

การพัฒนาและการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์สเฟสโครมาโทกราฟี  
ของเหลวสมรรถนะสูงเพื่อตรวจสอบเคอร์คิวมินไดเอทิลไดซั๊กซิเนต

นางสาวชญานุช	ราชมณี	5336517933
นางสาวศศิธร	มโนมัยวงศ์	5336573033
นางสาวสายพิรุณ	ศักดิ์เกรียงไกร	5336575233

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

โครงการปริญญาโทนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

เภสัชศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเภสัชกรรมเทคโนโลยี

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2557

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

Development and Validation of a Reversed Phase HPLC Method for  
Determination of Curcumin Diethyl Disuccinate

Chunyanuch	Rachamane	5336517933
Sasithorn	Manomaiwongse	5336573033
Saapiroon	Sakkriengkrai	5336575233



A Senior Project Submitted in Partial Fulfillment of the  
Requirement

for the Bachelor of Science Program in Pharmacy

Chulalongkorn University

2014

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

หัวข้อโครงการปริญญาานิพนธ์	การพัฒนาและการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีรีเวิร์สเฟส โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงเพื่อตรวจสอบ เคอร์คิวมินไดเอทิลไดซัคซิเนต		
นิสิตผู้ดำเนินโครงการ	นางสาวชญานุช ราชมณี	5336517933	
	นางสาวศศิธร มโนมัยวงศ์	5336573033	
	นางสาวสายพิรุณ ศักดิ์เกรียงไกร	5336575233	
สาขาวิชา/ภาควิชา	เภสัชกรรมเทคโนโลยี/อาหารและเภสัชเคมี		
อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญาานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ เภสัชกร ดร.พรชัย โรจน์สิทธิศักดิ์		
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิง นวลศรี นีวัตติ์วงศ์		

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้โครงการปริญญาานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง  
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต

.....คณบดี

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิง ดร.รุ่งเพชร สุกุลบำรุงศิลป์)

.....ประธานสาขาเภสัชกรรมเทคโนโลยี

(รองศาสตราจารย์ เภสัชกร ดร.ภาคภูมิ เต็งอำนวย)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญาานิพนธ์

(รองศาสตราจารย์ เภสัชกร ดร.พรชัย โรจน์สิทธิศักดิ์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(รองศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิง นวลศรี นีวัตติ์วงศ์)

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

โครงการลำดับที่ 1.10

ปีการศึกษา 2557

### บทคัดย่อปริญญาานิพนธ์

ชื่อโครงการ	:	การพัฒนาและการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์เฟสโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงเพื่อตรวจสอบเคอร์คิวมินไดเอทิลไดซัคซิเนต	
หัวหน้าโครงการ	:	นางสาวชญานุช ราชมณี	5336517933
ผู้ร่วมโครงการ	:	นางสาวศศิธร มโนมัยวงศ์	5336573033
	:	นางสาวสายพิรุณ ศักดิ์เกรียงไกร	5336575233
อาจารย์ที่ปรึกษา	:	รศ. ภก. ดร.พรชัย โรจน์สิทธิศักดิ์ รศ. ภญ. นवलศรี นิวัติศัยวงศ์	
สาขา/ภาควิชา	:	เภสัชกรรมเทคโนโลยี/อาหารและเภสัชเคมี	

Curcumin diethyl disuccinate (CDD) เป็นโปรดรักของ curcumin ที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นเพื่อเพิ่มความคงตัวและ bioavailability ของ curcumin และยังคงมีฤทธิ์ต้านการอักเสบและมะเร็งลำไส้ใหญ่ อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันยังไม่มียังวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ CDD ในวัตถุดิบที่สังเคราะห์ขึ้น ซึ่งมีความสำคัญในกระบวนการพัฒนายา ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาและตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ CDD ในวัตถุดิบที่สังเคราะห์ขึ้น ด้วยวิธีวิเคราะห์เฟสโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงตามข้อกำหนดของ USP ICH และ WHO ผลการทดลองพบว่าสภาวะที่มีประสิทธิภาพและเหมาะสมต่อการวิเคราะห์ CDD คือ ใช้คอลัมน์ Halo C18 (50 x 4.6 มิลลิเมตร, 2.7 ไมโครเมตร) เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วย acetonitrile:2% acetic acid ในสัดส่วนเท่ากับ 72:28 (% โดยปริมาตร) อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที และตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร ด้วยเครื่องตรวจวัดชนิด photodiode array โดยพีคของ CDD บนโครมาโตแกรมปรากฏอยู่ที่เวลาประมาณ 13 นาที จากการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์พบว่าวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้มีความจำเพาะสูง ไม่พบการรบกวนจากสารอื่นในพีคของ CDD ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ CDD ที่วิเคราะห์ได้กับพื้นที่ใต้พีคเป็นเส้นตรงในช่วง 2-10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9999 สำหรับความเที่ยงในเทอมของร้อยละของสัมประสิทธิ์ การแปรผันในวันเดียวกันมีค่าเท่ากับ 1.05 0.61 และ 0.48 ที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง (2 , 6 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ โดยความเที่ยงระหว่างวันมีค่าร้อยละของสัมประสิทธิ์การแปรผันที่ความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง ตามลำดับคือ 0.84 0.98 และ 0.44 ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์แสดงในเทอมของร้อยละของการคืนกลับมีค่าอยู่ระหว่าง 96.9 ถึง 100.2 นอกจากนี้พบว่าวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมีความคงทนต่อการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของเฟสเคลื่อนที่ จากผลการทดลองดังกล่าวสามารถสรุปได้ว่าวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมีความเหมาะสมสำหรับการนำไปใช้วิเคราะห์หาปริมาณ CDD เพื่อการควบคุมคุณภาพวัตถุดิบ CDD

คณะเภสัชศาสตร์

ลายมือชื่อนิสิต

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาานิพนธ์ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

### Abstract

**Senior project title** : Development and validation of a reversed phase HPLC method for determination of curcumin diethyl disuccinate

**Students' name** : Miss Chunyanuch Rachamane 5336517933  
Miss Sasithorn Manomaiwongse 5336573033  
Miss Saipiroon Sakkriengkrai 5336575233

**Advisor/Co-advisor** : Assoc. Prof. Pornchai Rojsitthisak, Ph.D.  
Assoc. Prof. Nuansri Niwattisaiwong

**Field/Department** : Pharmaceutical Technology/Food and Pharmaceutical Chemistry

Curcumin diethyl disuccinate (CDD) is a prodrug of curcumin, which has been developed to improve stability and bioavailability of curcumin. CDD possesses various biological activities including anti-inflammatory and anticancer activities. The aim of this study was to develop and validate a reversed-phase HPLC-PDA method for the determination of CDD in raw material in accordance with USP, ICH and WHO guidelines. The RP-HPLC analysis was carried out on a Halo C18 column (50×4.6 mm, 2.7 $\mu$ ) using acetonitrile and 2% acetic acid in the ratio of 72:28 (%v/v) as a mobile phase in isocratic elution mode. The mobile phase was delivered at flow rate of 1 mL/min and analytes were detected by photodiode array detector at 400 nm. The retention time of the CDD peak was 13 minutes. An absence of interfering peaks at the retention time of CDD indicated the specificity of the method. Linearity of the method was observed over the concentration range of 2 – 10  $\mu$ g/mL ( $r = 0.9999$ ). The percentage relative standard deviation (%RSD) values of intra-day assay were found to be 1.05, 0.61 and 0.48 for low, medium and high (2, 6 and 10  $\mu$ g/mL) concentrations of CDD, respectively. For inter-day assay, the %RSD values were found to be 0.84, 0.98 and 0.44 for low, medium and high concentrations, respectively. Analytical recovery of CDD was between 96.9 to 100.2%, suggesting the accuracy of the analytical method. Additionally, the method was robust for changes in the ratio of mobile phase. Hence, the developed method is suitable for the determination of CDD for quality control of CDD raw material.

Faculty of Pharmaceutical Sciences                      Student's signature .....

Chulalongkorn University                                  Advisor's signature .....

**บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด**

**The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.**

## คำนำ

ระบบคุณภาพในโรงงานอุตสาหกรรมยา เป็นการควบคุมเพื่อให้ผลิตภัณฑ์ยาที่ออกจากโรงงานมีคุณภาพและความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ขั้นตอนในการควบคุมคุณภาพจึงต้องเริ่มตั้งแต่ต้นทางของการผลิตจนถึงปลายทาง กระบวนการเริ่มต้นการควบคุมคุณภาพ เริ่มจากการควบคุมคุณภาพวัตถุดิบ โดยมีหัวข้อสำคัญคือ การวิเคราะห์หาปริมาณตัวยาสสำคัญ ดังนั้นวิธีที่ใช้ในการตรวจสอบหาปริมาณของวัตถุดิบ จึงจำเป็นต้องมีการตรวจสอบความถูกต้องและเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์

โครงการปริญญาโทฉบับนี้จึงได้ทำการพัฒนาและตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณของ curcumin diethyl disuccinate (โปรตีนของสารกลุ่ม curcuminoids) ที่มีประสิทธิภาพ รวดเร็ว และถูกต้อง เพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพของวัตถุดิบ curcumin diethyl disuccinate ที่สังเคราะห์ขึ้น และใช้เป็นแนวทางในการนำไปพัฒนาเป็นยาใหม่ในอนาคต

ทางคณะผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่างานวิจัยฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจจะศึกษาต่อไป

คณะผู้จัดทำ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

## กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาโครงการปริญญาโทฉบับนี้ ผู้ศึกษาขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ เกษัชร ดร.พรชัย โรจน์สิทธิศักดิ์ อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ เกษัชรหญิง นวลศรี นิวัตติ์วงศ์ และ อาจารย์ เกษัชร พัฒนชัย ลิ้มปิติ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำและช่วยตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องของโครงการนี้ ตลอดจนให้ความรู้และข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อโครงการนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ในภาควิชาอาหารและเกษตรเคมีที่กรุณาให้ความสะดวกในการทำโครงการนี้



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
คำนำ	ค
กิตติกรรมประกาศ	ง
สารบัญ	จ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ซ
บทที่	
1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหางานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	1
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 วิธีการดำเนินงานวิจัย	2
1.5 คำจำกัดความในงานวิจัย	3
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 Curcumin	4
2.2 Curcumin diethyl disuccinate	5
2.3 วิธีวิเคราะห์ที่เคยมี	5
2.4 Method validation	7
3 ระเบียบวิธีการดำเนินการวิจัย	8
3.1 สารเคมี	8
3.2 เครื่องมือ	9
3.3 แนวทางในการวิจัย	9
4 ผลการวิจัย	15
4.1 การพัฒนาสภาวะ HPLC ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณ curcumin diethyl disuccinate ในวัตถุดิบ	15
4.2 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ curcumin diethyl disuccinate ในวัตถุดิบ	17

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
5	สรุปลผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ
5.1	การพัฒนาสภาวะ HPLC ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณ curcumin diethyl disuccinate ในวัตฤติบ
5.2	การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ curcumin diethyl disuccinate ในวัตฤติบ
5.3	ข้อเสนอแนะ
	บรรณานุกรม
	ภาคผนวก
ก	ความเหมาะสมของระบบ
ข	ความจำเพาะเจาะจง
ค	ความสัมพันธ์เชิงเส้นและช่วงความเข้มข้นที่ใช้ในการวิเคราะห์
ง	ความแม่นยำและความเที่ยง
จ	ความคงทน



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 gradient program	6
ตารางที่ 2 ความเหมาะสมของระบบ	18
ตารางที่ 3 ความจำเพาะเจาะจงของสารละลายมาตรฐาน curcumin และ สารละลายมาตรฐาน curcumin diethyl disuccinate	19
ตารางที่ 4 ความสัมพันธ์เชิงเส้นของสารละลายมาตรฐาน curcumin diethyl disuccinate	20
ตารางที่ 5 ความแม่นยำและความเที่ยงภายในวันเดียวกัน/ต่างวันกันของ สารละลายมาตรฐาน curcumin diethyl disuccinate	22
ตารางที่ 6 ความคงทนของสารละลายมาตรฐาน curcumin diethyl disuccinate	22



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

## สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของ curcumin	4
รูปที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของ curcumin diethyl disuccinate	5
รูปที่ 3 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมที่มี curcumin diethyl disuccinate และ curcumin	16
รูปที่ 4 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน curcumin diethyl disuccinate 6 µg/mL	18
รูปที่ 5 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน curcumin 0.7 µg/mL	19
รูปที่ 6 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมที่มี curcumin diethyl disuccinate 6 µg/mL และ curcumin 0.7 µg/mL	19
รูปที่ 7 ความสัมพันธ์ระหว่าง peak area กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน curcumin diethyl disuccinate	21

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาทางวิจัย

ปัจจุบันการควบคุมคุณภาพถือเป็นหลักสำคัญในระบบคุณภาพของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตยา ดังจะเห็นได้จากที่มีการควบคุมด้านคุณภาพทั้งในด้านกฎหมายคือ หลักเกณฑ์และวิธีการที่ดีในการผลิตยา หรือ Good Manufacturing Practice (GMP) และมาตรฐานการรับรองต่างๆ เช่น ระบบบริหารคุณภาพ หรือ ISO 9001 เป็นต้น เพื่อให้อุตสาหกรรมการผลิตยามีมาตรฐานที่ถูกต้องและเหมาะสมกับการดำเนินงานในอุตสาหกรรม ซึ่งจะส่งผลถึงคุณภาพและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ รวมทั้งความปลอดภัยของผู้บริโภคผลิตภัณฑ์ นั่นคือผู้ป่วยที่เข้ายาตามโรงพยาบาล หรือร้านยาต่างๆ

