

Nghiên cứu thủy phân thịt vụn cá tra

Enzymatical hydrolysis of proteins from Tra fish flesh scrap

Lê Trung Thiên, Bùi Thanh Thùy và Trịnh Ngọc Thảo Ngân

Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Ngày nhận: 23/10/2017

Ngày chấp nhận: 02/11/2017

Từ khóa

Alcalase
Cá tra
Enzyme
Thủy phân

Keywords

Alcalase
Enzymes
Hydrolysis
Tra catfish

Tác giả liên hệ

Lê Trung Thiên
Email: le.trungthien@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu này thực hiện nhằm so sánh ảnh hưởng của loại, tỷ lệ và điều kiện thủy phân enzyme đến hiệu quả thủy phân thịt vụn cá tra. Trong vòng bốn enzyme thí nghiệm là protamex, papain, neutrase, và alcalase thì alcalase cho hiệu suất thu hồi protein và độ thủy phân cao nhất. Enzyme alcalase cho hiệu quả thủy phân cực đại trong điều kiện pH 8,0; nhiệt độ thủy phân 55°C và tỷ lệ enzyme/nguyên liệu là 1,0% (w/w), cụ thể hiệu suất thu hồi protein hơn 70% (w/w) và độ thủy phân hơn 18% (w/w). Nghiên cứu thành công với mục tiêu đề ra và kết quả có khả năng ứng dụng vào thực tế sản xuất dịch thủy phân thịt vụn cá tra để làm nguyên liệu cải thiện tính chất công nghệ thực phẩm hay nguyên liệu chế biến thực phẩm chức năng.

ABSTRACT

The study was carried out to compare types of enzymes and to evaluate effects of conditions for hydrolysis of Tra fish flesh scraps. Among the four experimented enzymes including protamex, papain, neutrase, and alcalase, the last one was the most efficient in term of protein recovery yield and hydrolysis degree. The hydrolysis efficiency was at the maximum at conditions of pH 8.0, the temperature 55°C and the rate of enzyme / material 1.0%. At these conditions, the protein recovery yield was over 70%, and hydrolysis degree was over 18%. The results of the research provide a background to apply enzymes to convert Tra fish flesh scraps into a protein hydrolysate to be used as a functional ingredient or to be used in functional foods.

1. Đặt Vấn Đề

Hiện nay, sản phẩm cá tra của Việt Nam đã có mặt trên 150 quốc gia và vùng lãnh thổ trên thế giới. Theo báo cáo của Tổng cục Thủy sản năm 2015, ước tính diện tích cá tra cả nước khoảng 5.000 ha, sản lượng 1,22 triệu tấn chiếm hơn 18% tổng sản lượng thủy sản, xuất khẩu đạt 1,6 tỷ USD chiếm hơn 23% kim ngạch xuất khẩu thủy sản cả nước. Như vậy, ngành cá tra không ngừng phát triển dẫn đến một lượng phụ phẩm rất lớn được tạo ra, trong đó thịt vụn chiếm khoảng 14%

tổng khối lượng cá sống (Đỗ Thị Thanh Hương và Trương Thị Mộng Thu, 2013). Bên cạnh đó, nguồn thịt vụn có giá trị dinh dưỡng tương đương thịt phi lê với hàm lượng protein khoảng 17%. Có thể tận dụng nguồn protein này cho nhiều ứng dụng trong công nghệ thực phẩm, gia tăng nguồn thu nhập cho người sản xuất, giảm thiểu lãng phí, tăng hiệu suất thu hồi chất dinh dưỡng.

Chế biến sản phẩm thủy phân protein là hướng xử lý mới đang được quan tâm. Thủy phân protein thành dịch thủy phân làm tăng lên tính chất công nghệ cũng như tăng lên giá trị sinh học (tăng

độ hấp thụ, hoạt tính kháng oxy hóa) của nguyên liệu. Tuy nhiên, hướng nghiên cứu này trên cá Tra vẫn còn hạn chế, đặc biệt trên đối tượng thịt vụn. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm so sánh khả năng thủy phân protein thịt vụn cá tra của các proteases thương mại có mặt trên thị trường từ đó chọn được enzyme phù hợp và thông qua một số thí nghiệm để tìm điều kiện thủy phân phù hợp cho enzyme lựa chọn.

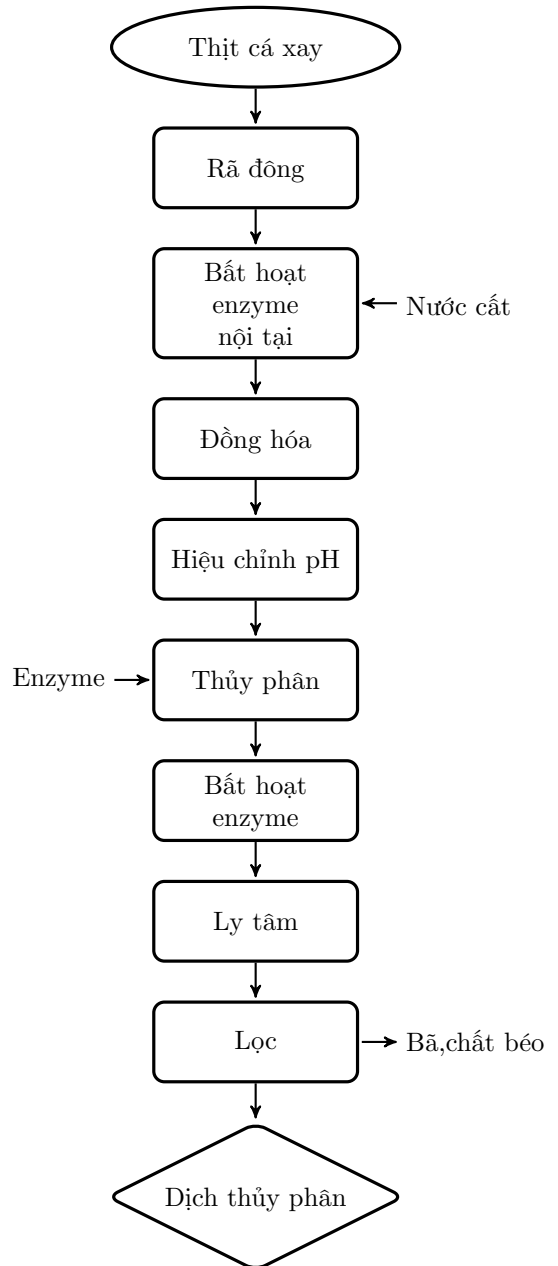
2. Vật Liệu Và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Nguyên vật liệu

Thịt vụn cá tra thu mua tại công ty TNHH MTV Thủy Sản Mỹ Sa, Khu Công nghiệp Sa Đéc - Đồng Tháp. Nguyên liệu được xử lý sơ bộ, xay nhỏ, chứa trong bao PA và được trữ đông trong tủ đông ở -20°C cho tới khi sử dụng. Enzyme Alcalase 2,4L EG (Novozymes - Đan Mạch) được mua tại công ty TNHH thương mại nông sản và hóa chất Phương Trâm, neutrase PL, papain và protamex được mua tại công ty TNHH Dầu tư và Phát triển Thị trường Hóa chất.

Sơ đồ quy trình thí nghiệm thủy phân protein từ thịt vụn cá tra bằng phương pháp enzyme được đề xuất dựa trên nghiên cứu của Nicharee và Sathorn (2015) thể hiện trong Hình 1.

