

วิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงร่วมด้วยการตรวจวัดแบบฟลูออเรสเซนซ์ ถูกพัฒนาขึ้นสำหรับวิเคราะห์ยาปฏิชีวนะในกลุ่มของเตตราซัยคลินที่ตกค้างในน้ำผึ้ง การแยกออกซี้เตตราซัยคลิน คือออกซี้ซัยคลิน เตตราซัยคลิน และคลอเตตราซัยคลิน ด้วยเฟสคงที่ ชนิดคาร์บอน 8 และตัวพาของเหลวผสมระหว่าง 50% เมธานอล และสารละลายบัฟเฟอร์ โซเดียมอะซิเตต เข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ ประกอบด้วยไดโซเดียมอีดีทีเอ และแคลเซียมคลอไรด์ ที่พีเอชเท่ากับ 8.10 ตรวจวัดด้วยฟลูออเรสเซนซ์ ที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 518 นาโนเมตร (393 นาโนเมตรสำหรับการกระตุ้น) ใช้เวลาวิเคราะห์ 20 นาที จากวิธีดังกล่าวพบว่ากราฟมาตรฐานที่ได้มีค่าความเป็นเส้นตรงสูง (สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มากกว่า 0.995) ในช่วงความเข้มข้น 5–1000 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับตัวอย่างน้ำผึ้งถูกทำการสกัดด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ที่พีเอชเท่ากับ 4.0 หลังจากนั้นสกัดด้วยเฟสของแข็งชนิด HLB จากวิธีการดังกล่าวสามารถตรวจวิเคราะห์ ออกซี้เตตราซัยคลิน เตตราซัยคลิน และคลอเตตราซัยคลิน แต่ไม่สามารถตรวจวัดคือออกซี้ซัยคลินได้ ปริมาณต่ำสุดของการตรวจวัดของออกซี้เตตราซัยคลิน เตตราซัยคลิน และคลอเตตราซัยคลิน เท่ากับ 3.39 0.30 และ 4.68 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนปริมาณต่ำสุดของการวิเคราะห์ ของออกซี้เตตราซัยคลิน เตตราซัยคลิน และคลอเตตราซัยคลิน เท่ากับ 11.30 1.00 และ 15.60 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ร้อยละของการกลับคืน ออกซี้เตตราซัยคลิน เตตราซัยคลิน และคลอเตตราซัยคลิน ที่เติมในน้ำผึ้ง ที่ระดับความเข้มข้น 50 100 และ 200 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าค่าร้อยละของการกลับคืนสูงกว่า 80% ของทุกสาร วิธีการดังกล่าวสามารถนำไปตรวจวัดคุณภาพของตัวอย่างน้ำผึ้งจำนวน 5 ยี่ห้อที่วางขายตามท้องตลาดในจังหวัดเชียงใหม่ได้

A high performance liquid chromatography method utilizing fluorescence detection was developed to determine tetracycline residues in honey. The separation of four tetracycline residues; oxytetracycline, doxycycline, tetracycline and chlortetracycline, was observed on a reverse-phase C_8 column with a gradient elution. This mobile phase system consisted of 50% (v/v) methanol and 25 mM sodium acetate buffer which contained disodium ethylenediaminetetraacetate and calcium chloride with pH of 8.10. Fluorescence detection was observed at 518 nm (excitation wavelength at 393 nm) with analysis time of 20 minutes. Results showed that standard calibration curves for four tetracycline residues showed good linearities ($r^2 > 0.995$) in concentration range of 5-1000 ng/mL. For honey sample extraction, McIlvaine buffer with pH of 4.0 was used followed by HLB cartridge extraction. The proposed analytical method was able to analyze the presence of oxytetracycline, tetracycline and chlortetracycline but not for doxycycline. The limit of detections (LODs) were found to be equivalent to 3.39, 0.30 and 4.68 $\mu\text{g/kg}$, respectively, while the quantification of detections (LOQs) were 11.30, 1.00 and 15.60 $\mu\text{g/kg}$ for oxytetracycline, tetracycline and chlortetracycline, respectively. The recoveries of oxytetracycline, tetracycline and chlortetracycline from spiked samples at 50, 100 and 200 $\mu\text{g/kg}$ levels, were higher than 80% for all compounds. This analytical method was then successfully applied to evaluate the quality of 5 brands of honey commercially available in Chiang Mai markets.