การควบคุมคุณภาพต้องควบคุมตั้งแต่ขั้นตอนแรกจนถึงขั้นตอนสุดท้าย หรือตลอดทุกขั้นตอนของการผลิต สิ่งสำคัญที่จะต้องให้ความสำคัญจึงต้องเริ่มตั้งแต่การควบคุมคุณภาพที่ต้นทางของการผลิต หากคุณภาพของวัตถุดิบที่จะนำมาใช้ในอุตสาหกรรมไม่ได้มาตรฐาน ไม่มีคุณภาพ ไม่มีความปลอดภัย จึงเป็นไปได้เลยที่ผลิตภัณฑ์ที่ได้รับการผลิตออกมามีคุณภาพ ความปลอดภัย และประสิทธิภาพตามข้อกำหนด หัวข้อสำคัญที่ถุ่กนำมาใช้ประเมินตัววัตถุดิบคือ การวิเคราะห์หาปริมาณตัวยาสำคัญ ดังนั้นวิธีที่ใช้ในการตรวจสอบหาปริมาณของวัตถุดิบจัดเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญส่งผลถึงผลิตภัณฑ์ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการตรวจสอบความถูกต้องและเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ดังกล่าว

Curcumin diethyl disuccinate เป็นโปรดรัคของสารกลุ่ม curcuminoids ถูกสังเคราะห์ขึ้นเพื่อเพิ่มความคงตัว และ bioavailability แต่ยังคงให้ประสิทธิภาพในการรักษาต่างๆ เช่น ลดการอักเสบ รักษาผู้ที่เป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่ เป็นต้น ได้ดีเช่นเดียวกับ curcuminoids จึงมีความน่าสนใจที่จะนำมาพัฒนาเป็นยาใหม่ในอนาคต แต่เนื่องด้วยสารดังกล่าวเป็นสารสังเคราะห์จึงยังไม่มีวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องพัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณของ curcumin diethyl disuccinate รวมทั้งตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น เพื่อนำไปใช้ในการหาปริมาณ curcumin diethyl disuccinate ในวัตถุดิบต่อไป

### 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อพัฒนาและตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ curcumin diethyl disuccinate ในวัตถุดิบ

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

### 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1) พัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ curcumin diethyl disuccinate ในวัตถุดิบ
- 2) ตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ curcumin diethyl disuccinate ในวัตถุดิบที่พัฒนาขึ้น

### 1.4 วิธีการดำเนินงานวิจัย

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์และตรวจสอบความถูกต้องของวิธีรีเวิร์สเฟสโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (reversed phase HPLC method) เพื่อตรวจสอบ curcumin diethyl disuccinate ประกอบด้วยขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

- 1.4.1 ทบทวนวรรณกรรม เอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง
  - 1) ที่มาของ curcumin
  - 2) คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของ curcumin
  - 3) คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของ curcumin diethyl disuccinate
  - 4) งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ curcumin
  - 5) หลักการและทฤษฎีที่ใช้ในการทำการวิจัย
  - 6) คุณลักษณะของเครื่องมือ HPLC (UV-VIS เป็น detector)
  - 7) ส่วนประกอบต่างๆ ของเครื่องมือ
  - 8) หลักการทำงานของเครื่องมือ
- 1.4.2 เขียนโครงร่างงานวิจัย
- 1.4.3 เสนอโครงร่างเพื่อขออนุมัติดำเนินการวิจัยและทำการแก้ไขตามความเหมาะสม
- 1.4.4 การสังเคราะห์ curcumin และ curcumin diethyl disuccinate
- 1.4.5 การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ reversed phase HPLC เพื่อหา curcumin diethyl disuccinate ในวัตถุดิบ
  - 1) ขั้นตอนการเตรียมสารละลาย
  - 2) เลือกวิธีที่เหมาะสมและสภาวะที่จะนำมาใช้ในการทดลอง
- 1.4.6 ตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ curcumin diethyl disuccinate
  - 1) ความเหมาะสมของระบบ (system suitability)
  - 2) ความจำเพาะเจาะจง (specificity)
  - 3) ความเป็นเส้นตรง (linearity) และช่วงของการวัด (range)
  - 4) ความแม่นยำ (accuracy) และความเที่ยง (precision)
  - 5) ความคงทน (robustness)
- 1.4.7 วิเคราะห์ข้อมูลและสรุปผลการวิเคราะห์
- 1.4.8 นำเสนอผลงานและส่งรายงานฉบับสมบูรณ์

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

## 1.5 คำจำกัดความในงานวิจัย

### 1.5.1 ความแม่นยำ (accuracy)

เป็นความสอดคล้องกันระหว่างค่าที่ได้จากการวิเคราะห์กับค่าที่แท้จริง ในโครงการนี้ แสดงด้วย %recovery

### 1.5.2 ความเที่ยง (precision)

แสดงถึงความแปรปรวนของผลการวิเคราะห์ ซึ่งเกิดจากความผิดพลาดที่ไม่สามารถหาค่าได้ (random error) โดยแสดงด้วยค่า %RSD หรือ %CV ของการวิเคราะห์ในช่วงความเข้มข้นที่กำหนด

### 1.5.3 ความจำเพาะเจาะจง (specificity)

เป็นความสามารถของวิธีวิเคราะห์ที่สามารถวิเคราะห์สารที่ต้องการได้ โดยปราศจากการรบกวนจากสารอื่นที่คาดว่าจะมีในเนื้อตัวอย่าง (sample matrix) เช่น related substances, degradation products, excipients, impurities

### 1.5.4 ความสัมพันธ์เชิงเส้น (linearity)

เป็นความสามารถของวิธีวิเคราะห์ที่ให้ผลการวิเคราะห์เป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารที่มีอยู่จริงภายในช่วงความเข้มข้นที่กำหนด

### 1.5.5 ช่วงความเข้มข้นที่ใช้วิเคราะห์ (range)

แสดงถึงช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ค่าต่ำสุดจนถึงค่าสูงสุดของสารที่ต้องการวิเคราะห์ที่ให้ ความสัมพันธ์เชิงเส้น และสามารถวิเคราะห์ปริมาณสารดังกล่าวได้โดยมีความแม่นยำและความเที่ยงตามที่กำหนด

## 1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้วิธีวิเคราะห์ curcumin diethyl disuccinate ที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวิเคราะห์วัตถุพิษของสารชนิดนี้ในกระบวนการด้านการวิจัยและพัฒนา (เช่น ด้าน pharmaceuticals, formulation) และด้านการควบคุมคุณภาพยา

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR) เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

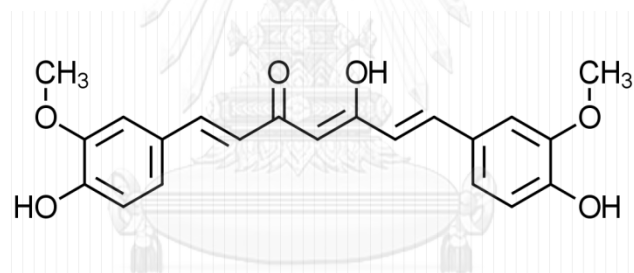
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR) are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 Curcumin

ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L. หรือ Turmeric) เป็นพืชในตระกูล Zingiberaceae พบสารสำคัญที่ส่วนหัวและเหง้า (rhizome) โดยสารสำคัญที่พบในเหง้าของขมิ้นชันประกอบด้วยสารหลัก 2 ประเภทคือ น้ำมันหอมระเหย ซึ่งมีสารประกอบหลักได้แก่ Aromatic Turmerone  $\alpha$ -Turmerone และ  $\beta$ -Turmerone และอีกประเภทหนึ่งคือ เคอร์คิวมินอยด์ (curcuminoids) ซึ่งเป็นสารสีส้ม ประกอบด้วย curcumin desmethoxycurcumin และ bis-desmethoxycurcumin [1] ขมิ้นชันเป็นพืชที่พบมากในประเทศไทย และคนส่วนใหญ่รู้จักเป็นอย่างดี สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย เช่น ลด cholesterol ป้องกันสารพิษที่เข้ามาในร่างกาย รักษาอาการอักเสบ รักษาแผล ฆ่าเชื้อรา รักษาผู้ติดเชื้อ HIV รวมถึงรักษาผู้ที่เป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่ นอกจากนี้ฤทธิ์ที่หลากหลายดังได้กล่าวข้างต้นแล้วยังมีอีกประเด็นหนึ่งที่ทำให้ curcuminoids มีความน่าสนใจที่จะนำมาวิเคราะห์คือ ความเป็นพิษต่ำในมนุษย์และสัตว์ [2]



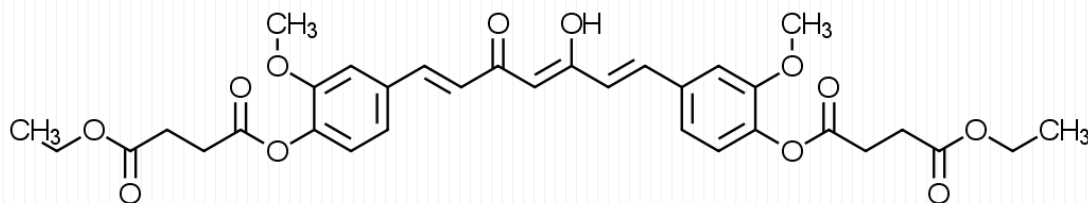
รูปที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของ curcumin

จากการค้นคว้างานวิจัยพบว่า curcuminoids เหล่านี้มีปัญหาคือ มี bioavailability ต่ำ ดังนั้นงานวิจัยของ Wichitnithad W. และคณะ จึงทำการสังเคราะห์สารที่เป็นโปรดรักจาก curcuminoids เหล่านี้เพื่อให้มีความคงตัว และ bioavailability เพิ่มขึ้น โดยใช้ succinic acid เชื่อมต่อกับสาร curcumin ด้วยพันธะ ester ดังรูปที่ 2 พบว่า curcumin diethyl disuccinate มีฤทธิ์ในการต้านเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ (Caco-2 cell, human colon adenocarcinoma) ที่ดีที่สุดและดีกว่า curcumin [2]

บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

## 2.2 Curcumin diethyl disuccinate



### รูปที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของ curcumin diethyl disuccinate

Curcumin diethyl disuccinate มีความคงตัวต่อการเกิดปฏิกิริยา hydrolysis มากกว่า curcumin ในสภาวะที่ใช้ phosphate buffer pH 7.4 อุณหภูมิ 37°C โดย curcumin diethyl disuccinate มีค่าครึ่งชีวิต 7.66 ชั่วโมง ขณะที่ curcumin มีค่าครึ่งชีวิตเพียง 0.56 ชั่วโมง นอกจากนี้ curcumin diethyl disuccinate ยังสามารถปลดปล่อย curcumin ออกมาได้เมื่ออยู่ในพลาสมาของมนุษย์ ซึ่งคาดว่าน่าจะเกิดจากกระบวนการ enzymatic hydrolysis โดยเอนไซม์ esterase ในพลาสมา [2]

ดังนั้น curcumin diethyl disuccinate ซึ่งเกิดจากการทำ succinylation ของสาร curcumin ซึ่งมีประสิทธิภาพด้านความคงตัวมากกว่า curcumin และสามารถปลดปล่อยให้ curcumin ออกมาในพลาสมาของมนุษย์ได้ ดังนั้น curcumin diethyl disuccinate จึงเป็นสารที่มีความน่าสนใจที่จะนำมาพัฒนาเป็นยาใหม่เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการรักษาโรคในอนาคตต่อไป

## 2.3 วิธีวิเคราะห์ที่เคยมี่

เนื่องจาก curcumin diethyl disuccinate นั้นเป็นสารใหม่ที่สังเคราะห์ขึ้น ทำให้การค้นคว้าวิธีวิเคราะห์หาปริมาณของ curcumin diethyl disuccinate จึงมีเพียงวิธี reversed phase HPLC โดยใช้ UV-VIS เป็น detector ที่ใช้ทดสอบความคงตัวและวิเคราะห์หาปริมาณของ curcumin diethyl disuccinate ในพลาสมามนุษย์ โดยใช้คอลัมน์ Alltech Alltima C18 (4.6 × 150 mm ขนาดอนุภาค 5 μ) ที่อุณหภูมิของคอลัมน์ 33°C ใช้อัตราการไหล 2.0 mL/min ตรวจวัดด้วย UV detector ที่ความยาวคลื่น 400 nm ปริมาตรของการฉีดสารแต่ละครั้งเป็น 20 μL ระยะเวลาในการฉีดแต่ละครั้งเป็น 15 นาที มีเฟสเคลื่อนที่เป็น acetonitrile:2% acetic acid โดยใช้ gradient ตามอัตราส่วนดังนี้

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



ตารางที่ 1 gradient program

Time (min)	Mobile phase ratio (%v/v)	
	Acetonitrile	2% Acetic acid
0 – 4	30	70
4 – 5	50	50
5 – 8	50	50
8 – 9	55	45
9 – 10	55	45
10 – 11	70	30
11 - 12	70	30
12 - 13	30	70
13 - 15	30	70