Thực hiện rã đông chậm nguyên liệu bằng nước. Nguyên liệu được trộn với nước cất theo tỷ lệ nước : nguyên liệu là 1:1 (w/w), xử lý nhiệt mẫu dịch cá ở nhiệt độ 90°C trong 15 phút để bất hoạt enzyme nội tại. Sử dụng máy đồng hóa đồng nhất mẫu dịch cá trong 4 phút ở tốc độ 9.000 vòng/phút. Hỗn hợp dịch cá được hiệu chỉnh pH bằng dung dịch NaOH 1 N và HCl 1 N sao cho phù hợp với kế hoạch thực nghiệm. Quá trình thủy phân được tiến hành trong becher và phản ứng được thực hiện trong bể điều nhiệt có cánh khuấy với tốc độ 150 vòng/phút. Hỗn hợp được xử lý nhiệt đến nhiệt độ phù hợp trước khi thêm enzyme. Thời gian thủy phân cố định 6 giờ, nhiệt độ thủy phân và hàm lượng enzyme được điều chỉnh theo kế hoạch thực nghiệm. Sau thủy phân, xử lý nhiệt dung dịch mẫu ở nhiệt độ 80°C trong 20 phút để bất hoạt enzyme. Sau đó, thực hiện ly tâm tách béo và bã với chế độ ly tâm 5.000 vòng/phút trong 15 phút. Dịch chiết được lọc bằng giấy lọc whatman 101 phi 90 nhằm loại bỏ những cặn nguyên liệu còn sót (bã) và một phần chất béo trước khi đem phân tích các chỉ tiêu.



Hình 1. Sơ đồ quy trình thủy phân thịt vụn cá tra bằng enzyme.

Điều kiện thủy phân để so sánh các enzyme được liệt kê trong Bảng 1 (dựa trên đề xuất của nhà cung cấp).

Bảng 1. Điều kiện thủy phân tối ưu của các enzyme

Enzyme	pH	Nhiệt độ (°C)	Nồng độ enzyme (%)
Protamex	6,5	55	0,5 E / NL
Alcalase	8,0	55	0,5 E / NL
Papain	7,5	55	4*10 ⁻⁴ E / S
Neutrase	6,5	50	7*10 ⁻⁴ E / S

2.2. Các phương pháp phân tích

Hàm lượng ẩm được xác định bằng máy đo ẩm độ hồng ngoại. Hàm lượng đạm tổng số xác định theo phương pháp Kjeldahl (AOCS Bc 4-91). Phân tích mức độ thủy phân protein bằng phương pháp formol được mô tả bởi Ronald và ctv, 2005.

Hiệu suất thu hồi protein sau quá trình thủy phân được tính toán như sau:

Hiệu suất thu hồi protein = $\frac{a \times m_{dtp}}{b \times m_{nl}} \times 100(\%)$, trong đó:

a: hàm lượng protein có trong dịch thủy phân (%)

m_{dtp} : khối lượng dịch thủy phân (g)

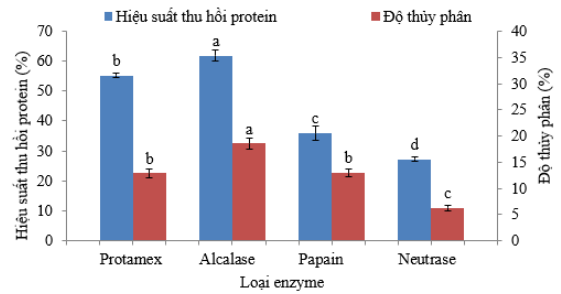
b: hàm lượng protein có trong nguyên liệu (%)

m_{nl} : khối lượng nguyên liệu (g)

Đánh giá mức độ thủy phân thông qua khối lượng phân tử peptide trong dịch thủy phân thu được bằng kỹ thuật điện di gel sodium dodecyl sulfate - polyacrylamide (SDS-PAGE) theo phương pháp Laemmli (1970).

2.3. Phương pháp xử lý kết quả

Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên lặp lại 3 lần. Các phân tích được lặp lại tối thiểu là hai lần và lấy giá trị trung bình. Giá trị tối ưu từ thí nghiệm trước là thông số cố định cho thí nghiệm tiếp theo. Các số liệu thu thập được xử lý thống kê bằng phần mềm: Excel 2010 và JMP 10.0 ở độ tin cậy 95%.



Hình 2. Ảnh hưởng loại enzyme đến hiệu suất thu hồi protein và độ thủy phân.

3. Kết Quả Và Thảo Luận

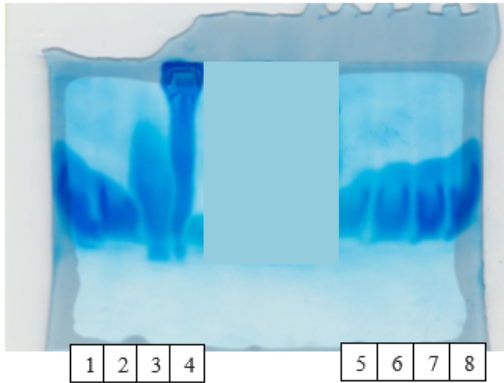
3.1. Ảnh hưởng của loại enzyme đến hiệu quả thủy phân protein thịt vụn cá tra

Thực hiện khảo sát nhiều loại enzyme protease khác nhau để xác định enzyme phản ứng thủy phân tốt nhất đối với cơ chất là protein thịt vụn cá tra. Kết quả được trình bày ở Hình 2.

Kết quả cho thấy, loại enzyme ảnh hưởng có ý nghĩa đến hiệu suất thu hồi protein và độ thủy phân. Enzyme alcalase cho hiệu suất thu hồi protein và độ thủy phân cao nhất (61,90 và 18,55% (w/w)). Nguyên nhân có thể do enzyme này có hoạt tính mạnh và phù hợp với cơ chất là protein thịt vụn cá tra nên phân cắt lượng lớn liên kết peptide và phân cắt sâu hơn để tạo acid amin. Neutrase cho kết quả hiệu suất thu hồi protein và độ thủy phân thấp nhất (27,22 và 6,27% (w/w)). Nguyên nhân có thể do neutrase có hoạt tính kém chỉ cắt protein ở mức độ vừa phải hoặc tạo thành các đoạn peptide (Luan và ctv, 2009).

Hình 3 cho thấy enzyme neutrase có độ thủy phân thấp nhất nên phân cắt các peptide yếu hơn do đó sản phẩm thủy phân có chứa các peptide có khối lượng phân tử lớn, tiếp theo là các peptide của dịch thủy phân bằng papain, protamex và dịch thủy phân bằng alcalase chứa các peptide có khối lượng phân tử nhỏ nhất. Như vậy, độ thủy phân càng cao số lượng các peptide phân tử thấp càng nhiều.

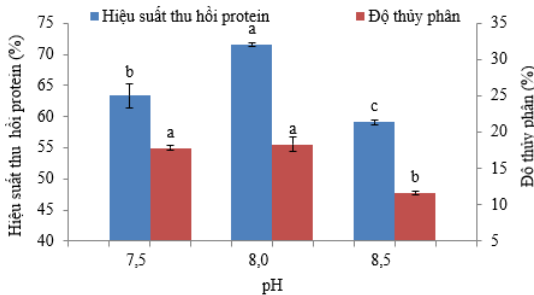
Nghiên cứu của Phạm Đình Dũng và Trần Văn Lâm (2013) trên phụ phẩm cá tra cũng cho thấy alcalase có hiệu quả thủy phân tốt hơn các enzyme còn lại. Vì vậy, enzyme alcalase được chọn làm giá trị cố định cho thí nghiệm tiếp theo.



