

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์ MG และ LMG พร้อมกันในตัวอย่างสัตว์น้ำเพาะเลี้ยง ให้มีความถูกต้องแม่นยำสูง ด้วยการเตรียมตัวอย่างที่มีขั้นตอนง่ายและรวดเร็วขึ้น ใช้เตาอบไมโครเวฟในการสกัดและคลีนอัพ และวิเคราะห์ MG และ LMG ด้วยเทคนิค LC-MS/MS มีสารคริสตัลไวโอเล็ต (Crystal violet, CV) เป็น internal standard ที่ ion pairs ดังนี้ : MG 329.3/208.2, 329.3/313.1, LMG 331.3/165.4, 331.3/239.3 และ CV (internal standard) 372.2/356.3 วิเคราะห์ปริมาณด้วยวิธี standard addition method ร่วมกับ internal standard calibration method วิธีวิเคราะห์อีกวิธีหนึ่งคือการตรวจวิเคราะห์มาลาไคต์กรีน ลิวโคมาลาไคต์กรีน คริสตัลไวโอเล็ต ลิวโคคริสตัลไวโอเล็ต ตกค้างในสัตว์น้ำเพาะเลี้ยง เช่น ปลา กุ้ง พร้อมกันด้วยเทคนิค HPLC-DAD (multiwavelength) คอลัมน์ชนิด Zorbax stable bond C18, 150 x 4.6 mm, 5 μ m พร้อม guard column ชนิดเดียวกัน mobile phase คือ ammonium acetate buffer (0.05 M, pH 4.5) และ acetonitrile และใช้ gradient elution ตรวจวัดสารทั้งสองชนิดพร้อมกันด้วยเครื่องตรวจวัดแบบ diode array detector (DAD) ที่หลายความยาวคลื่นได้แก่ 618 nm (0.00-7.00 min), 585 nm (7.01-12.00 min), 265 nm (12.01-20.00 min) วิเคราะห์ปริมาณโดยอาศัย external calibration curve ของ total MG (ปริมาณ MG + LMG) และของ total CV (ปริมาณ CV + LCV)

In this study, the determination methods of Malachite green (MG) and its metabolite Leucomalachite green (LMG) were developed by introducing the fast and easy sample preparation using microwave oven assisted in extraction and clean-up step. In the LC-MS/MS determination technique, Crystal violet (CV) was used as the internal standard, the analysis performed at the following ion pairs: MG 329.3/208.2, 329.3/313.1, LMG 331.3/165.4, 331.3/239.3 and CV (internal standard) 372.2/356.3. The quantitative analysis was the combination of standard addition method and internal standard calibration curve. In the HPLC-DAD (multi-wavelength) technique to determine Malachite green, Leucomalachite green, Crystal violet and Leucocrystal violet (LCV) simultaneously, this study used Zorbax stable bond C18 column, 150 x 4.6 mm, 5 μ m with guard column, ammonium acetate buffer (0.05 M, pH 4.5) and acetonitrile as mobile phase with gradient elution, diode array as detector at time-programmed multi-wavelength: 618 nm (0.00-7.00 min), 585 nm (7.01-12.00 min), 265 nm (12.01-20.00 min). The quantitation method used the external calibration curve of the total MG (the amount of MG + LMG) and the total CV (the amount of CV + LCV).