การใช้เฟสเคลื่อนที่แบบ gradient มีข้อเสียหลายประการ ประการแรกคือ มีความยุ่งยากในการทดลองมากกว่าวิธี isocratic ประการที่สอง เมื่อทำการทดลองติดต่อกันเป็นระยะเวลานานจะทำให้พีคที่เกิดขึ้นเกิดการเลื่อนไปจากตำแหน่งเดิม เนื่องจากอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่เกิดการเปลี่ยนแปลง ทำให้พีคของ analyte ปรากฏในเวลาที่แตกต่างกัน ซึ่งต้องอาศัยระยะเวลาในการทำให้คอลัมน์อิ่มตัวก่อนการฉีดสารในครั้งถัดไป ประการสุดท้าย การใช้เฟสเคลื่อนที่เช่นนี้กับเครื่องมือที่แตกต่างกันอาจทำให้มีความยุ่งยากในการนำไปใช้กับเครื่องอื่นๆ จึงนำข้อเสียทั้งหมดนี้มาเป็นข้อที่ควรพิจารณาในการปรับเปลี่ยนสถานะในการวิเคราะห์หาปริมาณของสาร curcumin diethyl disuccinate อีกทั้งวิธีการดังกล่าวยังไม่ผ่านการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีว่าเป็นวิธีที่มีความถูกต้อง เหมาะสม และสามารถนำไปใช้ในการหาปริมาณได้จริง [3]

จากการพิจารณาข้อเสียของการใช้เฟสเคลื่อนที่แบบ gradient ร่วมกับผลการทดลองจากงานวิจัยที่ได้ศึกษาค้นคว้ามานั้น จึงนำมาสู่การพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณของ curcumin diethyl disuccinate โดยใช้เฟสเคลื่อนที่แบบ isocratic ซึ่งมีข้อดีคือ การทดลองสามารถทำได้ง่าย ไม่ยุ่งยาก และในระหว่างทดลองอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่จะมีความนิ่งและเสถียรตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง ไม่ทำให้เกิดการเลื่อนไปของพีคสาร ไม่ต้องรอให้คอลัมน์อิ่มตัวในระหว่างการฉีดแต่ละครั้ง ซึ่งจะเห็นได้ว่าการใช้เฟสเคลื่อนที่แบบ isocratic สามารถแก้ไขปัญหาของการใช้เฟสเคลื่อนที่แบบ gradient ได้เป็นอย่างดี

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

อัตราส่วนเฟสเคลื่อนที่ที่เลือกใช้พิจารณาจากวิธีวิเคราะห์หาปริมาณของ curcumin ในสารสกัดไขมันชั้นของ Wichitnithad W. และคณะ มาใช้เป็นแนวทางในการพัฒนา ซึ่งเป็นวิธี reversed phase HPLC สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์คือ ไซโคลลัมน์ Alltech Alltima C18 (4.6 × 150 mm ขนาดอนุภาค 5 μ) ที่อุณหภูมิของคอลัมน์ 33°C ใช้อัตราการไหล 2.0 mL/min ตรวจวัดด้วย UV detector ที่ความยาวคลื่น 425 nm ปริมาตรของการฉีดสารแต่ละครั้งเป็น 20 μL ระยะเวลาในการฉีดแต่ละครั้งเป็น 15 นาที มีเฟสเคลื่อนที่เป็นแบบ isocratic โดยมีอัตราส่วน acetonitrile:2% acetic acid เท่ากับ 40:60 v/v พบว่าพีคของ curcumin ปรากฏที่เวลา 14 นาที [4] เมื่อพิจารณาร่วมกับวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ curcumin diethyl disuccinate ในการทดลองความคงตัวทางเคมีและการทดลองการหาปริมาณในพลาสม่ามนุษย์ดังที่ได้กล่าวข้างต้น

นอกจากนี้วิธีวิเคราะห์จำเป็นต้องมีการตรวจสอบความถูกต้อง ซึ่งระบบคุณภาพหรือระบบควบคุมคุณภาพในอุตสาหกรรมยาถือเป็นหัวใจหลัก เป็นการดำเนินการเพื่อให้มีมาตรฐานตามที่กำหนด โดยคำนึงถึงทุกขั้นตอนในโรงงานอุตสาหกรรม รวมทั้งปัจจัยต่างๆที่เกี่ยวข้อง ซึ่งจะต้องถูกควบคุมตรวจสอบอย่างเป็นระบบ ต่อเนื่อง และสม่ำเสมอ เพื่อให้มีคุณภาพและความปลอดภัย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในปัจจุบันมีการให้ความสำคัญกับคุณภาพและมาตรฐานความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ยาเป็นอย่างสูง มีการควบคุมทั้งในด้านกฎหมายและมาตรฐานการรองรับต่างๆ เพื่อรักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์ยาให้เป็นไปตามข้อกำหนดในทุกด้าน ในการควบคุมคุณภาพวัตถุดิบในโรงงานอุตสาหกรรมยา ก็เป็นหนึ่งในปัจจัยสำคัญด้านคุณภาพที่ต้องคำนึงถึง ดังนั้นวิธีการที่ใช้ในการหาปริมาณตัวยาสำคัญจึงต้องมีความถูกต้องเหมาะสม การที่จะทราบได้ว่าวิธีนั้นๆ มีความถูกต้องและเหมาะสมหรือไม่จำเป็นต้องมีการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์

#### 2.4 Method validation

จาก USP 36 และ ICH Q2(R1) การพัฒนาและตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์เทคนิค reversed phase HPLC เพื่อหาปริมาณตัวยาสำคัญในวัตถุดิบ ถือเป็นกรวิเคราะห์ใน category I ซึ่งแนะนำให้ตรวจสอบ 5 หัวข้อ คือ ความแม่นยำ ความเที่ยง ความจำเพาะเจาะจง ความเป็นเส้นตรง และช่วงของการวัด [5,6]

จากการค้นคว้างานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับวิธีวิเคราะห์ curcumin diethyl disuccinate ในวัตถุดิบ พบว่ายังไม่มีรายงานวิธีวิเคราะห์หาปริมาณของสารนี้ ดังนั้นคณะผู้จัดทำจึงเห็นสมควรว่าควรมีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์และตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น โดยงานวิจัยครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ต่อไปในการควบคุมคุณภาพของวัตถุดิบ curcumin diethyl disuccinate ดังกล่าว

**บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด**

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

## บทที่ 3

### ระเบียบวิธีการดำเนินการวิจัย

#### 3.1 สารเคมี

- 1) Curcumin diethyl disuccinate (98% purity) ได้มาจากการสังเคราะห์ที่ภาควิชาอาหารและเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประเทศไทย
- 2) สารมาตรฐาน Curcumin (100% purity) ได้มาจากการสังเคราะห์ที่ภาควิชาอาหารและเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประเทศไทย
- 3) Acetonitrile (HPLC grade) Burdick & Jackson สหรัฐอเมริกา
- 4) Methanol (HPLC grade) Burdick & Jackson สหรัฐอเมริกา
- 5) Formic acid (Reagent grade) EMSURE เม็กซีโก
- 6) Ultrapure water จาก Elgastat Maxima UF, ELGA อังกฤษ
- 7) Vanillin Sigma-Aldrich สหรัฐอเมริกา
- 8) Boron oxide Sigma-Aldrich สหรัฐอเมริกา
- 9) Acetylacetone Fluka สหรัฐอเมริกา
- 10) Tributyl borate Aldrich สหรัฐอเมริกา
- 11) *N*-butylamine (Acros, Belgium)
- 12) Triethylamine Fluka สหรัฐอเมริกา
- 13) Ethyl-4-chloro-4-oxobutyrate Aldrich สหรัฐอเมริกา
- 14) Sodium sulphate
- 15) Ethyl acetate
- 16) Chloroform
- 17) Acetonitrile Honeywell Burdick & Jackson สหรัฐอเมริกา
- 18) Acetic acid Mallinckrodt ไอร์แลนด์
- 19) Sodium chloride
- 20) Hydrochloric acid Merck เยอรมนี
- 21) Sodium hydroxide
- 22) Hydrogen peroxide Merck เยอรมนี

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

### 3.2 เครื่องมือ

- 1) High Performance Liquid Chromatograph, Shimadzu ประกอบด้วย Pump LC-20AD, Degasser DGU-20A3, Diode Array Detector SPD-M20A, Autoinjector SIL-20A, Column Oven CTO-20A และโปรแกรมประมวลผล Labsolutions Software Ver.5
- 2) Halo C18 Column, 4.6 x 50 mm, 2.7  $\mu$ , Advanced Materials Technology, Inc. สหรัฐอเมริกา
- 3) Analytical Balance, Mettler Toledo รุ่น A6245 สวิตเซอร์แลนด์
- 4) SevenCompact™ pH/Ion Meter, Mettler Toledo รุ่น S220 สวิตเซอร์แลนด์
- 5) Vortex-Genie® 2 Mixer Scientific Industries, Inc. สหรัฐอเมริกา

### 3.3 แนวทางในการวิจัย

ในการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ และการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ curcumin diethyl disuccinate โดยวิธี reversed phase HPLC ประกอบด้วยขั้นตอนต่างๆ โดยมีรายละเอียด ดังนี้

#### 3.3.1 การสังเคราะห์ curcumin และ curcumin diethyl disuccinate

##### 3.3.1.1 การสังเคราะห์ curcumin

- 1) เติม boron oxide (0.35 g) acetylacetone (1.1 mL) และ ethyl acetate (10 mL) ลงในขวดก้นกลม ผสมให้เข้ากัน โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70°C ด้วย magnetic stirrer และ water bath จนกระทั่งเกิดเป็นสารละลายที่มีตะกอนสีขาวขุ่น
- 2) นำขวดก้นกลมอีกใบ เติม vanillin (3 g) tributyl borate (10 mL) และ ethyl acetate (20 mL) ลงไป ผสมให้เข้ากัน โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50°C ด้วยวิธีการเดียวกันกับขวดก้นกลมขวดแรกจนกระทั่งเกิดเป็นสารละลายใส
- 3) นำตะกอนสีขาวขุ่นจากขวดก้นกลมใบแรกมาเติมลงในขวดก้นกลมในข้อที่สอง ปล่อยให้เกิดการทำปฏิกิริยาต่อไปจนกระทั่งได้สารละลายใส จึงนำขวดก้นกลมออกจาก water bath ที่ให้เย็น
- 4) เติม n-butylamine (0.4 mL) และ hydrochloric acid (0.5 N, 10 mL) คนผสมให้เข้ากันด้วย magnetic stirrer เป็นเวลา 30 นาที
- 5) แยกและสกัดชั้น organic ด้วย ethyl acetate (2 x 30 mL) นำชั้น organic ที่แยกมาได้รวมกัน หลังจากนั้นล้างชั้น organic ด้วยน้ำ และ saturated sodium chloride solution
- 6) ทำให้แห้งด้วย sodium sulfate และนำชั้น organic ไประเหยตัวทำละลายออกด้วย rotary evaporator ภายใต้ความดันต่ำ

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR) เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR) are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

- 7) นำ crude extract ที่ได้มาตกผลึกด้วย methanol ได้ curcumin มีลักษณะเป็นของแข็งสีส้มเหลือง

### 3.3.1.2 การสังเคราะห์ curcumin diethyl disuccinate

- 1) เติม curcumin (0.37 g) และ chloroform (15 mL) ลงในขวดกั่นกลมคนผสมบน ice bath จนกระทั่งได้สารละลายใส
- 2) เติม triethylamine (0.4 mL) และ ethyl-4-chloro-4-oxobutyrate (0.4 mL) ทำปฏิกิริยาต่ออีก 1 ชั่วโมง
- 3) ล้างสารผสมด้วยน้ำ และ saturated sodium chloride solution
- 4) ทำให้แห้งด้วย sodium sulfate และนำสารผสมไประเหยตัวทำละลายออกด้วย rotary evaporator ภายใต้ความดันต่ำ
- 5) นำ crude extract ที่ได้มาตกผลึกด้วย methanol ได้ curcumin diethyl disuccinate มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง

### 3.3.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานของ curcumin diethyl disuccinate และ curcumin

#### 3.3.2.1 การเตรียม standard stock solution ของ curcumin diethyl disuccinate และ curcumin

- 1) การเตรียม standard stock solution 1 ของ curcumin diethyl disuccinate

ชั่งสารมาตรฐาน curcumin diethyl disuccinate (98% purity) 1 mg ละลายใน methanol ให้มีปริมาตร 1000  $\mu$ L ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จะได้สารละลายมาตรฐานที่มี curcumin diethyl disuccinate ในความเข้มข้น 1 mg/mL

- 2) การเตรียม standard stock solution 2 ของ curcumin diethyl disuccinate

ปิเปต standard stock solution 1 ของ curcumin diethyl disuccinate 100  $\mu$ L เจือจางใน methanol ให้มีปริมาตร 1000  $\mu$ L ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จะได้สารละลายมาตรฐานที่มี curcumin diethyl disuccinate ในความเข้มข้น 100  $\mu$ g/mL