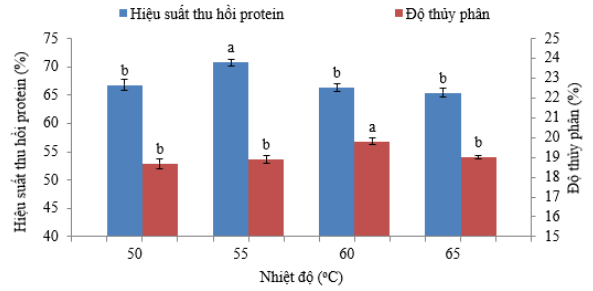
Hình 3. Hình ảnh điện di mẫu dịch thủy phân của các enzyme khác nhau (1- thủy phân với protamex, 2 - alcalase, 3 - papain và 4 - neutrase) và thủy phân với alcalase ở các nhiệt độ khác nhau (5 - 50°C, 6 - 55°C, 7 - 60°C và 8 - 65°C).

3.2. Ảnh hưởng của pH đến hiệu quả thủy phân protein thịt vụn cá tra

Tiến hành khảo sát các giá trị pH khác nhau để lựa chọn pH thích hợp cho quá trình thủy phân thịt vụn cá tra, kết quả theo dõi hiệu suất thu hồi protein và độ thủy phân được trình bày trong Hình 4 cho thấy, pH ảnh hưởng có ý nghĩa đến hiệu suất thu hồi protein và độ thủy phân. Khi tăng pH môi trường lên 8,0 enzyme có hiệu suất thu hồi protein và mức độ thủy phân đạt cực đại (71,53 và 18,30%). Nguyên nhân có thể do tại giá trị pH 8,0 trạng thái ion hóa phân tử enzyme và cơ chất thích hợp với khả năng xúc tác dẫn đến enzyme và cơ chất kết hợp với nhau dễ dàng (Phạm Thị Trân Châu và Phan Tuấn Nghĩa, 2006). Lúc này, enzyme có hoạt tính cao nhất nên phân cắt được lượng lớn các liên kết peptide tạo peptide và acid amin từ đó gia tăng khả năng thu hồi protein và độ thủy phân.



Hình 4. Ảnh hưởng của pH đến hiệu suất thu hồi protein và độ thủy phân.



Hình 5. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất thu hồi protein và độ thủy phân.

Khi tăng pH đến 8,5 hiệu quả thủy phân giảm rõ rệt. Điều này có thể do giá trị pH 8,5 nằm ngoài vùng pH tối thích (7,0 - 8,0) của enzyme alcalase, ở pH quá cao hoặc quá thấp protein bị biến tính dẫn đến enzyme cũng bị mất hoạt tính (Nguyễn Trọng Căn, 1998).

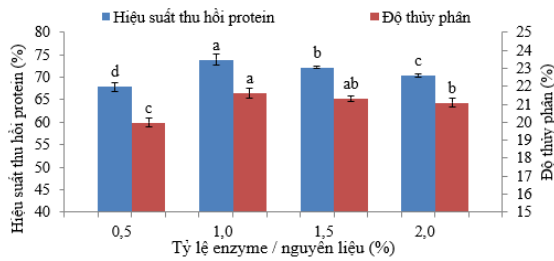
3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu quả thủy phân protein thịt vụn cá tra

Hình 5 cho thấy, nhiệt độ ảnh hưởng có ý nghĩa đến hiệu suất thu hồi protein. Khi nhiệt độ tăng đến 55°C thì hiệu suất thu hồi protein đạt cực đại (70,82% (w/w)). Tiếp tục tăng nhiệt độ lên 60 và 65°C hiệu suất thu hồi không tăng và có xu hướng giảm. Độ thủy phân giữa các nghiệm thức chênh lệch không đáng kể trong khoảng 18 - 19%, kết quả điện di (Hình 3) cũng cho thấy không có sự khác nhau rõ rệt giữa các giếng 5; 6; 7 và 8 (50; 55; 60 và 65°C) hay độ thủy phân của bốn nghiệm thức gần như tương đương với nhau.

Kết quả này phù hợp nghiên cứu trên thịt cá sấu của Huỳnh Thị Bích Hạnh (2016) với nhiệt độ 55°C là điều kiện thích hợp cho enzyme alcalase hoạt động. Như vậy, nghiệm thức nhiệt độ 55°C được chọn làm giá trị cố định cho thí nghiệm kế tiếp.

3.4. Ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme/nguyên liệu đến hiệu quả thủy phân protein thịt vụn cá tra

Nồng độ cơ chất và nồng độ enzyme ảnh hưởng trực tiếp đến vận tốc phản ứng. Theo dõi hiệu suất thu hồi protein sau quá trình thủy phân và độ thủy phân để chọn ra tỷ lệ enzyme/nguyên liệu phù hợp cho quá trình thủy phân protein thịt vụn cá tra. Mẫu dịch thủy phân sau khi phân tích các chỉ tiêu được trình bày ở Hình 6.



Hình 6. Ảnh hưởng của tỷ lệ enzyme/nguyên liệu đến hiệu suất thu hồi protein và độ thủy phân.

Hình 6 cho thấy, tỷ lệ enzyme/nguyên liệu ảnh hưởng có ý nghĩa đến hiệu suất thu hồi protein và độ thủy phân. Nghiệm thức tỷ lệ enzyme/nguyên liệu 1,0% (w/w) cho hiệu suất thu hồi protein và độ thủy phân đạt cực đại (73,94 và 21,61% (w/w)). Tiếp tục tăng tỷ lệ enzyme/nguyên liệu lên 1,5 và 2,0% (w/w), hiệu suất thu hồi protein và độ thủy phân đều giảm.

Điều này phù hợp với lý thuyết, khi tăng tỷ lệ enzyme đồng nghĩa với việc tăng nồng độ enzyme, khi đó khả năng tiếp xúc giữa enzyme và cơ chất tăng, nên tốc độ phản ứng tăng cường, làm tăng hiệu quả thủy phân protein (Phạm Thị Trân Châu và Phan Tuấn Nghĩa, 2006). Tốc độ phản ứng đạt cao nhất với tỷ lệ enzyme/nguyên liệu thích hợp là 1,0%. Tuy nhiên, nếu tỷ lệ enzyme quá cao, tốc độ phản ứng sẽ chậm lại. Nguyên nhân có thể do bản chất của enzyme là protein, những enzyme chưa tiếp xúc được với cơ chất lại có xu hướng thủy phân enzyme khác khi tỷ lệ enzyme bổ sung vào nguyên liệu quá cao.

4. Kết Luận

Thủy phân protein thịt vụn cá tra bằng enzyme alcalase cho hiệu suất thu hồi protein và độ thủy phân cao nhất so với enzyme protamex, papain và neutrase. Điều kiện thích hợp thủy phân thịt vụn cá tra khi sử dụng enzyme alcalase là: pH và nhiệt độ cho quá trình thủy phân lần lượt là 8,0 và 55⁰C, tỷ lệ enzyme / nguyên liệu là 1,0% (w/w). Tại điều kiện này, hiệu suất thu hồi protein thu được là hơn 70% (w/w) và độ thủy phân hơn 18% (w/w).

Lời Cảm Ơn

Nghiên cứu này được hỗ trợ kinh phí bởi dự án SUPA, tài trợ bởi Cộng đồng Châu Âu. Dự

án quản lý bởi VASEP và Trung Tâm Sản xuất Sạch hơn Đại học Bách Khoa Hà Nội.

