,13	211,16	199,23	202,13	197,32	204,93
	2	201,56	209,24	193,23	197,23	196,48	198,23
	3	198,34	201,34	196,34	193,76	198,75	197,24
	4	210,31	210,28	205,16	203,14	207,33	199,34
	5	204,34	205,74	207,34	198,23	193,50	204,27
	6	200,14	211,14	197,23	203,34	196,54	201,45
TB		203,14	207,12	198,82	197,99	197,37	202,36
CV (%)		2,31	1,97	2,31	2,29	2,31	2,84
Độ lệch (%)		4,82		4,88		3,18	

HQC (3200 ng/L)	1	3180,32	3213,62	3295,45	3186,70	3198,86	3214,69
	2	3204,39	3228,38	3197,28	3185,86	3205,33	3178,77
	3	3198,05	3189,43	3199,71	3205,32	3181,77	3190,81
	4	3176,24	3196,70	3206,53	3198,67	3177,82	3224,83
	5	3189,07	3205,14	3215,80	3218,74	3209,13	3184,90
	6	3216,36	3190,53	3235,50	3194,31	3198,22	3186,69
TB		3194,35	3203,38	3209,37	3189,27	3196,35	3192,31
CV (%)		2,77	2,14	2,77	1,47	2,77	2,70
Độ lệch (%)		1,93		5,00		3,89	
Kết luận		Đạt		Đạt		Đạt	

**Bảng 7. Độ ổn định của mẫu thịt gà**

Tên mẫu	Nồng độ (ng/L)						
	LQC (1 ng/L)			HQC (16 ng/L)			
	Ban đầu	Sau 7 ngày	Sau 30 ngày	Ban đầu	Sau 7 ngày	Sau 30 ngày	
SAL	1	1,03	1,22	1,09	16,18	16,26	16,15
	2	1,15	1,18	1,17	15,92	16,15	15,95
	3	1,16	1,04	1,10	15,83	16,08	15,99
	4	1,16	1,14	1,03	16,19	16,32	16,26
	5	1,01	1,20	1,10	15,98	15,98	16,25
	6	1,11	1,13	1,22	16,15	15,98	15,99
	TB	1,09	1,17	1,15	16,12	16,09	16,16
	CV (%)	4,84	4,18	3,08	3,69	3,01	4,46
	Độ lệch (%)	-	6,98	13,84	-	6,47	12,65
<b>Kết luận</b>	<b>Đạt</b>			<b>Đạt</b>			
RAC	1	98,86	95,38	92,74	1573,24	1573,63	1528,38
	2	99,14	93,94	99,57	1550,12	1532,96	1502,55
	3	93,52	98,33	91,80	1589,85	1564,69	1554,34
	4	96,46	92,48	93,71	1588,97	1549,04	1552,28
	5	97,21	98,31	97,38	1552,64	1559,90	1524,83
	6	97,69	95,38	94,94	1569,29	1534,21	1564,42
	TB	97,15	95,58	94,98	1570,69	1552,41	1534,49
	CV (%)	2,10	2,47	3,08	1,09	1,069	1,58
	Độ lệch (%)	-	1,62	2,23	-	1,16	2,31
<b>Kết luận</b>	<b>Đạt</b>			<b>Đạt</b>			
CLB	LQC (200 ng/L)			HQC (3200 ng/L)			
	1	198,32	200,85	197,79	3220,81	3185,82	3213,62
	2	193,41	203,37	201,94	3194,44	3225,31	3228,33
	3	195,25	210,12	198,29	3186,33	3236,53	3189,32
	4	203,38	203,29	204,14	3199,14	3245,74	3177,82
	5	193,56	205,45	197,36	3206,42	3238,27	3209,12
	6	194,57	211,67	200,65	3238,73	3219,37	3181,74
	TB	196,37	206,23	199,03	3219,32	3228,33	3198,34
	CV (%)	1,95	2,03	2,34	2,26	2,01	1,89
	Độ lệch (%)	-	6,98	13,84	-	6,47	12,65
<b>Kết luận</b>	<b>Đạt</b>			<b>Đạt</b>			

Kết quả thu được ở các bảng trên cho thấy rằng biến thiên nồng độ của mẫu thịt gà đều nằm trong phạm vi  $\leq 15\%$ , đạt yêu cầu. Giá trị CV% giữa các kết quả định lượng ở mỗi nồng độ đều  $\leq 15\%$ , đạt yêu cầu. Do đó, các mẫu thịt gà ổn định ở nhiệt độ phòng sau 6 giờ, trong autosampler sau 24 giờ, sau 3 chu kỳ đông - rã và sau bảo quản dài ngày (30 ngày).