- 3) การเตรียม standard stock solution 1 ของ curcumin

ชั่งสารมาตรฐาน curcumin (100% purity) 1 mg ละลายใน methanol ให้มีปริมาตร 1000  $\mu$ L ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จะได้สารละลายมาตรฐานที่มี curcumin ในความเข้มข้น 1 mg/mL

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR) เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR) are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

#### 4) การเตรียม standard stock solution 2 ของ curcumin

ปิเปต standard stock solution 1 ของ curcumin 100  $\mu\text{L}$  เจือจางใน methanol ให้ได้ปริมาตร 1000  $\mu\text{L}$  ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จะได้สารละลายมาตรฐานที่มี curcumin ในความเข้มข้น 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$

#### 3.3.2.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานผสมสำหรับตรวจสอบความเหมาะสมของระบบ

ปิเปต standard stock solution 2 ของ curcumin diethyl disuccinate 60  $\mu\text{L}$  และ standard stock solution 2 ของ curcumin 7  $\mu\text{L}$  เจือจางใน methanol ให้มีปริมาตร 1000  $\mu\text{L}$  ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จะได้สารละลายมาตรฐานผสมที่มี curcumin diethyl disuccinate ในความเข้มข้น 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  และ curcumin ในความเข้มข้น 0.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$

#### 3.3.2.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐานสำหรับตรวจสอบความจำเพาะเจาะจง

##### 1) การเตรียมสารละลายมาตรฐานของ curcumin diethyl disuccinate

ปิเปต standard stock solution 2 ของ curcumin diethyl disuccinate 60  $\mu\text{L}$  เจือจางใน methanol ให้มีปริมาตร 1000  $\mu\text{L}$  ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จะได้สารละลายมาตรฐานที่มี curcumin diethyl disuccinate ในความเข้มข้น 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$

##### 2) การเตรียมสารละลายมาตรฐานของ curcumin

ปิเปต standard stock solution 2 ของ curcumin 7  $\mu\text{L}$  เจือจางใน methanol ให้มีปริมาตร 1000  $\mu\text{L}$  ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จะได้สารละลายมาตรฐานที่มี curcumin ในความเข้มข้น 0.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$

##### 3) การเตรียมสารละลายมาตรฐานผสม

ปิเปต standard stock solution 2 ของ curcumin diethyl disuccinate 60  $\mu\text{L}$  และ standard stock solution 2 ของ curcumin 7  $\mu\text{L}$  เจือจางใน methanol ให้มีปริมาตร 1000  $\mu\text{L}$  ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จะได้สารละลายมาตรฐานผสมที่มี curcumin diethyl disuccinate ในความเข้มข้น 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  และ curcumin ในความเข้มข้น 0.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



### 3.3.2.4 การเตรียมสารละลายมาตรฐานสำหรับตรวจสอบความสัมพันธ์เชิงเส้นและช่วงความเข้มข้น

ปิเปต standard stock solution 2 ของ curcumin diethyl disuccinate 20, 40, 60, 80 และ 100  $\mu\text{L}$  เจือจางใน methanol ให้ได้ปริมาตรแต่ละอันเท่ากับ 1000  $\mu\text{L}$  ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จะได้สารละลายมาตรฐานที่มี curcumin diethyl disuccinate ในความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ตามลำดับ

### 3.3.2.5 การเตรียมสารละลายมาตรฐานสำหรับตรวจสอบความแม่นยำและความเที่ยง

ปิเปต standard stock solution 2 ของ curcumin diethyl disuccinate 20, 60 และ 100  $\mu\text{L}$  เจือจางใน methanol ให้ได้ปริมาตรแต่ละอันเท่ากับ 1000  $\mu\text{L}$  ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จะได้สารละลายมาตรฐานที่มี curcumin diethyl disuccinate ในความเข้มข้น 2, 6 และ 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ตามลำดับ

### 3.3.2.6 การเตรียมสารละลายมาตรฐานสำหรับตรวจสอบความคงทน

ปิเปต standard stock solution 2 ของ curcumin diethyl disuccinate 60  $\mu\text{L}$  เจือจางใน methanol ให้มีปริมาตร 1000  $\mu\text{L}$  ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จะได้สารละลายมาตรฐานที่มี curcumin diethyl disuccinate ในความเข้มข้น 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$

### 3.3.3 การพัฒนาสภาวะ HPLC ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณ curcumin diethyl disuccinate ในวัตถุดิบ

พัฒนาวิธีวิเคราะห์โดยการหา HPLC chromatographic condition ที่เหมาะสมซึ่งสามารถหาปริมาณ curcumin diethyl disuccinate ในวัตถุดิบได้ ดังนี้

ฉีดสารละลายมาตรฐาน curcumin diethyl disuccinate 20  $\mu\text{L}$  จำนวน 3-6 ครั้ง เข้าเครื่อง HPLC ภายใต้สภาวะของเครื่องดังนี้

คอลัมน์	:	Halo C18, 4.6 x 50 mm, ขนาดอนุภาค 2.7 $\mu\text{m}$ , Advanced Materials Technology, Inc. สหรัฐอเมริกา
อุณหภูมิของคอลัมน์	:	33°C
เฟสเคลื่อนที่	:	acetonitrile:2% acetic acid (72:28 v/v)
อัตราการไหล	:	1.0 mL/min
เครื่องตรวจวัด	:	diode array detector, 400 nm
ปริมาตรที่ฉีด	:	20 $\mu\text{L}$
ระยะเวลาในการฉีด	:	15 นาที

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

บันทึกโครมาโตแกรม โดยใช้โปรแกรมประมวลผลหาค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ได้แก่ retention time peak area resolution tailing factor capacity factor และ number of theoretical plates

### 3.3.4 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ curcumin diethyl disuccinate ในวัตถุดิบ

ก่อนเริ่มทำการทดสอบทุกครั้ง ควรปล่อยให้เฟสเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์และระบบของเครื่องประมาณ 30-60 นาที เพื่อให้คอลัมน์อิ่มตัวไปด้วยเฟสเคลื่อนที่ โดยสังเกตจาก baseline ที่ได้จะค่อนข้างเรียบ

#### 3.3.4.1 ความเหมาะสมของระบบ

ฉีดสารละลายมาตรฐานผสมที่มี curcumin diethyl disuccinate ในความเข้มข้น 6  $\mu\text{g/mL}$  และ curcumin ในความเข้มข้น 0.7  $\mu\text{g/mL}$  เข้าเครื่อง HPLC บันทึกโครมาโตแกรม ทำซ้ำ 5 ครั้ง หาค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ได้แก่ retention time peak area resolution tailing factor และ number of theoretical plates

#### 3.3.4.2 ความจำเพาะเจาะจง

- 1) ฉีดสารละลายมาตรฐาน curcumin diethyl disuccinate ความเข้มข้น 6  $\mu\text{g/mL}$  เข้าเครื่อง HPLC บันทึกโครมาโตแกรม ทำซ้ำ 3 ครั้ง หาค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ได้แก่ retention time และ peak area
- 2) ฉีดสารละลายมาตรฐาน curcumin ความเข้มข้น 0.7  $\mu\text{g/mL}$  เข้าเครื่อง HPLC บันทึกโครมาโตแกรม ทำซ้ำ 3 ครั้ง หาค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ได้แก่ retention time และ peak area
- 3) ฉีดสารละลายมาตรฐานผสมที่มี curcumin diethyl disuccinate ในความเข้มข้น 6  $\mu\text{g/mL}$  และ curcumin ในความเข้มข้น 0.7  $\mu\text{g/mL}$  เข้าเครื่อง HPLC บันทึกโครมาโตแกรม ทำซ้ำ 3 ครั้ง หาค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ได้แก่ retention time และ peak area เทียบกับสารละลายมาตรฐาน curcumin diethyl disuccinate ความเข้มข้น 6  $\mu\text{g/mL}$  และสารละลายมาตรฐาน curcumin ความเข้มข้น 0.7  $\mu\text{g/mL}$

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



### 3.3.4.3 ความสัมพันธ์เชิงเส้นและช่วงความเข้มข้นที่ใช้ในการวิเคราะห์

ฉีดสารละลายมาตรฐาน curcumin diethyl disuccinate ความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10  $\mu\text{g/mL}$  ตามลำดับ เข้าเครื่อง HPLC โดยฉีดซ้ำความเข้มข้นละ 3 ครั้ง บันทึกโครมาโตแกรม นำค่าเฉลี่ยของ peak area ในแต่ละความเข้มข้นมาหาสมการแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน curcumin diethyl disuccinate กับ peak area พร้อมค่า correlation coefficient (r) และช่วงความเข้มข้นที่ยังคงให้ความสัมพันธ์เชิงเส้น

### 3.3.4.4 ความแม่นยำและความเที่ยง

ฉีดสารละลายมาตรฐาน curcumin diethyl disuccinate ความเข้มข้น 2, 6 และ 10  $\mu\text{g/mL}$  ตามลำดับ เข้าเครื่อง HPLC โดยฉีดซ้ำความเข้มข้นละ 3 ครั้ง บันทึกโครมาโตแกรม นำ peak area มาคำนวณหาความเข้มข้นของ curcumin diethyl disuccinate ในสารละลาย โดยใช้สมการที่แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของ curcumin diethyl disuccinate กับ peak area

- 1) ความแม่นยำภายในวันเดียวกัน - ทำซ้ำ 6 ครั้ง ภายในวันเดียวกัน คำนวณหา %recovery ในทุกความเข้มข้น
- 2) ความแม่นยำต่างวันกัน - ทำซ้ำ 3 วัน คำนวณหา %recovery ในทุกความเข้มข้น
- 3) ความเที่ยงภายในวันเดียวกัน - ทำซ้ำ 6 ครั้ง ภายในวันเดียวกัน คำนวณหา %RSD ในทุกความเข้มข้น
- 4) ความเที่ยงต่างวันกัน - ทำซ้ำ 3 วัน คำนวณหา %RSD ในทุกความเข้มข้น

### 3.3.4.5 ความคงทน

ฉีดสารละลายมาตรฐาน curcumin diethyl disuccinate ความเข้มข้น 6  $\mu\text{g/mL}$  เข้าเครื่อง HPLC โดยปรับอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ต่างไปจากสภาวะปกติของเครื่อง HPLC คือ acetonitrile:2% acetic acid จาก 72:28 เป็น 64:36, 66:34, 68:32, 69:31, 70:30, 72:28, 74:26, 76:24, 78:22 และ 80:20 ตามลำดับ บันทึกโครมาโตแกรม ทำซ้ำ 3 ครั้งในแต่ละอัตราส่วน หาค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ได้แก่ retention time resolution tailing factor และ capacity factor

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

#### 4.1 การพัฒนาสถานะ HPLC ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณ curcumin diethyl disuccinate ในวัตถุดิบ

จากการค้นคว้างานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับวิธีวิเคราะห์หาปริมาณของ curcumin diethyl disuccinate เนื่องจากสารดังกล่าวเป็นสารสังเคราะห์ใหม่ จึงพบเพียงวิธี HPLC โดยใช้ UV-VIS เป็น detector ในงานวิจัยเกี่ยวกับความคงตัวของ curcumin และ curcumin diethyl disuccinate และการศึกษาการปลดปล่อยของ curcumin diethyl disuccinate ในพลาสมามนุษย์ เท่านั้น แต่อย่างไรก็ตามจากงานวิจัยข้างต้นก็สามารถนำมาปรับและประยุกต์ใช้ในการศึกษาวิจัยได้ ซึ่งในงานวิจัยนี้จะทดสอบตามสถานะที่กล่าวมาข้างต้น โดยใช้เฟสเคลื่อนที่แบบ gradient

เนื่องจากข้อเสียของการใช้เฟสเคลื่อนที่แบบ gradient ที่กล่าวมาข้างต้น จึงทำให้เมื่อจะพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ ต้องนำข้อเสียเหล่านี้มาพิจารณาในการปรับเปลี่ยนสถานะในการวิเคราะห์หาปริมาณของสาร curcumin diethyl disuccinate ด้วย อีกทั้งวิธีการดังกล่าวยังไม่ผ่านการตรวจสอบว่าเป็นวิธีที่มีความถูกต้อง เหมาะสม และสามารถนำไปใช้ในการหาปริมาณได้จริง

เมื่อนำข้อเสียของการใช้เฟสเคลื่อนที่แบบ gradient ร่วมกับผลการทดลองจากงานวิจัยที่ได้ศึกษาค้นคว้ามาพิจารณา จึงนำมาสู่การพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณของ curcumin diethyl disuccinate โดยใช้เฟสเคลื่อนที่แบบ isocratic ซึ่งมีข้อดีที่สามารถแก้ไขปัญหาของการใช้เฟสเคลื่อนที่แบบ gradient ได้ คือระหว่างทดลอง baseline จะมีความนิ่งและเสถียรตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง จึงเลือกที่จะพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณของ curcumin diethyl disuccinate โดยใช้เฟสเคลื่อนที่แบบ isocratic ดังที่ได้กล่าว

อัตราส่วนเฟสเคลื่อนที่ที่เลือกใช้พิจารณาจากวิธีวิเคราะห์หาปริมาณของ curcumin ในสารสกัดขมิ้นชันของ Wichitnithad W. และคณะ มาใช้เป็นแนวทางในการพัฒนา โดยคำนึงถึงการชะออกมาของ curcumin เป็นหลัก เนื่องจาก curcumin เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ curcumin diethyl disuccinate นอกจากนี้จากงานวิจัยยังพบว่า curcumin diethyl disuccinate สามารถสลายตัวเกิดเป็น curcumin ได้ ดังนั้นจึงอาจมี curcumin ปนเปื้อนอยู่ในวัตถุดิบ