Tài Liệu Tham Khảo

- [1] AOCS official method Bc 4-91: Nitrogen-ammonia-protein modified Kjeldahl method titanium oxide + copper sulfate catalyst. *Official methods and recommended practices of the AOCS*. Truy cập ngày 12 tháng 7 năm 2016.
- [2] Đỗ Thị Thanh Hương và Trương Thị Mộng Thu, 2013. *Giá trị dinh dưỡng cá tra (pangasianodon hypophthalmus) và khai thác các sản phẩm giá trị gia tăng*. Trường Đại học Cần Thơ.
- [3] Huỳnh Thị Bích Hạnh, 2016. *Nghiên cứu thủy phân protein từ thịt cá sấu bằng enzyme protease*. Luận văn cao học Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh.
- [4] Laemmli, U.K., 1970. *Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4*. *Nature* 227 (5259): 680 - 685.
- [5] Luan L., Li-jiao C., 2009. *Two-step Enzymolysis Technology of Hard Clam (Meretrix meretrix L.) Meat with Compound Proteases*. *Food Science*: 158.
- [6] Nguyễn Trọng Cẩn, 1998. *Công nghệ enzyme*. Nhà xuất bản Nông Nghiệp, Trang 52.
- [7] Nicharee W. and Sasithorn K., 2015. *Production of fish protein hydrolysates by acid and enzymatic hydrolysis*. *Journal of Medical and Bioengineering* 4 (6): 466.
- [8] Phạm Đình Dũng và Trần Văn Lâm, 2013. *Nghiên cứu ứng dụng dung dịch thủy phân từ phụ phẩm cá bằng enzym làm phân bón cho một số loại rau trong nhà màng*. Báo cáo nghiệm thu, Sở Khoa học và Công nghệ TP. Hồ Chí Minh.
- [9] Phạm Thị Trân Châu và Phan Tuấn Nghĩa, 2006. *Công nghệ sinh học, tập 3: enzyme và ứng dụng*. Nhà xuất bản Giáo Dục, Trang 56 - 58, 90.
- [10] Ronald E. W., Terry E. A., Eric A. D., Michael H. P., David S. R., Steven J. S., Charles F. S., Denise M. S., Peter S., 2005. *Water, Proteins, Enzymes, Lipids, and Carbohydrates*. *Handbook of Food Analytical Chemistry*: 147 - 153.

Khảo sát hiện trạng sử dụng chất cấm (chloramphenicol) và kháng sinh hạn chế sử dụng (amoxicillin) trong quá trình nuôi cá lóc đầu nhím (*Channa maculata*) thương phẩm và phân tích dư lượng trong cơ thịt cá

Investigation on the use of chloramphenicol and amoxicillin in snakehead fish (*Channa maculata*) farming and analysis of those antibiotic residue in muscle samples

Ngô Vy Thảo, Nguyễn Quốc Phú, Ngô Đăng Lâm và Ngô Văn Ngọc

Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Ngày nhận: 08/03/2018

Ngày chấp nhận: 05/07/2018

Từ khóa

Amoxicillin
Cá lóc
Chloramphenicol
Đồng Nai
LC-MS/MS

Keywords

Amoxicillin
Chloramphenicol
Dong Nai
LC-MS/MS
Snakehead fish

Tác giả liên hệ

Ngô Vy Thảo
Email: ngovythao@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Việc sử dụng thuốc và hóa chất trong nuôi trồng thủy sản (NTTS) ngày càng gia tăng đáng kể vì mức độ thâm canh ngày càng được nâng cao. Tuy nhiên, thông tin về nghề nuôi cá lóc hiện nay còn hạn chế. Nắm được nhu cầu trên, nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá hiện trạng sử dụng hai loại kháng sinh (KS) cấm (chloramphenicol, CAP) và hạn chế sử dụng (amoxicillin, AMX) và kiểm tra dư lượng tồn đọng trên cơ thịt cá của hai loại KS này. Nghiên cứu tiến hành phỏng vấn 65 hộ nuôi cá ở Định Quán, Trảng Bom và Biên Hòa, Đồng Nai. Kết quả cho thấy không có việc sử dụng CAP và AMX trong phòng bệnh. Tuy nhiên, CAP vẫn được sử dụng để chữa bệnh ở mức 50,04 và 100,0 g/tấn cá ở Biên Hòa và Trảng Bom. AMX được sử dụng điều trị bệnh ở nồng độ 59,62; 91,49 và 89,58 g/tấn cá ở Định Quán, Biên Hòa và Trảng Bom. Trái ngược với kết quả điều tra thực địa, phân tích hàm lượng kháng sinh trong 3 mẫu cá được thu ở mỗi khu vực khảo sát khoảng 14 ngày trước và ngay ngày thu hoạch cho thấy không có dư lượng KS được phát hiện. Nghiên cứu này cho thấy hiện nay nông dân có sử dụng KS, trong đó có kháng sinh cấm nhưng bước đầu đã nâng cao nhận thức về việc sử dụng kháng sinh, được minh chứng bằng thực tế là chúng chỉ sử dụng khi cần thiết. Do đó cần tăng cường việc quản lý và tăng cường công tác khuyến ngư để cung cấp kiến thức, thông tin cho nông dân sử dụng hợp pháp kháng sinh và các hóa chất khác trong NTTS.

ABSTRACT

The use of drugs and chemicals in aquaculture has been increased surprisingly due to the fact that it has been moving from low to high level of intensification. However, there is lack of information in snakehead fish farming. The study was conducted by interviewing 65 farmers in Dinh Quan, Trang Bom, and Bien Hoa, Dong Nai province to provide sufficient information on the use of chloramphenicol (CAP) and amoxicillin (AMX) in snakehead fish farming. Interview results showed that no employment of the 2 antibiotics in prevention of diseases. However, CAP was currently applied to treat diseases at a concentration of 50.04 and 100.0 g/ton of fish in Bien Hoa and Trang Bom, respectively despite it was banned in aquaculture according to the law. AMX restricted to use was employed when fish got sick at 59.62, 91.49, and 89.58 g/ton of fish in Dinh Quan, Bien Hoa and Trang Bom, respectively. In contrast to field survey result, LC-MS/MS analysis of 3 fish muscle samples randomly collected at each place around 14 days before and on the day of harvesting indicated that no residue of concerned antibiotics was detected. The present study suggests that farmers currently apply antibiotics including banned antibiotics in fish but have initially raised awareness of the use of antibiotics, evidenced by the fact that they were only used when needed. Hence, the management and extension should be intensively promoted for a legal use of antibiotics and other chemicals.

1. Đặt Vấn Đề

Ngành nuôi trồng thủy sản (NTTS) ở Việt Nam hiện đang phát triển rất nhanh và có nhiều khởi sắc với tổng diện tích mặt nước NTTS là 1.072,2 nghìn ha (Tổng Cục Thống Kê, 2017). Sản lượng NTTS năm 2016 ước tính đạt 3.640,6 nghìn tấn, trong đó sản lượng cá nuôi nước ngọt là 2.564,7 tấn tăng lần lượt là 3,1% và 1,5% so với năm 2015 (Tổng Cục Thống Kê, 2017). Đối với Đồng Nai, thuộc vùng Đông Nam Bộ, Việt Nam, khai thác thủy sản chưa phải là thế mạnh của vùng, tuy nhiên sản lượng NTTS những năm gần đây liên tục tăng, cụ thể là hơn 43 nghìn tấn ở 2014, hơn 45 nghìn tấn vào 2015, và gần 48 nghìn tấn năm 2016 (Tổng Cục Thống Kê, 2017) nhằm cung cấp cho các địa bàn lân cận như Thành phố Hồ Chí Minh, Bình Dương,...