## V. KẾT LUẬN

Chúng tôi đã xây dựng và thẩm định phương pháp định lượng Salbutamol, Clenbuterol và Ractopamin tồn dư trong thịt gia cầm bằng máy sắc ký khối phổ siêu hiệu năng UPLC-MS/MS. Điều kiện của khối phổ gồm cột sắc ký: C18; 100  $\times$  2,1mm; 1,7 $\mu$ m, pha động: ACN (0,1% acid formic): 0,1% acid formic/H<sub>2</sub>O (tỷ lệ thích hợp)

tốc độ dòng: 0,2 mL/phút, thể tích tiêm: 1 $\mu$ L. Phương pháp của chúng tôi đã trình bày kết quả khả quan về độ nhạy, độ chính xác và độ thu hồi của ba loại hormon phân tích định lượng. Phương pháp có độ đúng đạt yêu cầu (dao động trong khoảng từ 96,36 - 103,03%, 99,96 - 104,17% và 99,87-102,98% đều nằm trong khoảng 85 - 115% và độ lặp lại với giá trị CV% < 15%, độ chính xác cao với giá trị CV% từ 6,16 - 8,75%. Tỷ lệ thu hồi cao của phương pháp đạt từ 87,26% - 95,80%. Độ nhiễu chéo và độ ổn định đáp ứng các yêu cầu về phân tích.

*Số liệu của bài báo là một phần kết quả nghiên cứu của đề tài cấp Nhà nước "Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật MS-MS độ nhạy cao và Multiplex Realtime PCR thế hệ mới để phát hiện tác nhân hóa học và sinh học gây hại sức khỏe trong một số thực phẩm", mã số đề tài ĐTĐL.CN-06/19*

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bộ Y tế (2018)**, Dược thư quốc gia Việt Nam, NXB Y học.
2. **Jaekyu Shin., Daniel F. Pauly., Julie A. Johnson., Reginal F. Frye (2008)**, "Simplified method for determination of clarithromycin in human plasma using protein precipitation in a 96 - well format and liquid chromatography - tandem mass spectrometry", Journal of Chromatography B 871, pp.130 - 134.
3. **Xiumei Lu., Lingyun Chen., Dong Wang., Juan Liu., Yanjuan Wang., Famei Li (2008)**, "Quantification of Clarithromycin in Human Plasma by UPLC - MS - MS", Shenyang Pharmaceutical University, June 2008.
4. **Syed N Alvi., Saleh Al Dgither and Muhamad M Hammami (2016)**, "Rapid Determination of Clarithromycin in Human Plasma by LCMS/MS Assay", Pharmaceutical Analytical Chemistry Open Access, pp 2471 - 2695.
5. **Guidance for industry** - Bioanalytical method validation, FDA 2018.
6. **Guidance** on Bioanalytical method validation, EMA 2012.

## HIỆU QUẢ ĐIỀU TRỊ NHẠY CẢM NGÀ CỦA KEM ĐÁNH RĂNG SENSITIVE MINERAL EXPERT BY P/S Ở SINH VIÊN TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC - ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI

Trần Thị Ngọc Anh\*, Đinh Diệu Hồng\*, Trịnh Đình Hải\*,  
Vũ Lê Phương\*, Trương Thị Mai Anh\*, Đỗ Thị Thu Hương\*

### TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Nhận xét hiệu quả điều trị nhạy cảm ngà của kem đánh răng Sensitive Mineral Expert By P/S ở sinh viên Trường Đại học Y Dược - Đại học Quốc Gia Hà Nội. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** 33 sinh viên Trường Đại học Y Dược - Đại học Quốc Gia Hà Nội với 82 răng nhạy cảm ngà tham gia nghiên cứu. Tiến hành nghiên cứu can thiệp lâm sàng không đối chứng. **Kết quả:** Tỷ lệ ê buốt răng giảm 89% sau 4 tuần can thiệp.

**Từ khóa:** nhạy cảm ngà, kem đánh răng, Sensitive Mineral Expert By P/S

### SUMMARY

**EFFECTIVENESS OF SENSITIVE MINERAL EXPERT BY P/S TOOTHPASTE IN TREATING DENTINE HYPERSENSITIVITY OF STUDENTS OF VNU UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY**

**Objective:** The aim to assess the effect of Sensitive Mineral Expert By P/S toothpaste in reducing dentine hypersensitivity of students. **Subjects and method:** 33 students of VNU University of Medicine and Pharmacy with 82 sensitive teeth were included in this study. We conducted a prospective, descriptive study. **Results:** After 4 weeks of intervention, the rate of sensitive tooth decreased by 89%.

**Keywords:** dentine hypersensitivity, tooth sensitivity, sensitive tooth, toothpaste, Sensitive Mineral Expert By P/S.

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhạy cảm ngà là cơn đau nhói thoáng qua xuất hiện trên phần ngà bị lộ khi gặp các kích thích ngoại lai như: kích thích nhiệt, thổi hơi, cọ xát, thẩm thấu hay hoá học mà không do bệnh lý hoặc khiếm khuyết răng miệng nào khác và ở răng bình thường thì mức kích thích đó không đủ gây đau (ADHA, 2001). Bên cạnh bệnh sâu răng và bệnh viêm quanh răng, thì nhạy cảm ngà đang là mối quan tâm hàng đầu của bác sĩ Răng Hàm Mặt.<sup>1,2</sup> Nhạy cảm ngà không được điều trị có thể dẫn đến các thay đổi về hành vi để tránh đau như bỏ qua hay né tránh việc vệ sinh răng miệng, không tuân thủ sự hướng dẫn chăm sóc

\*Trường Đại học Y Dược - Đại học Quốc gia Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Đinh Diệu Hồng

Email: dieuhong201@gmail.com

Ngày nhận bài: 23.12.2021

Ngày phản biện khoa học: 16.2.2022

Ngày duyệt bài: 24.2.2022