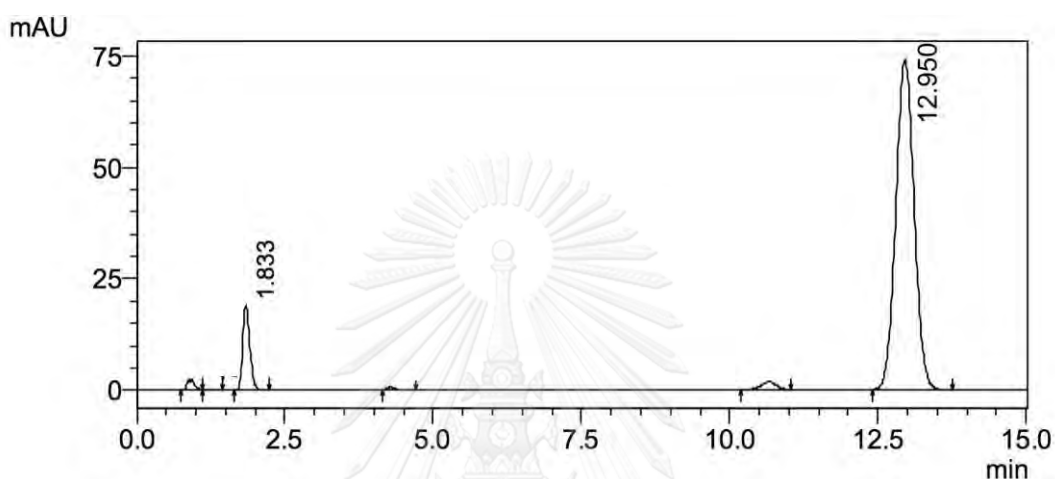
วิธีวิเคราะห์หาปริมาณในงานวิจัยข้างต้นเป็นวิธี reversed phase HPLC สถานะที่ใช้ในการวิเคราะห์คือ ใช้คอลัมน์ Alltech Alltima C18 (4.6 × 150 mm ขนาดอนุภาค 5 μ) ที่อุณหภูมิของคอลัมน์ 33°C ใช้อัตราการไหล 2.0 mL/min ตรวจวัดด้วย UV detector ที่ความยาวคลื่น 425 nm ปริมาตรของการฉีดสารแต่ละครั้งเป็น 20 μL ระยะเวลาในการฉีดแต่ละครั้งเป็น 15 นาที มีเฟสเคลื่อนที่เป็นแบบ isocratic โดยมีอัตราส่วน acetonitrile:2% acetic acid เท่ากับ 40:60 พบว่าพีคของ curcumin ปรากฏที่เวลา 14 นาที และเมื่อพิจารณาเกี่ยวกับการทดลองความคงตัวของ **บทความและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาฯ (CUIR)**

**เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด**

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

curcumin และ curcumin diethyl disuccinate ดังที่ได้กล่าวถึงมาแล้ว จึงทำการปรับอัตราส่วน acetonitrile:2 % acetic Acid ให้มีความเหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณ curcumin diethyl disuccinate โดยเพิ่มสัดส่วนของ acetonitrile เพื่อให้ curcumin ถูกชะออกมาเร็วขึ้น ส่วน curcumin diethyl disuccinate ก็จะถูกชะออกมาในเวลาที่เหมาะสม ไม่ช้าและไม่เร็วเกินไป จนเกิดการซ้อนทับกับพีคของ curcumin พบว่า retention time ของ curcumin ประมาณ 1.8 นาที และ retention time ของ curcumin diethyl disuccinate ประมาณ 13 นาที นั้นสามารถแยกสาร 2 ตัวออกจากกันได้ ดังโครมาโตแกรม รูปที่ 3



รูปที่ 3 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมที่มี curcumin diethyl disuccinate และ curcumin

สถานะที่พัฒนาได้เป็นดังนี้

คอลัมน์	:	Halo C18, 4.6 x 50 mm, ขนาดอนุภาค 2.7 $\mu$ , Advanced Materials Technology, Inc. อเมริกา
อุณหภูมิของคอลัมน์	:	33 $^{\circ}$ C
เฟสเคลื่อนที่	:	Acetonitrile:2% Acetic Acid (72:28 v/v)
อัตราการไหล	:	1.0 mL/min
เครื่องตรวจวัด	:	Diode Array Detector, 400 nm
ปริมาตรที่ฉีด	:	20 $\mu$ L
ระยะเวลาในการฉีด	:	15 นาที

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

## 4.2 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ curcumin diethyl disuccinate ในวัตถุดิบ

### 4.2.1 เกณฑ์ในการตัดสิน [7]

- 1) %RSD ( $n=5$ ) ของ peak area curcumin diethyl disuccinate  $\leq 1$
- 2) %RSD ( $n=5$ ) ของ retention time ของพีค curcumin diethyl disuccinate  $\leq 1$
- 3) resolution ระหว่างพีคของสารที่อยู่ติดกับ curcumin diethyl disuccinate  $> 2$
- 4) tailing factor ของพีค curcumin diethyl disuccinate  $\leq 2$
- 5) capacity factor ของพีค curcumin diethyl disuccinate อยู่ในช่วง 2-20
- 6) number of theoretical plates ของพีค curcumin diethyl disuccinate  $> 2,000$
- 7) %RSD ( $n=3$ ) ของ peak area curcumin diethyl disuccinate  $\leq 2$
- 8) %RSD ( $n=3$ ) ของ retention time ของพีค curcumin diethyl disuccinate  $\leq 2$
- 9) %RSD ( $n=3$ ) ของ peak area curcumin  $\leq 2$
- 10) %RSD ( $n=3$ ) ของ retention time ของพีค curcumin  $\leq 2$
- 11) %recovery ของ curcumin diethyl disuccinate แต่ละความเข้มข้นอยู่ในช่วง 95-105%
- 12) correlation coefficient ( $r$ ) ของ calibration curve  $\geq 0.9995$

### 4.2.2 ความเหมาะสมของระบบ

ตรวจสอบความเหมาะสมของระบบ โดยฉีดสารละลายมาตรฐานผสมที่มี curcumin diethyl disuccinate ความเข้มข้น 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  และ curcumin ความเข้มข้น  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข้าเครื่อง HPLC ทำการวิเคราะห์ 4 วัน วันละ 5 ครั้ง ได้ค่าเฉลี่ยของ retention time peak area resolution tailing factor และ number of theoretical plates ดังตารางที่ 2

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

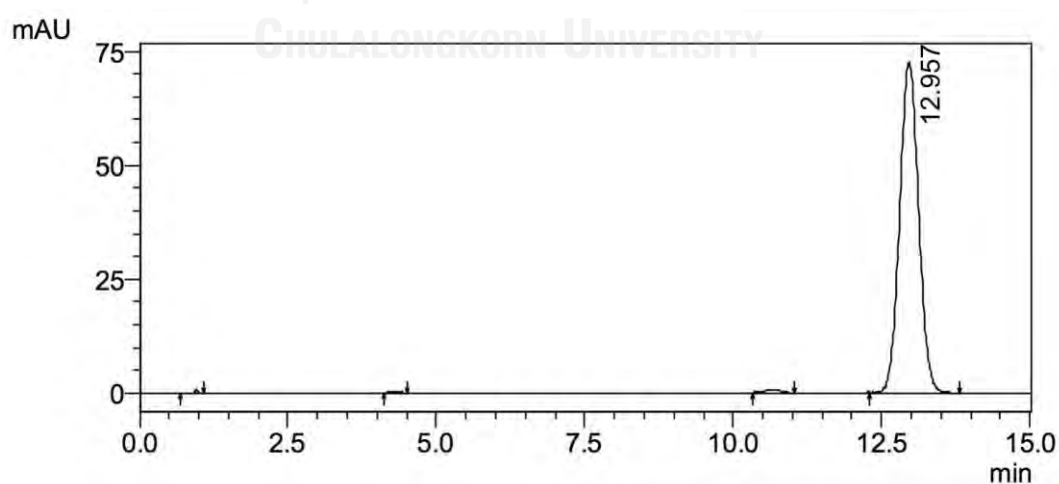
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตารางที่ 2 ความเหมาะสมของระบบ

Mean (%RSD) n=5					
Day	Retention time (min)	Peak area	Resolution	Tailing factor	Number of theoretical plates
Day 1	12.89 (0.26)	1585418.2 (0.67)	3.95 (2.50)	1.063 (0.29)	7460.24 (0.40)
Day 2	12.86 (0.11)	1561222.6 (0.55)	4.63 (0.78)	1.054 (0.26)	9379.43 (0.08)
Day 3	12.83 (0.02)	1607783.8 (0.45)	4.33 (1.03)	1.058 (0.18)	8372.60 (0.18)
Day 4	12.95 (0.05)	1586296.6 (0.55)	4.24 (1.21)	1.050 (0.28)	8104.86 (1.72)

4.2.3 ความจำเพาะเจาะจง

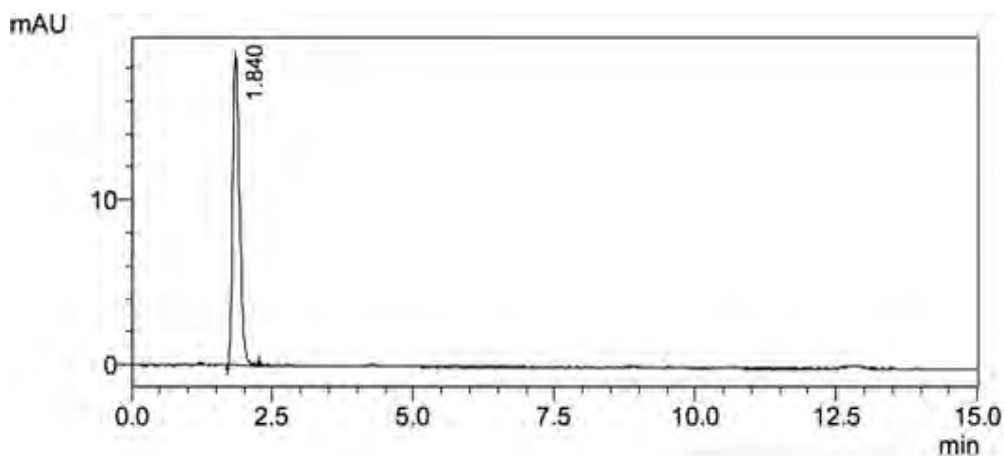
ตรวจสอบความจำเพาะเจาะจง โดยฉีดสารละลายมาตรฐาน 3 ชนิด ได้แก่ สารละลายมาตรฐานของ curcumin diethyl disuccinate ความเข้มข้น 6  $\mu\text{g/mL}$  สารละลายมาตรฐาน curcumin ความเข้มข้น 0.7  $\mu\text{g/mL}$  และสารละลายมาตรฐานผสมที่มี curcumin diethyl disuccinate ความเข้มข้น 6  $\mu\text{g/mL}$  และ curcumin ความเข้มข้น 0.7  $\mu\text{g/mL}$  เข้าเครื่อง HPLC ทำการวิเคราะห์ชนิดละ 3 ครั้ง ได้โครมาโตแกรมดังรูปที่ 4, 5 และ 6 ได้ค่าเฉลี่ยของ retention time และ peak area ดังตารางที่ 3



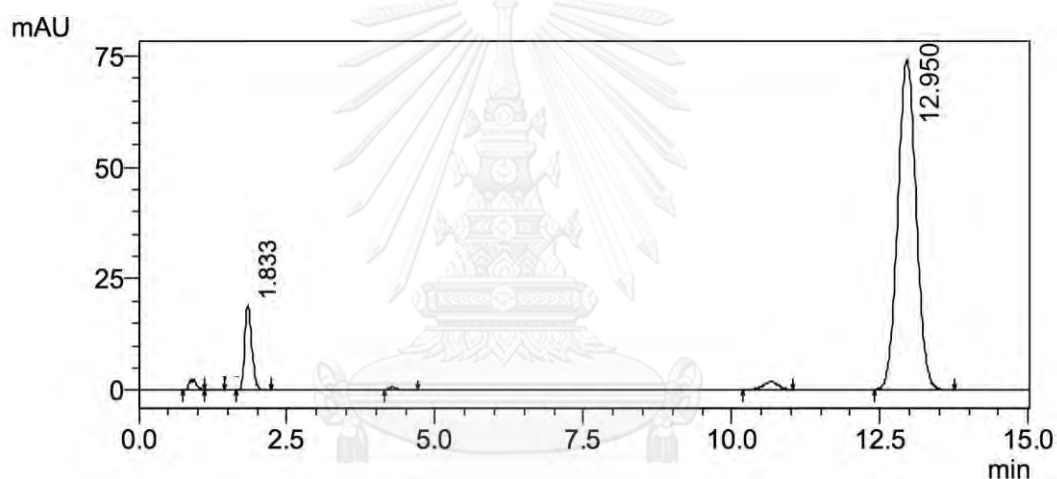
รูปที่ 4 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน curcumin diethyl disuccinate 6  $\mu\text{g/mL}$

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR) เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR) are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 5 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน curcumin 0.7  $\mu\text{g/mL}$