Trong quá trình nuôi, nhiều loại hóa chất và thuốc kháng sinh (KS) được sử dụng để xử lý nước ao nuôi, bảo đảm chất lượng nước, phòng trị bệnh và tăng năng suất vật nuôi (Lan, 2013). Nông dân thường trộn thuốc vào thức ăn mà không tìm hiểu kỹ tác dụng cũng như tác hại của thuốc (Lê Minh Long và ctv, 2015; Phạm và ctv, 2015). Tuy nhiên, năng suất này bắt đầu giảm và lợi nhuận dần biến mất từ một thập kỉ đổ lại đây (Nguyen và Ford, 2010), dẫn đến tính bền vững trong NTTS không còn nữa. Ngoài ra, thức ăn dư thừa và phân có chứa thuốc KS có thể lắng xuống đáy và sau đó được dòng nước đưa sang khu vực lân cận (Boxall và ctv, 2004; Miller và Harbottle, 2018). Việc phát hiện dư lượng các chất KS trong thịt các loại thủy sản xuất khẩu cũng làm ảnh hưởng xấu tới nền kinh tế (Phạm và ctv, 2015). Thêm vào đó, nước nuôi chứa nhiều cặn bã, tạp chất, thuốc dư thừa trong suốt quá trình nuôi được thải trực tiếp ra ngoài không qua xử lý có thể làm ô nhiễm nguồn nước mặt khu vực xung quanh làm ảnh hưởng đến tính ổn định của nghề NTTS (Trương Quốc Phú và Trần Kim Tính, 2012). Đây cũng có thể là nguyên nhân tạo ra nhiều dòng vi khuẩn kháng KS, đe dọa sức khỏe của con người và vật nuôi (Hoa và ctv, 2011; Quách Văn Cao Thi và ctv, 2014).

Ở Việt Nam, chloramphenicol (CAP) và amoxicillin (AMX) là hai KS cấm và hạn chế sử dụng (Thông tư số 15/2009/TT-BNN ngày 17/3/2009 của Bộ trưởng Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 2009) do các tác hại của nó đối với sức khỏe con người và môi trường (De Francesco và ctv, 2010; Dowling, 2013). Dù vậy, qui định này

chỉ khắt khe cho sản phẩm thủy sản xuất khẩu, còn với hàng tiêu thụ nội địa thì việc kiểm tra qui trình nuôi, chế biến và bảo quản vẫn còn bỏ ngỏ. Hiện nay các nghiên cứu trên thế giới và ở Việt Nam về việc sử dụng thuốc và dư lượng KS (DLKS) ở cá nước ngọt chủ yếu tập trung vào cá tra và cá ba sa (Ang và ctv, 2000; Ansari và ctv, 2014; Cañada-Cañada và ctv, 2009; Quách Văn Cao Thi và ctv, 2014). Cá lóc đầu nhím (*Channa maculata*) là một loại cá lóc Việt Nam, thịt trắng, ngọt, rất được ưa chuộng với người tiêu dùng (Vũ Trung Tạng và Nguyễn Đình Mão, 2005). Cũng giống như các loại NTTS khác, trong quá trình nuôi cá lóc thương phẩm, người nông dân không tránh khỏi việc sử dụng thuốc và hóa chất để vệ sinh ao, phòng và trị bệnh (Lê Xuân Sinh và Đỗ Minh Chung, 2009) nhưng những thông tin mang tính chất khoa học về quá trình nuôi loài cá này rất hạn chế. Do đó, nghiên cứu được thực hiện nhằm mục đích cung cấp thông tin về việc sử dụng hai loại KS nói trên tại các trại nuôi cá lóc thương phẩm ở Đồng Nai, cũng như phân tích DLKS có trong cơ thịt cá. Kết quả nghiên cứu có thể làm cơ sở để các nhà chức trách phối hợp cùng các cơ quan chức năng quản lý và kiểm soát việc sử dụng KS, cũng như làm tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm hạn chế các ảnh hưởng đến môi trường và đảm bảo tính bền vững của nghề nuôi cá lóc nói riêng và NTTS nói chung.

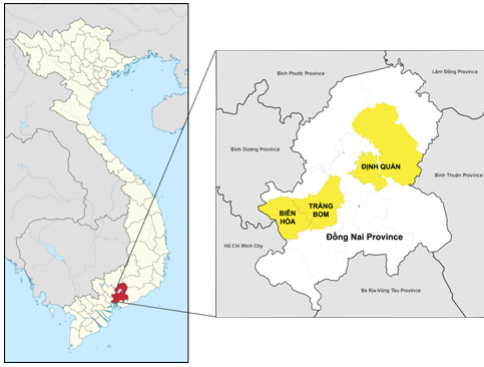
2. Vật Liệu Và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Địa điểm khảo sát và thu mẫu

Ba huyện/thành phố thuộc tỉnh Đồng Nai là Định Quán, Trảng Bom, và Biên Hòa được lựa chọn để tiến hành khảo sát và thu mẫu cá (Hình 1). Đây là những khu vực có nhiều hộ nuôi cá lóc gần với thành phố Hồ Chí Minh (TP. HCM) tiện lợi cho nghiên cứu.

2.2. Phân tích DLKS (CAP và AMX) trong cơ thịt cá

Việc thu mẫu cá được tiến hành như sau. Chọn ngẫu nhiên 01 hộ nuôi cá lóc thương phẩm ở mỗi địa điểm điều tra Định Quán, Trảng Bom và Biên Hòa. Tại thời điểm khoảng 14 ngày trước và khi thu hoạch cá, 03 cá thể cá được thu ngẫu nhiên tại mỗi hộ trên. Theo (Ansari và ctv, 2014; Nguyễn Thanh Điền và Phùng Võ Cẩm Hồng, 2010; Wang và ctv, 2004) và kinh nghiệm của các chuyên gia NTTS thì thời gian 14 ngày là khoảng thời gian



Hình 1. Vị trí tỉnh Đồng Nai ở Việt Nam ($11^{\circ}7'N$ $107^{\circ}11'E$) và vị trí Định Quán, Trảng Bom và Biên Hòa trong tỉnh Đồng Nai (Được chỉnh sửa từ www.dongnai.gov.vn).

cách li đủ để bài thải hoàn toàn tồn dư KS trong cơ thịt cá. Việc khảo sát DLKS tại hai thời điểm trước và khi thu hoạch nhằm kiểm tra xem người nông dân có thực hành theo đúng khuyến cáo của các chuyên gia hay không. Cá sau khi thu sống được vận chuyển kín về phòng thí nghiệm. Tại đây, cá được đánh sạch vảy, phi lê, lóc lấy phần thịt từ lưng tới đuôi có khối lượng từ 50 tới 100 g và trữ đông ở $-20^{\circ}C$ cho tới khi được gửi đi phân tích DLKS. Đặc điểm sinh học của cá thể cá làm mẫu được thể hiện trong Bảng 1. Chỉ tiêu môi trường nước ao nuôi lấy mẫu được đo bằng test kit SERA (Đức) và mô tả trong Bảng 2.

Dư lượng CAP và AMX được định lượng tại Trung tâm Dịch vụ phân tích thí nghiệm TP. HCM (Số 02 Đường Nguyễn Văn Thủ, Đa Kao, Quận 1, Hồ Chí Minh) trên hệ thống LC-MS/MS lần lượt theo (Neuhaus và ctv, 2002) và (Becker và ctv, 2004). Ngưỡng phát hiện của CAP và AMX là 0,05 và 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$, phù hợp với Thông tư số 15/2009/TT-BNN của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (2009).

3. Kết Quả Và Thảo Luận

3.1. Đặc điểm chung của các hộ được khảo sát

Qua kết quả điều tra thực tế 65 hộ dân nuôi cá lóc đầu nhím thâm canh, số nhân khẩu tham gia nuôi cá lóc trung bình là 4,2 người/hộ (kể cả lao động thuê). Phần lớn chủ hộ nuôi cá và người tham gia nuôi cá là nam giới. Còn nữ giới chỉ phụ giúp một số công việc nhẹ hoặc nội trợ. Đây cũng là đặc thù của hầu hết các vùng thâm canh NTTS (Nguyễn Thị Kim Quyên, 2017). Nguyên

nhân của sự hạn chế tham gia vào công việc này ở nữ giới có thể do trình độ học vấn và kỹ thuật thấp, điều kiện sức khỏe không phù hợp. Độ tuổi của chủ hộ phần lớn từ 45 đến 55 tuổi, với độ tuổi này phản ánh kinh nghiệm NTTS tương đối cao nhưng hạn chế về mặt thay đổi thói quen NTTS, đa số còn giữ những kinh nghiệm canh tác lỗi thời, không phù hợp với kiến thức khoa học thời đại mới, gây khó khăn cho công tác khuyến ngư. Bên cạnh đó, trình độ học vấn là một trong những yếu tố quyết định đến khả năng tiếp thu các kiến thức cũng như chọn lọc và vận dụng vào sản xuất cho phù hợp với điều kiện thực tế, quyết định được khả năng điều hành các hoạt động sản xuất cho chính xác. Kết quả điều tra cho thấy phần lớn trình độ văn hóa của chủ hộ là cấp 2 – 3, chiếm 93,2% (Bảng 3).

Tất cả các hộ dân (65/65 hộ) đều cho biết họ nuôi cá dựa trên kinh nghiệm đúc kết và hướng dẫn của nhân viên tiếp thị hoặc đại lý bán thuốc/thức ăn thủy sản. Điều này chứng tỏ công tác khuyến ngư và truyền bá kiến thức NTTS chưa được sâu sát và chưa nhận được sự quan tâm đúng mức của người dân.

Bảng 4 cho thấy diện tích đất thâm canh NTTS mỗi hộ dân ở khu vực khảo sát là không đồng đều. Có 39 hộ (09 hộ ở Trảng Bom và 30 hộ ở Biên Hòa) không có số liệu do quá trình điều tra có sơ sót vì bị giới hạn về mặt thời gian phỏng vấn.

3.2. Tình hình sử dụng CAP và AMX trong quá trình nuôi cá thương phẩm

Kết quả điều tra cho thấy trong 65 hộ, không có hộ nào sử dụng hai loại KS này trong quá trình phòng bệnh. Tình hình sử dụng 2 KS CAP và AMX để trị bệnh của 65 hộ dân được tóm tắt tại Bảng 5. Trong đó, 49,23% hộ (32/65 hộ) sử dụng CAP và 98,46% hộ (64/65 hộ) sử dụng AMX để trị bệnh cho cá. Đáng chú ý ở kết quả là tất cả số hộ được phỏng vấn ở Định Quán (26/26 hộ) đều không sử dụng CAP trong suốt quá trình nuôi.

KS được trộn vào thức ăn cho cá. Người dân sử dụng CAP để điều trị các bệnh thường gặp ở cá như đỏ mỗ, đỏ kỳ, xuất huyết và gan thận mủ xuất hiện từ tháng thứ 2 tới tháng thứ 5 trong quá trình nuôi. AMX thì được dùng chữa các bệnh tương tự như CAP và thêm đốm đỏ, trắng mình xuất hiện hàng tháng từ tháng thứ 3. Hiệu quả trị bệnh ghi nhận từ phỏng vấn là 50 – 80% và 70 – 100% đối với CAP và AMX. Hiệu quả điều trị cao, cộng với việc tần suất cá mắc

Bảng 1. Đặc điểm sinh học của cá thể cá lóc lấy mẫu tại các địa điểm

Tên mẫu cá	Thời gian lấy mẫu	Nơi lấy mẫu	Khối lượng (g)	Chiều dài (cm)
DQ1	29/10/2016*	Định Quán	860	42
DQ2	29/10/2016*	Định Quán	700	38
DQ3	29/10/2016*	Định Quán	450	32
DQ4	12/11/2016†	Định Quán	900	44
DQ5	12/11/2016†	Định Quán	700	41
DQ6	12/11/2016†	Định Quán	600	37
TB1	03/11/2016*	Trảng Bom	700	40
TB2	03/11/2016*	Trảng Bom	240	31
TB3	03/11/2016*	Trảng Bom	450	35
TB4	18/11/2016†	Trảng Bom	400	34
TB5	18/11/2016†	Trảng Bom	400	33
TB6	18/11/2016†	Trảng Bom	300	29
BH1	03/11/2016*	Biên Hòa	300	33
BH2	03/11/2016*	Biên Hòa	500	40
BH3	03/11/2016*	Biên Hòa	400	36
BH4	18/11/2016†	Biên Hòa	400	39
BH5	18/11/2016†	Biên Hòa	450	41
BH6	18/11/2016†	Biên Hòa	500	41

*Thời điểm trước khi thu hoạch, † Thời điểm ngay lúc thu hoạch.

Bảng 2. Chỉ tiêu nguồn nước tại ao nuôi lấy mẫu

Địa điểm \ Chỉ tiêu	Ngày lấy mẫu	pH	DO (mg/L)	NH ₃ /NH ₄ ⁺ (mg/L)
Định Quán	29/10/2016*	7,4	4	0,06
	12/11/2016†	7,4	4	0,06
Trảng Bom	03/11/2016*	7,3	4	0,06
	18/11/2016†	7,3	4	0,06
Biên Hòa	03/11/2016*	7,3	4	0,06
	18/11/2016†	7,3	4	0,06

*Thời điểm trước khi thu hoạch, † Thời điểm ngay lúc thu hoạch.

Bảng 3. Trình độ học vấn của chủ hộ

Trình độ	Số lượng (hộ)	Tỉ lệ (%)
Cấp 1	4	6,2
Cấp 2	26	40,0
Cấp 3	34	52,3
Trung học chuyên nghiệp trở lên	1	1,5
Tổng	65	100

bệnh dày (hầu như tháng nào cũng gặp) có thể là nguyên nhân khiến cho AMX được tin dùng rộng rãi hơn trong nghiên cứu này. AMX cũng là một trong những loại KS được dùng phổ biến trong nuôi cá tra thâm canh (Long và ctv, 2014).

Hình 2 cho thấy rõ sự khác biệt giữa liều lượng KS sử dụng ở 3 khu vực. Nhìn chung, khu vực Định Quán dùng KS ít nhất, họ không sử dụng CAP, lượng AMX sử dụng cũng ít nhất với $59,62 \pm 14,84$ g/tấn cá (giá trị trung bình \pm sai số).

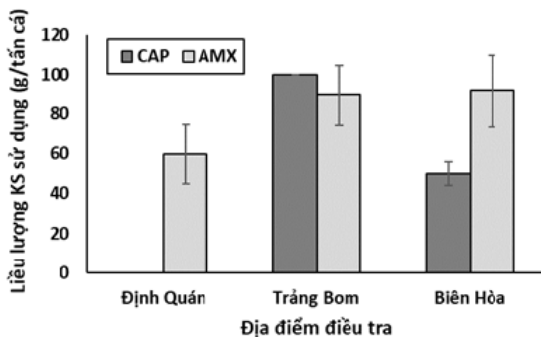
Bảng 4. Tình trạng đất nuôi cá của các nông hộ

Hạng mục	Dưới 10 ha	10 – 15 ha	Trên 15 ha	Không số liệu	Tổng
Số lượng (hộ)	13	5	8	39	65
Tỉ lệ (%)	20	8	12	60	100

Bảng 5. Số hộ sử dụng CAP và AMX trong điều trị bệnh cá

KS	Có sử dụng		Không sử dụng		Tổng	
	Số lượng (hộ)	Tỉ lệ (%)	Số lượng (hộ)	Tỉ lệ (%)	Số lượng (hộ)	Tỉ lệ (%)
CAP	32	49,23	33	50,77	65	100
AMX	64	98,46	01	1,54	65	100

Hai khu vực còn lại sử dụng cả 2 loại KS, trong đó khu vực Biên Hòa sử dụng liều lượng KS cao nhất với $50,00 \pm 5,87$ g CAP/tấn cá và $91,49 \pm 18,27$ g AMX/tấn cá. Ở Trảng Bom, người dân sử dụng liều lượng 100,0 g CAP/tấn cá và $89,58 \pm 15,27$ g AMX/tấn cá. Thực chất, ở Trảng Bom, chỉ có 01 hộ (trong 09 hộ được phỏng vấn) có xài CAP (nồng độ 100 g/tấn cá) và có 01 hộ (trong 09 hộ phỏng vấn) không xài AMX để trị bệnh cá, cho nên số liệu trung bình trên biểu đồ của CAP chỉ tính cho 01 hộ, và của AMX là tính cho 8/9 hộ.