รูปที่ 6 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมที่มี curcumin diethyl disuccinate 6  $\mu\text{g/mL}$  และ curcumin 0.7  $\mu\text{g/mL}$

ตารางที่ 3 ความจำเพาะเจาะจงของสารละลายมาตรฐาน curcumin และสารละลายมาตรฐาน curcumin diethyl disuccinate

Mean (%RSD) $n=3$	Standard Curcumin	Standard CDD	Standard CDD spiked Standard Curcumin	
			CDD	Curcumin
Peak area	160045.7 (0.13)	1617608.3 (1.67)	1604210.3 (0.23)	160637.0 (0.51)
Retention time (min)	1.85 (0.30)	12.95 (0.08)	12.96 (0.05)	1.84 (0.27)

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



เมื่อทำการเปรียบเทียบโครมาโตแกรมของสารทั้ง 3 ชนิด แสดงให้เห็นว่าพีคของ curcumin ไม่รบกวนที่ตำแหน่งเดียวกับ curcumin diethyl disuccinate นอกจากนี้เมื่อนำค่าพื้นที่ใต้พีคของ curcumin diethyl disuccinate ในสารละลายมาตรฐานของ curcumin diethyl disuccinate ความเข้มข้น 6 µg/mL มาเปรียบเทียบกับพื้นที่ใต้พีคของ curcumin diethyl disuccinate ในสารละลายมาตรฐานผสมที่มี curcumin diethyl disuccinate ความเข้มข้น 6 µg/mL และ curcumin ความเข้มข้น 0.7 µg/mL โดยใช้ ANOVA พบว่าพื้นที่ใต้พีคของ curcumin diethyl disuccinate จากสารละลายมาตรฐานทั้งสองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p=0.05$ ) และเมื่อนำค่าพื้นที่ใต้พีคของ curcumin ในสารละลายมาตรฐานของ curcumin ความเข้มข้น 0.7 µg/mL มาเปรียบเทียบกับพื้นที่ใต้พีคของ curcumin ในสารละลายมาตรฐานผสมที่มี curcumin diethyl disuccinate ความเข้มข้น 6 µg/mL และ curcumin ความเข้มข้น 0.7 µg/mL โดยใช้ ANOVA พบว่าพื้นที่ใต้พีคของ curcumin จากสารละลายมาตรฐานทั้งสองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p=0.05$ )

#### 4.2.4 ความสัมพันธ์เชิงเส้นและช่วงความเข้มข้นที่ใช้ในการวิเคราะห์

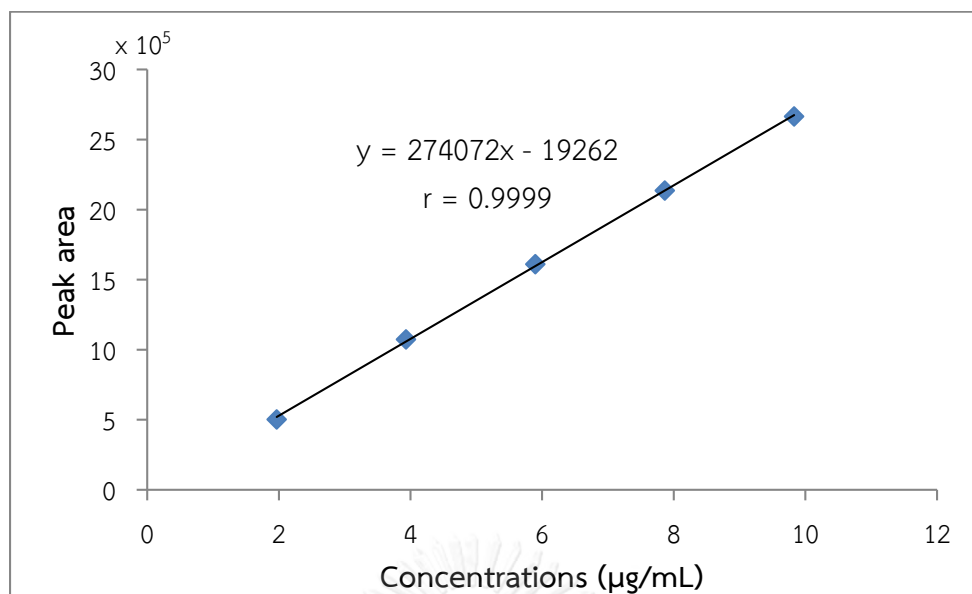
ตรวจสอบความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่าง peak area กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานของ curcumin diethyl disuccinate โดยฉีดสารละลายมาตรฐานของ curcumin diethyl disuccinate ความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10 µg/mL เข้าเครื่อง HPLC ทำการวิเคราะห์ซ้ำความเข้มข้นละ 3 ครั้ง ได้ค่าเฉลี่ยของ peak area ดังตารางที่ 4 และได้ calibration curve ดังรูปที่ 7

ตารางที่ 4 ความสัมพันธ์เชิงเส้นของสารละลายมาตรฐาน curcumin diethyl disuccinate

Mean (%RSD) $n=3$	Concentrations (µg/mL)				
	1.97	3.93	5.90	7.86	9.83
Peak area	501800.0 (1.14)	1072961.3 (1.08)	1610353.3 (0.20)	2136020.0 (1.06)	2664128.3 (0.12)

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 7 ความสัมพันธ์ระหว่าง peak area กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน curcumin diethyl disuccinate

#### 4.2.5 ความแม่นยำและความเที่ยง

##### 4.2.5.1 ความแม่นยำและความเที่ยงภายในวันเดียวกัน

ตรวจสอบความแม่นยำและความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ โดยฉีดสารละลายมาตรฐานของ curcumin diethyl disuccinate ความเข้มข้น 2, 6 และ 10 µg/mL เข้าเครื่อง HPLC ทำการวิเคราะห์ซ้ำความเข้มข้นละ 6 ครั้ง ได้ %RSD และ %recovery ดังตารางที่ 5

##### 4.2.5.2 ความแม่นยำและความเที่ยงต่างวันกัน

ตรวจสอบความแม่นยำและความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ โดยฉีดสารละลายมาตรฐานของ curcumin diethyl disuccinate ความเข้มข้น 2, 6 และ 10 µg/mL เข้าเครื่อง HPLC ทำการวิเคราะห์ซ้ำความเข้มข้นละ 3 ครั้ง เป็นเวลา 3 วัน ได้ %RSD และ %recovery ดังตารางที่ 5

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR) เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR) are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



ตารางที่ 5 ความแม่นยำและความเที่ยงภายในวันเดียวกัน/ต่างวันกันของสารละลายมาตรฐาน curcumin diethyl disuccinate

	Theoretical Concentrations (µg/mL)	Measured Concentrations (µg/mL)	%RSD	%Recovery
Intra-day (n=6)	1.97	1.91	1.05	96.90
	5.90	5.91	0.61	100.20
	9.83	9.70	0.48	98.65
Inter-day 3 days (n=9)	1.97	1.91	0.84	97.05
	5.90	5.89	0.98	99.83
	9.83	9.74	0.44	99.07

#### 4.2.6 ความคงทน

ตรวจสอบความคงทนของวิธีวิเคราะห์ โดยฉีดสารละลายมาตรฐาน curcumin diethyl disuccinate ความเข้มข้น 6 µg/mL เมื่อมีการเปลี่ยนอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ต่างไปจากสภาวะปกติของเครื่อง HPLC คือ acetonitrile:2% acetic acid จาก 72:28 เป็น 64:36, 66:34, 68:32, 69:31, 70:30, 72:28, 74:26, 76:24, 78:22 และ 80:20 ตามลำดับ เข้าเครื่อง HPLC ทำการวิเคราะห์ซ้ำอัตราส่วนละ 3 ครั้ง พบว่าในอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ acetonitrile:2% acetic acid 70:30, 72:28, 74:26, 76:24, 78:22 และ 80:20 เท่านั้นที่ผ่านเกณฑ์ในการตัดสิน ได้ค่าเฉลี่ยของ retention time resolution tailing factor และ capacity factor ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ความคงทนของสารละลายมาตรฐาน curcumin diethyl disuccinate

Acetonitrile: 2% Acetic acid (v/v)	Mean (%RSD) n=3			
	Retention time (min)	Resolution	Tailing factor	Capacity factor
70:30	17.85 (0.07)	5.00 (0.56)	1.036 (0.15)	19.31 (1.09)
72:28	12.84 (0.08)	4.47 (0.45)	1.053 (0.20)	12.97 (1.46)
74:26	9.63 (0.05)	4.00 (0.75)	1.088 (0.19)	9.56 (1.10)
76:24	7.32 (0.08)	3.35 (0.76)	1.131 (0.27)	7.01 (1.44)
78:22	5.65 (0.10)	2.69 (0.21)	1.181 (0.27)	5.11 (1.34)
80:20	4.47 (0.14)	2.05 (0.29)	1.240 (0.12)	3.82 (1.38)

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR) เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR) are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

#### 5.1 การพัฒนาสถานะ HPLC ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณ curcumin diethyl disuccinate ในวัตถุดิบ

จากระบบเดิมที่เคยมีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ของ curcumin ในสารสกัดขมิ้นชันของ Wichitnithad W. และคณะ ซึ่งใช้สัดส่วนของ acetonitrile:2% acetic acid แบบ isocratic ที่ 40:60 แต่เมื่อนำระบบนี้มาวิเคราะห์ พบว่าพีคของ curcumin ออกช้าเกินไป คือ 14 นาที และเมื่อพิจารณา ร่วมกับงานวิจัยเกี่ยวกับความคงตัวของ curcumin และ curcumin diethyl disuccinate และการศึกษาการปลดปล่อยของ curcumin diethyl disuccinate ในพลาสมามนุษย์ จึงทดลองโดยปรับเพิ่มสัดส่วนของ acetonitrile จากวิธี isocratic เพื่อให้ curcumin ถูกชะออกมาเร็วขึ้น เมื่อทดลองปรับสถานะการวิเคราะห์ จนได้สถานะที่มี retention time ของ curcumin ประมาณ 1.8 นาที และ retention time ของ curcumin diethyl disuccinate ประมาณ 13 นาที นั้นสามารถแยกสาร 2 ตัว ออกจากกันได้

#### 5.2 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ curcumin diethyl disuccinate ในวัตถุดิบ

จากการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ curcumin diethyl disuccinate โดยวิธี reversed phase HPLC ภายใต้สถานะของเครื่องตั้งที่ได้กล่าวมาข้างต้น ได้ทำการตรวจสอบในหัวข้อ ความเหมาะสมของระบบ ความจำเพาะเจาะจง ความสัมพันธ์เชิงเส้นและช่วงความเข้มข้นที่ใช้ในการวิเคราะห์ ความแม่นยำ ความเที่ยง และความคงทน

##### 5.2.1 ความเหมาะสมของระบบ

%RSD ของ retention time และ peak area อยู่ในช่วง 0.02-0.67 resolution อยู่ในช่วง 3.95-4.63 tailing factor อยู่ในช่วง 1.050-1.063 และ number of theoretical plates อยู่ในช่วง 7460-9379

##### 5.2.2 ความจำเพาะเจาะจง

ไม่มีพีคของ curcumin รบกวนในตำแหน่งเดียวกับพีคของ curcumin diethyl disuccinate %RSD ของ peak area ของ curcumin อยู่ในช่วง 0.13-0.51 และของ curcumin diethyl disuccinate อยู่ในช่วง 0.23-1.67 %RSD ของ retention time ของ curcumin อยู่ในช่วง 0.27-0.30 และของ curcumin diethyl disuccinate อยู่ในช่วง 0.05-0.08

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

### 5.2.3 ความสัมพันธ์เชิงเส้นและช่วงความเข้มข้น

ช่วงความเข้มข้นของ curcumin diethyl disuccinate ที่ใช้ในการวิเคราะห์คือ 2-10  $\mu\text{g/mL}$  ที่ให้ความสัมพันธ์ของความเข้มข้นกับค่าการตอบสนองเป็นเส้นตรง โดยได้ค่า coefficient of determination (r) ของ calibration curve 0.9999

### 5.2.4 ความแม่นยำและความเที่ยง

ได้ค่า %recovery และ %RSD ภายในวันเดียวกัน อยู่ในช่วง 96.90-100.20 และ 0.48-1.05 ตามลำดับ ได้ค่า %recovery และ %RSD ต่างวันกัน อยู่ในช่วง 97.05-99.83 และ 0.44-0.98 ตามลำดับ

### 5.2.5 ความคงทน

เมื่อมีการเปลี่ยนอัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ต่างไปจากสภาวะปกติของเครื่อง HPLC คือ acetonitrile:2% acetic acid จาก 72:28 เป็น 70:30, 72:28, 74:26, 76:24, 78:22 และ 80:20 ตามลำดับ ได้ %RSD ของ retention time อยู่ในช่วง 0.05-0.14 resolution อยู่ในช่วง 2.05-5.00 tailing factor อยู่ในช่วง 1.036-1.240 และ capacity factor อยู่ในช่วง 3.82-19.31