Hình 2. Liều lượng KS sử dụng trong điều trị bệnh cá ở ba khu vực khảo sát. Liều lượng CAP được thể hiện bằng cột màu xám đậm và liều lượng AMX là cột xám nhạt. Giá trị liều lượng mỗi KS sử dụng thể hiện giá trị trung bình của các liều lượng KS tương ứng mà các hộ dân được phỏng vấn trong cùng khu vực khảo sát sử dụng. Thanh sai số thể hiện độ lệch chuẩn (SD).

Theo thông tin của các chuyên gia trong ngành NTTS tại trường Đại học Nông Lâm TP. HCM, hiện nay các công ty sản xuất thức ăn và thuốc thủy sản lớn đều tuân thủ qui định về KS trong

kinh doanh thức ăn và thuốc, vì vậy nhân viên bán hàng của các công ty đều thông tin tới người dân và hướng dẫn họ hướng tới sử dụng các thuốc trị bệnh có nguồn gốc từ thiên nhiên, ví dụ như chiết xuất từ tỏi (Hình 3). Tuy nhiên, tình hình tuân thủ qui định ở các cơ sở sản xuất nhỏ lẻ lại chưa được nắm rõ và cần điều tra trong các nghiên cứu tiếp theo. Hiện trạng này rất phù hợp với kết quả khảo sát về kinh nghiệm NTTS. Kết quả có thể cho thấy người nuôi cá bước đầu có hiểu biết về qui định sử dụng KS, biết được KS nào cấm sử dụng nhờ vào thông tin từ nhân viên tiếp thị của các công ty thức ăn và thuốc, từ đó hạn chế đưa vào sử dụng, và chỉ sử dụng khi họ thấy cần thiết (tức lúc cá bị bệnh). So với những nghiên cứu thực hiện gần đây cho thấy người dân chưa có nhận thức và hiểu biết nhiều về việc sử dụng KS (Lê Minh Long và ctv, 2015; Long và ctv, 2014) thì nghiên cứu hiện tại cho kết quả khởi sắc hơn.



Hình 3. Một sản phẩm thuốc có chiết xuất từ tỏi và không chứa các chất cấm sử dụng dùng trong NTTS đang được bán trên thị trường với số lưu hành 2341/TCTS-VP, có tác dụng phòng và trị bệnh đường tiêu hóa trên cá, tôm.

CAP và AMX theo đánh giá của Tổ chức Y tế thế giới (WHO) là loại KS rất quan trọng (highly important) và cực kì quan trọng (critically important) (World Health Organization, 2017). Tiêu chí để đánh giá tầm quan trọng của KS là (1) loại KS này là duy nhất, hoặc là một trong số ít những phương pháp trị liệu, để chữa nhiễm khuẩn nặng ở người; và (2) loại KS này được sử dụng để điều trị nhiễm trùng ở người do một trong hai nguyên nhân sau: (i) vi khuẩn có thể lây truyền cho người từ các nguồn không phải của con người, hoặc (ii) vi khuẩn có thể nhận được gen kháng bệnh từ nguồn không phải của con người. CAP được xếp là KS rất quan trọng vì đạt tiêu chí (2) nhưng không đạt tiêu chí (1), trong khi đó AMX đạt đủ hai tiêu chí. Điều này có thể chứng tỏ rằng CAP không phải là loại KS duy nhất có thể sử dụng để điều trị các loại bệnh cá đề cập ở trên. Vì vậy việc không dùng CAP trong NTTS là điều khả thi, và cần tìm ra các phương pháp khác để thay thế như chỉ sử dụng các loại KS trong danh mục cho phép sử dụng theo hướng dẫn kĩ thuật, sử dụng các thuốc có nguồn gốc từ tự nhiên hoặc chứa chiết xuất tự nhiên (Hình 3). và phổ biến rộng rãi hơn nữa thông tin tới người dân.

3.3. Dư lượng kháng sinh trong cơ thịt cá

Tổng cộng có 09 mẫu cá trước khi thu hoạch và 09 mẫu cá ngay khi thu hoạch được đem đi phân tích DLKS CAP và AMX trong cơ thịt (Bảng 1). Kết quả phân tích cho thấy không phát hiện DLKS của cả hai loại KS trong cơ thịt cá. Nhiều thực tế có thể là nguyên nhân dẫn đến kết quả này. Thứ nhất, số cá thể lấy mẫu là quá ít (03 cá thể cá tại mỗi địa điểm) do giới hạn về mặt kinh phí của nghiên cứu. Theo một nghiên cứu khác về DLKS trên cá ở Việt Nam, tỉ lệ phát hiện DLKS ở thịt cá chiếm 11% (Pham và ctv, 2015) với kích thước mẫu lớn (51 cá thể). Thứ hai, tại thời điểm thu mẫu cá, tác giả nhận thấy cá không bị bệnh. Đối chiếu với kết quả phỏng vấn cho thấy người dân chỉ sử dụng KS khi cá bị bệnh, nên xác suất phát hiện DLKS trên cơ thịt thấp. Thứ ba, CAP và AMX là hai loại KS có chu kì bán rã ngắn, lần lượt là 13,5 giờ và 61,3 phút (Gordon và ctv, 1972; Nguyễn Thanh Điền và Phùng Võ Cẩm Hồng, 2010). Theo đó, thời gian để bài thải hoàn toàn CAP ra khỏi cơ thể tôm được thí nghiệm là 120 giờ. Cuối cùng, độ nhạy của phép phân tích có thể là một nguyên nhân cho sự không phát hiện DLKS (ngưỡng phát hiện của CAP và AMX là 0,05 và 15 µg/kg). Kết quả phân

tích DLKS một lần nữa khẳng định lại nhận định về hiện trạng nhận thức của người nuôi cá đối với việc sử dụng KS. Tuy nhiên, cần tiến hành nghiên cứu với kích thước mẫu lớn hơn, ở nhiều địa điểm hơn và phân tích dư lượng của các KS thường hay sử dụng khác, như enrofloxacin, trimethoprim, và sulfadimethoxine, ... (Lê Minh Long và ctv, 2015) nhằm cung cấp bằng dữ liệu nền đầy đủ cho ngành nuôi cá lóc ở Việt Nam, giúp cho việc quản lí và định hướng phát triển ngành nghề này trong tương lai.

4. Kết Luận

Nghiên cứu này đã xác định được hiện trạng sử dụng hai loại KS cấm (CAP) và hạn chế sử dụng (AMX) trong các ao nuôi cá lóc thâm canh tại huyện Định Quán, Trảng Bom và thành phố Biên Hòa, tỉnh Đồng Nai. Trong quá trình nuôi, người nuôi cá không sử dụng hai loại KS này để phòng bệnh, nhưng có sử dụng để trị bệnh cá. Kết quả phân tích DLKS của CAP và AMX trong cơ thịt cá cũng cho thấy không có lượng tồn dư nào được phát hiện. Nghiên cứu còn phản ánh sự hạn chế của người nuôi trong quá trình tiếp cận thông tin về kĩ thuật nuôi, sử dụng thuốc và hóa chất, cũng như các qui định của pháp luật liên quan tới ngành. Cần triển khai các nghiên cứu tiếp theo khảo sát việc sử dụng tất cả các loại thuốc và hóa chất trong suốt quá trình nuôi trên diện rộng, cũng như đánh giá sự tồn lưu thuốc và hóa chất trong ao nuôi, và trong cơ thịt cá lóc nhằm cung cấp dữ liệu nền và làm cơ sở đề xuất giải pháp giảm các tác động xấu đến môi trường và đảm bảo tính bền vững của nghề nuôi cá lóc thâm canh.