## 5.3 ข้อเสนอแนะ

เนื่องจาก curcumin diethyl disuccinate ที่นำมาใช้ในการพัฒนาสภาวะ HPLC เป็นสารที่ได้จากการสังเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ จึงไม่เหมาะสมในการนำไปวิเคราะห์หาปริมาณมากนัก เนื่องจากอาจมีสารปนเปื้อนอยู่มาก (ทดสอบโดยการฉีดเข้า HPLC เพื่อดู %purity) ทำให้ผลการทดลองเกิดความคลาดเคลื่อนได้บ้าง ดังนั้นการประยุกต์นำวิธีวิเคราะห์นี้ไปใช้ ควรใช้สาร curcumin diethyl disuccinate ที่มี %purity สูง นอกจากนี้เครื่องมือที่ส่งผลต่อคุณภาพของการวิเคราะห์ก็ควรได้รับการสอบเทียบอย่างสม่ำเสมอ เพื่อไม่ให้เครื่องมือทำให้ผลการวิเคราะห์ที่ได้คลาดเคลื่อนไป

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

## บรรณานุกรม

- [1] Jayaprakasha GK, Jagan Mohan Rao L, Sakariah KK. Improved HPLC method for the determination of curcumin, demethoxycurcumin, and bisdemethoxycurcumin. J Agric Food Chem. 2002; 50(13):3668-72.
- [2] Wichitnithad W, Nimmannit U, Wacharasindhu S, Rojsitthisak P. Synthesis, characterization and biological evaluation of succinate prodrugs of curcuminoids for colon cancer treatment. Molecules. 2011; 16(2):1888-900.
- [3] Schellinger AP, Stoll DR, Carr PW. High speed gradient elution reversed-phase liquid chromatography. J Chromatogr A. 2005; 1064(2):143-56.
- [4] Wichitnithad W, Jongaroonngamsang N, Pummangura S, Rojsitthisak P. A simple isocratic HPLC method for the simultaneous determination of curcuminoids in commercial turmeric extracts. Phytochem Anal. 2009; 20(4):314-9.
- [5] United States Pharmacopeia and National Formulary (USP 36-NF 31). Vol 1. Rockville, MD: United States Pharmacopeia Convention; 2013: 983-7.
- [6] International Conference on Harmonization of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH), Guideline Q2(R1)- Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, Geneva: 2005.
- [7] Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Reviewer Guidance Validation of Chromatographic Methods. 1994.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด  
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

**ภาคผนวก ก**  
**ความเหมาะสมของระบบ**

วันที่ 1

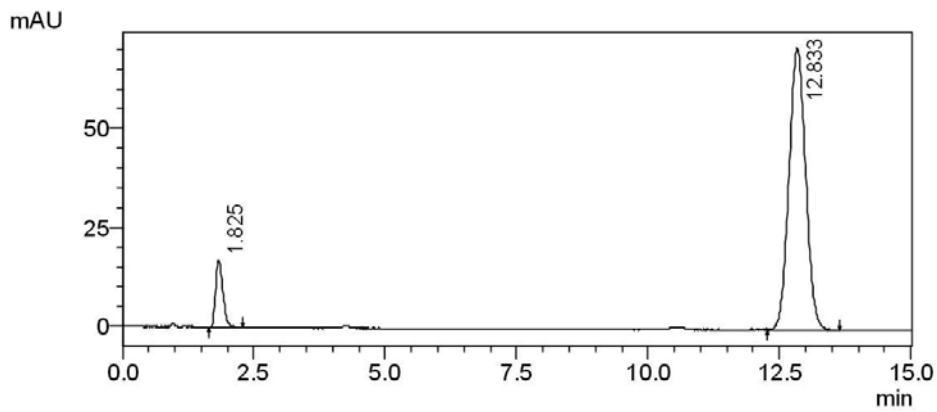
ตารางที่ 1 ความเหมาะสมของระบบ

Tube	Parameters				
	Retention time (min)	Peak area	Resolution	Tailing factor	Number of theoretical plates
1	12.83	1576266	3.82	1.067	7504.00
2	12.91	1579493	3.98	1.065	7470.05
3	12.88	1580984	4.00	1.064	7432.58
4	12.89	1603126	4.07	1.062	7462.28
5	12.92	1587222	3.88	1.059	7432.28
Mean	12.89	1585418.2	3.95	1.063	7460.24
SD	0.03	10669.5	0.10	0.003	29.84
%RSD	0.26	0.67	2.50	0.29	0.40

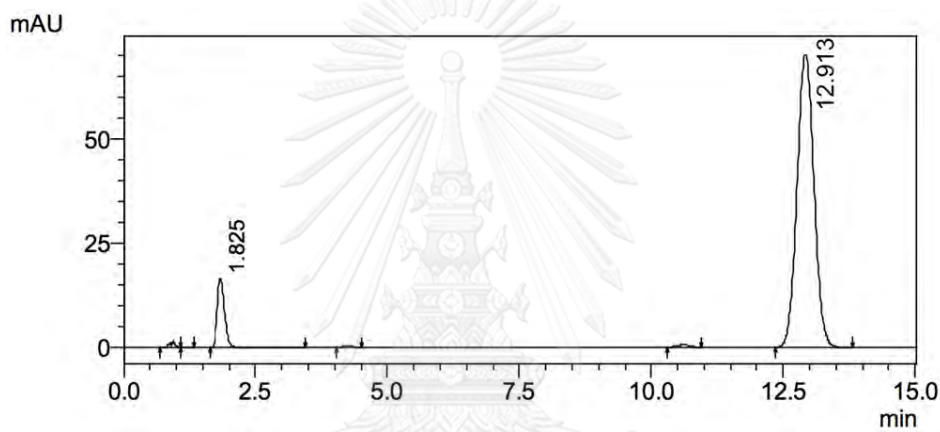
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

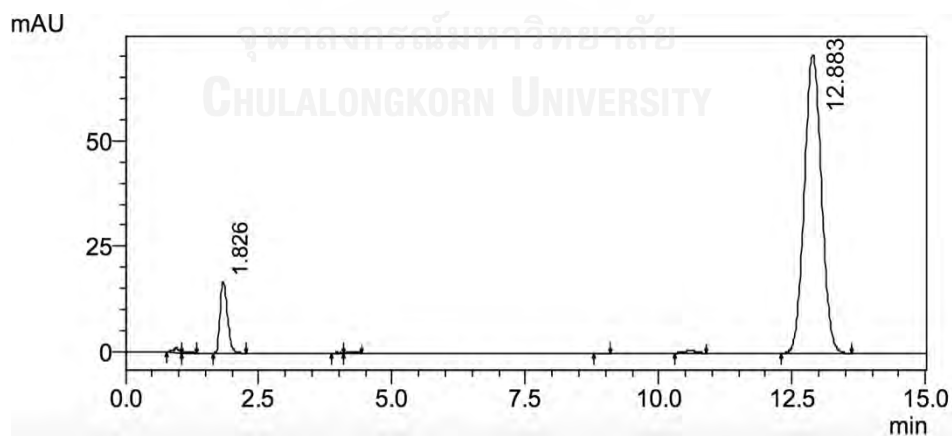
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 1 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมที่มี  
CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  และ curcumin 0.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข้มที่ 1



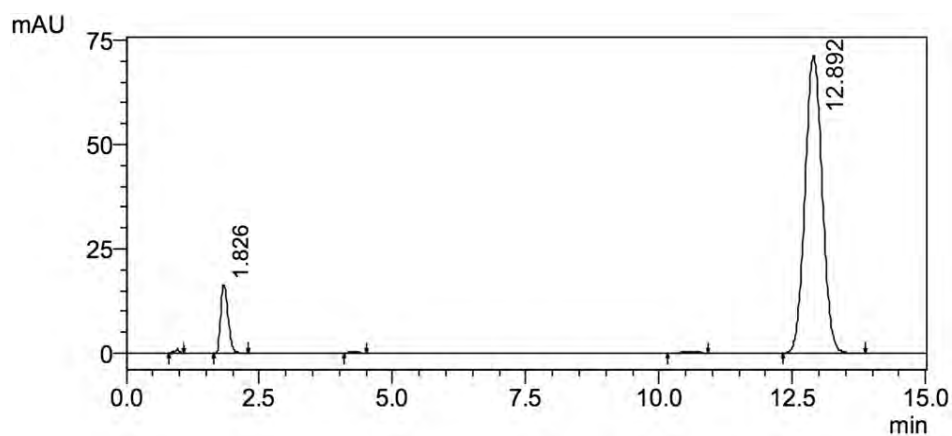
รูปที่ 2 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมที่มี  
CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  และ curcumin 0.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข้มที่ 2



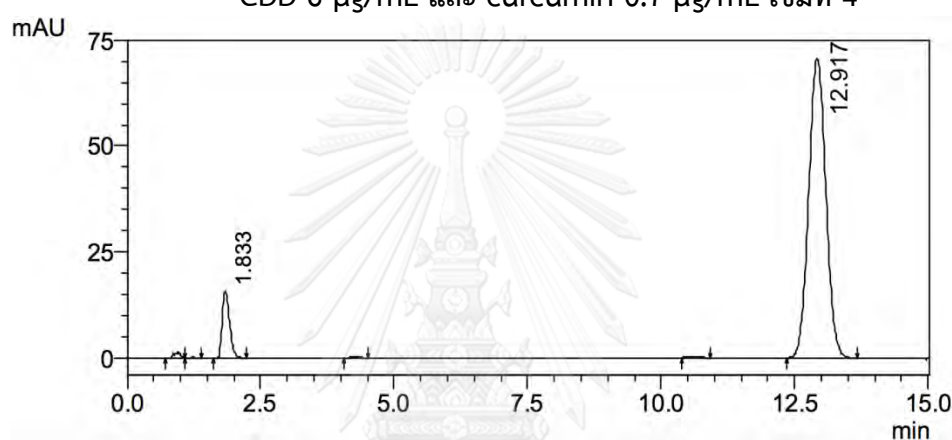
รูปที่ 3 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมที่มี  
CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  และ curcumin 0.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข้มที่ 3

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 4 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมที่มี  
CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  และ curcumin 0.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข้มที่ 4



รูปที่ 5 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมที่มี  
CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  และ curcumin 0.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข้มที่ 5

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

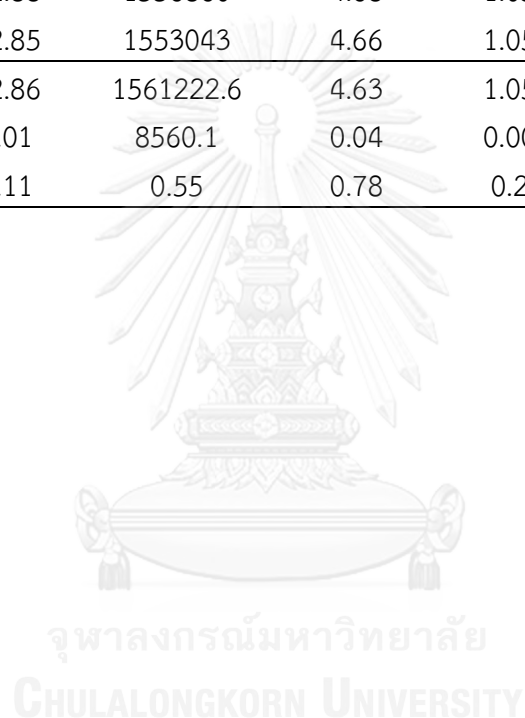
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



## วันที่ 2

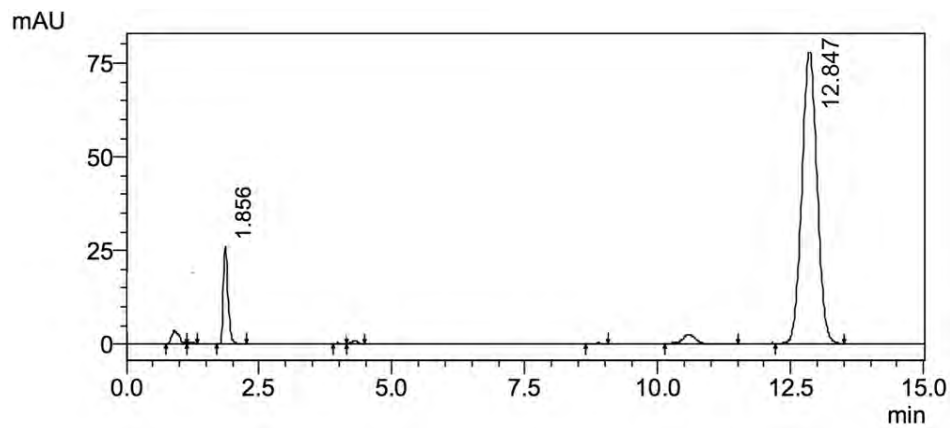
ตารางที่ 2 ความเหมาะสมของระบบ

Tube	Parameters				
	Retention time (min)	Peak area	Resolution	Tailing factor	Number of theoretical plates
1	12.85	1574416	4.61	1.054	9370.22
2	12.84	1564952	4.62	1.059	9376.85
3	12.87	1556842	4.59	1.053	9381.35
4	12.88	1556860	4.68	1.052	9390.72
5	12.85	1553043	4.66	1.054	9378.03
Mean	12.86	1561222.6	4.63	1.054	9379.43
SD	0.01	8560.1	0.04	0.003	7.49
%RSD	0.11	0.55	0.78	0.26	0.08