Lời Cảm Ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi kinh phí đề tài khoa học và công nghệ cấp cơ sở mã số CS-CB16-MTTN-03 của trường Đại học Nông Lâm TP. HCM. Nhóm nghiên cứu chân thành cảm ơn Hợp tác xã Vĩnh Hưng, Biên Hòa, Đồng Nai và nhân viên tiếp thị công ty GREENFEED Việt Nam ở Định Quán, Đồng Nai đã hỗ trợ nhóm nghiên cứu trong quá trình phỏng vấn và thu mẫu cá để chúng tôi có thể hoàn thành nghiên cứu này.

Tài Liệu Tham Khảo

- [1] Ang Y.W.C., Liu F.F., Lay O.J., Luo W., McKim K., Gehring T., và Lochmann R.,

2000. *Liquid chromatographic analysis of incurred amoxicillin residues in catfish muscle following oral administration of the drug*. Journal of agricultural and food chemistry, 48(5), 1673-1677.
- [2] Ansari M., Raissy M., và Rahimi E., 2014. *Determination of florfenicol residue in rainbow trout muscles by HPLC in Chaharmahal va Bakhtiari Province, Iran*. Comparative Clinical Pathology, 23(1), 61-62.
- [3] Becker M., Zittlau E., và Petz M., 2004. *Residue analysis of 15 penicillins and cephalosporins in bovine muscle, kidney and milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry*. Analytica Chimica Acta, 520(1-2), 19-32.
- [4] Boxall B.A.A., Fogg L.A., Blackwell P.A., Blackwell P., Kay P., Pemberton E.J., và Croxford A., 2004. *Veterinary medicines in the environment*. In Reviews of environmental contamination and toxicology, (pp. 1-91): Springer.
- [5] Cañada-Cañada F., De La Pena A.M., và Espinosa-Mansilla A., 2009. *Analysis of antibiotics in fish samples*. Analytical and bio-analytical chemistry, 395(4), 987-1008.
- [6] De Francesco V., Giorgio F., Hassan C., Manes G., Vannella L., Panella C., Ierardi E., và Zullo A., 2010. *Worldwide H. pylori antibiotic resistance: a systematic review*. Journal of Gastrointestinal & Liver Diseases, 19(4).
- [7] Dowling M. Patricia., 2013. *Chloramphenicol, thiamphenicol, and florfenicol*. Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine, Fifth Edition, 269-277.
- [8] Gordon C.R., Regamey C., và Kirby M.M.W., 1972. *Comparative clinical pharmacology of amoxicillin and ampicillin administered orally*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 1(6), 504-507.
- [9] Hoa P.T.P., Managaki S., Nakada N., Takada H., Shimizu A., Anh D.H., Viet P.H., và Satoru S., 2011. *Antibiotic contamination and occurrence of antibiotic-resistant bacteria in aquatic environments of northern Vietnam*. Science of the Total Environment, 409(15), 2894-2901.
- [10] Lan N.T.P. (2013). *Social and ecological challenges of market-oriented shrimp farming in Vietnam*. SpringerPlus, 2(1), 675.
- [11] Lê Minh Long, Hans Bix, và Ngô Thụy Diễm Trang., 2015. *Sử dụng thuốc và hóa chất trong ao nuôi cá tra (Pangasianodon hypophthalmus) thâm canh ở Đồng Tháp, Việt Nam*. Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ, 18-25.
- [12] Lê Xuân Sinh và Đỗ Minh Chung., 2009. *Khảo sát các mô hình nuôi cá lóc (Channa micropelte và Channa striata) ở Đồng bằng sông Cửu Long*. Kỷ yếu hội nghị khoa học thủy sản toàn quốc, 436-447.
- [13] Long L.M., Hans B., Huong D.T.T., và Trang N.T.D. (2014). *Status of chemical and antibiotic use in intensive catfish Pangasianodon hypophthalmus farms in Can Tho city, Vietnam*. Journal of Science and Technology, 52(3A), 330-335.
- [14] Miller A.R. và Heather., (2018). *Antimicrobial drug resistance in fish pathogens*. Microbiology spectrum, 6(1).
- [15] Neuhaus K.B., Hurlbut A.J., và Hammack W., 2002. *LC/MS/MS analysis of chloramphenicol in shrimp*. Laboratory Information Bulletin, 4290, 1-13.
- [16] Nguyễn Thanh Điền và Phùng Võ Cẩm Hồng., 2010. *Khảo sát sự bài thải chloramphenicol trên tôm sú (Penaeus monodon) được nuôi trong điều kiện thí nghiệm bằng kỹ thuật LC/MS/MS*. In M. o. S. a. Technology (Ed.), National Biotechnology Conference in Southern VietNam, vol. 24 (pp. 149-152). Ho Chi Minh: VietNam Technology Publication.
- [17] Nguyễn Thị Kim Quyên, 2017. *Phân công lao động và vai trò của giới trong nuôi trồng thủy sản: Nghiên cứu trường hợp nuôi tôm sú quảng canh cải tiến ở tỉnh Bạc Liêu*. Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ, 51, 64-73.
- [18] Nguyen T.H.T. và Ford A., 2010. *Learning from the neighbors: economic and environmental impacts from intensive shrimp farming in the Mekong Delta of Vietnam*. Sustainability, 2(7), 2144-2162.

- [19] Pham K.D., Chu J., Do T.N., Brose F., Degand G., Delahaut P., De Pauw E., Douny C., Nguyen K.V., và Vu D.T., 2015. *Monitoring antibiotic use and residue in freshwater aquaculture for domestic use in Vietnam*. EcoHealth, 12(3), 480-489.
- [20] Thi Quách Văn Cao, Dung Từ Thanh, và Đặng Phạm Hòa Hiệp., 2014. *Hiện trạng kháng thuốc kháng sinh trên hai loài vi khuẩn Edwardsiella ictaluri và Aeromonas hydrophila gây bệnh trên cá tra (Pangasianodon hypophthalmus) ở Đồng bằng sông Cửu Long*. Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ, 2, 7-14.
- [21] Thông tư số 15/2009/TT-BNN ngày 17/3/2009 của Bộ trưởng Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 2009. *Ban hành Danh mục thuốc, hoá chất, kháng sinh cấm sử dụng, hạn chế sử dụng*.
- [22] Tổng Cục Thống Kê., 2017. *Nông, Lâm nghiệp và Thủy sản*. In Niên giám thống kê 2016, (trang. 421-529). Hà Nội: Nhà Xuất Bản Thống Kê.
- [23] Trương Quốc Phú và Trần Kim Tính, 2012. *Thành phần hóa học bùn đáy ao nuôi cá tra (Pangasianodon hypophthalmus) thâm canh*. Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ, 22a, 290-299.
- [24] Vũ Trung Tạng và Nguyễn Đình Mão, 2005. *Giáo trình ngư loại học*. TP. HCM: Nhà Xuất Bản Nông Nghiệp.
- [25] Wang W., Lin H., Xue C., và Khalid J., 2004. *Elimination of chloramphenicol, sulphamethoxazole and oxytetracycline in shrimp, Penaeus chinensis following medicated-feed treatment*. Environment International, 30(3), 367-373.
- [26] World Health Organization., 2017. *Critically important antimicrobials for human medicine: ranking of antimicrobial agents for risk management of antimicrobial resistance due to non-human use*.