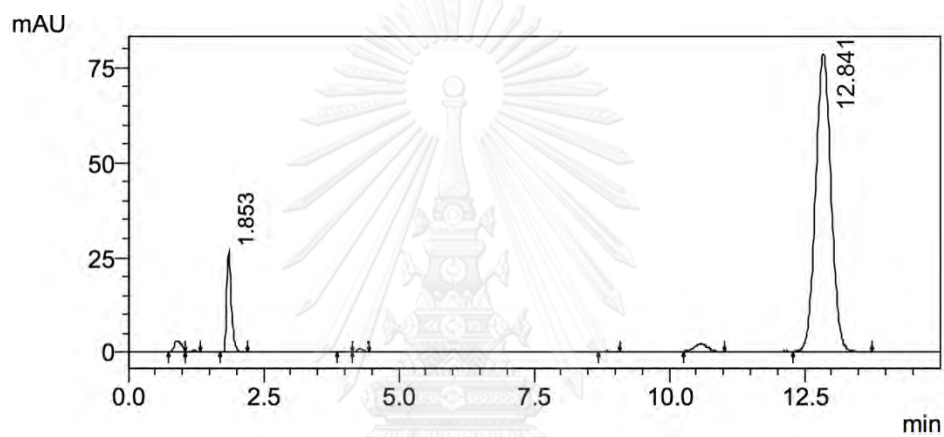


บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

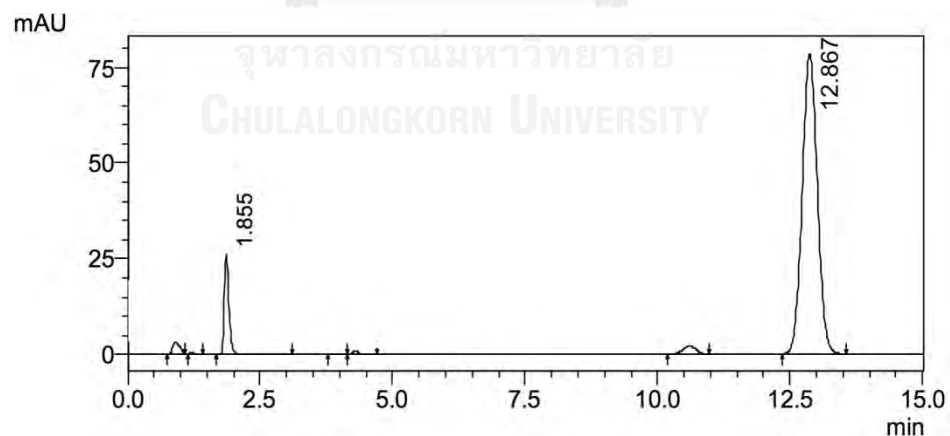
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 6 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมที่มี  
CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  และ curcumin 0.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข้มที่ 1



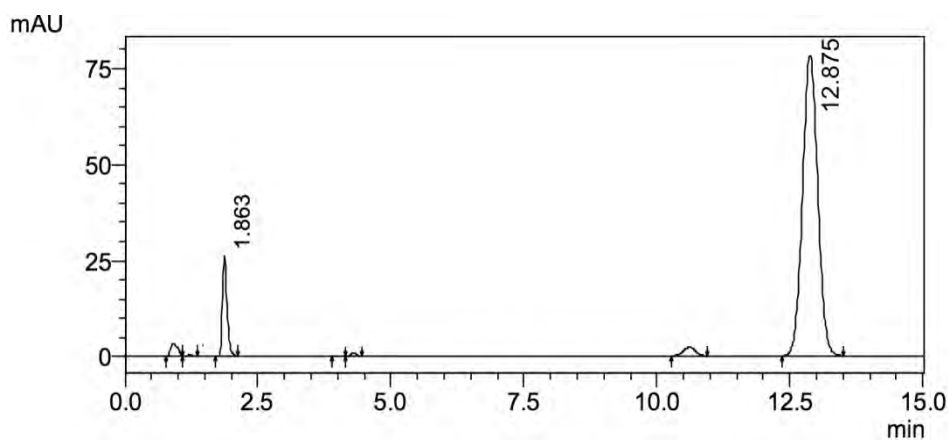
รูปที่ 7 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมที่มี  
CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  และ curcumin 0.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข้มที่ 2



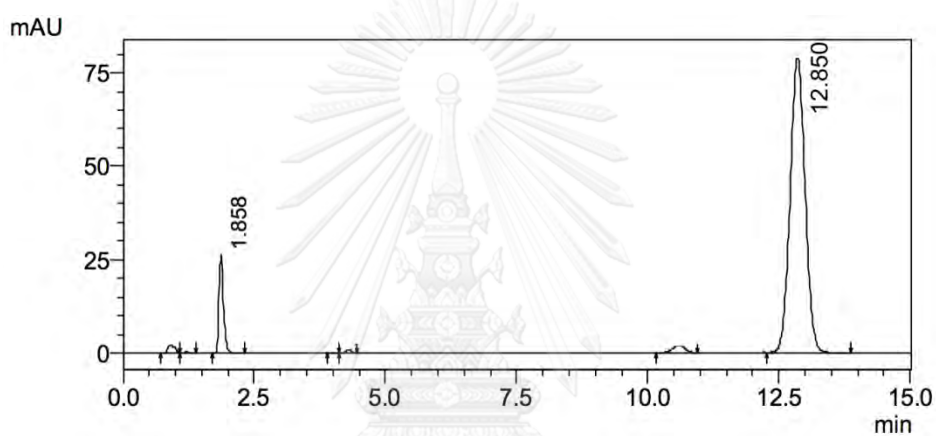
รูปที่ 8 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมที่มี  
CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  และ curcumin 0.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข้มที่ 3

บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 9 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมที่มี  
CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  และ curcumin 0.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข้มที่ 4



รูปที่ 10 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมที่มี  
CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  และ curcumin 0.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข้มที่ 5

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

วันที่ 3

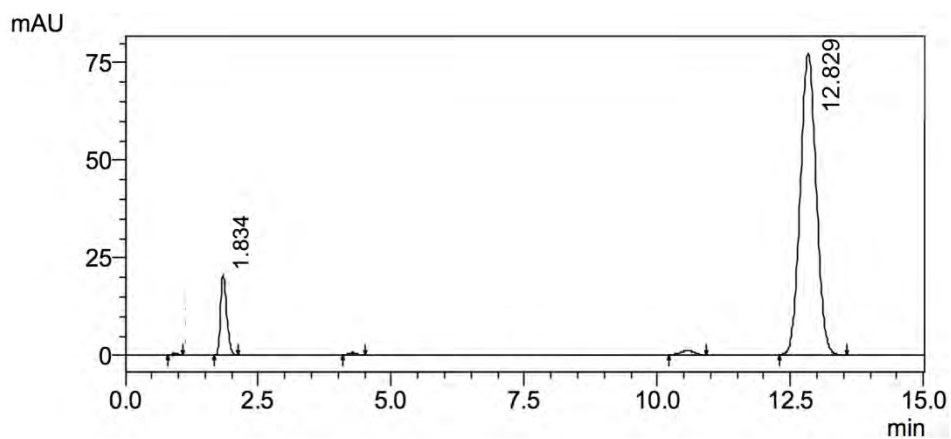
ตารางที่ 3 ความเหมาะสมของระบบ

Tube	Parameters				
	Retention time (min)	Peak area	Resolution	Tailing factor	Number of theoretical plates
1	12.83	1617255	4.37	1.057	8370.42
2	12.82	1609468	4.37	1.059	8353.74
3	12.83	1606462	4.35	1.056	8383.87
4	12.83	1608602	4.30	1.058	8390.52
5	12.83	1597132	4.27	1.061	8364.43
Mean	12.83	1607783.8	4.33	1.058	8372.60
SD	0.003	7218.3	0.04	0.002	14.80
%RSD	0.02	0.45	1.03	0.18	0.18

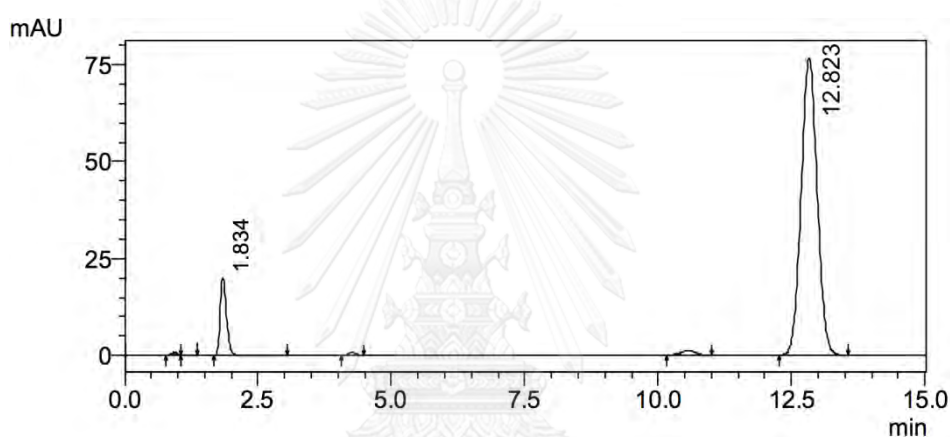
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

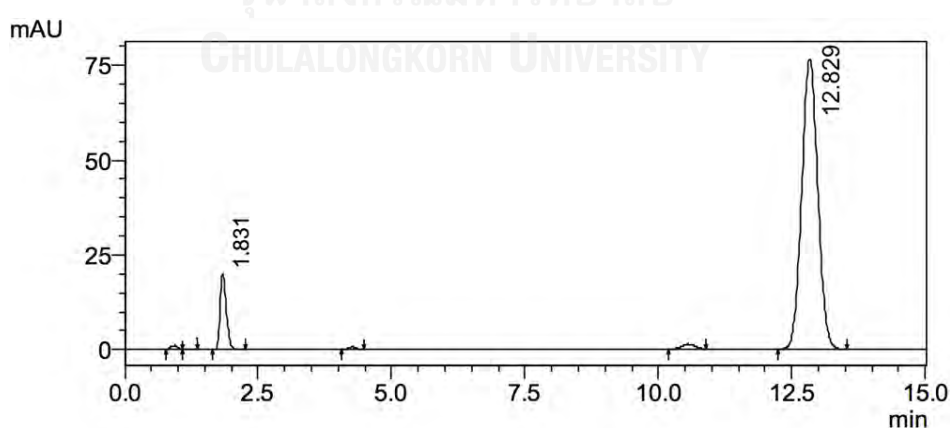
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 11 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมที่มี  
CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  และ curcumin 0.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข้มที่ 1



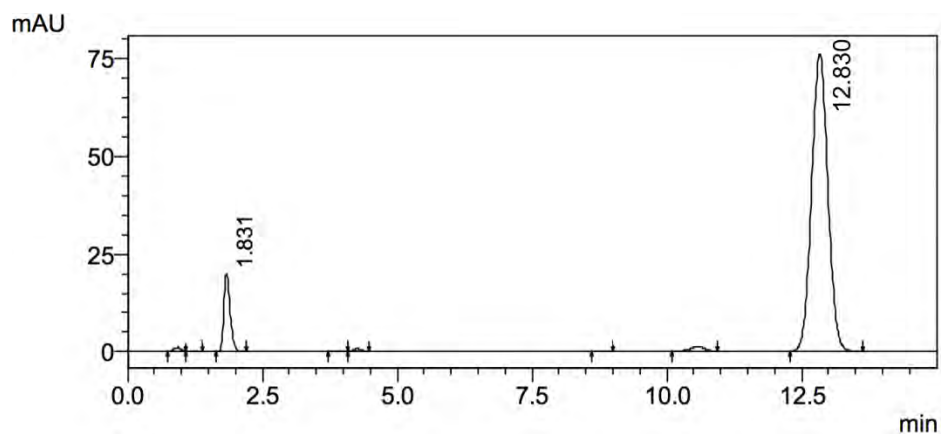
รูปที่ 12 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมที่มี  
CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  และ curcumin 0.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข้มที่ 2



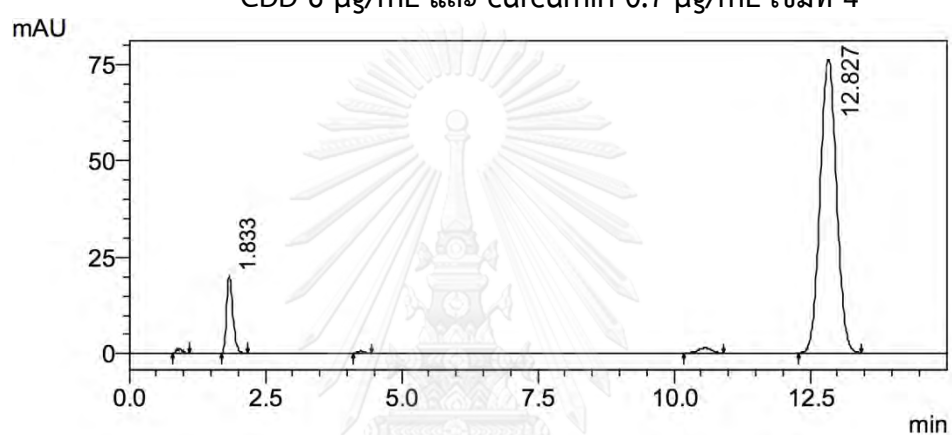
รูปที่ 13 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมที่มี  
CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  และ curcumin 0.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข้มที่ 3

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 14 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมที่มี  
CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  และ curcumin 0.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข้มที่ 4



รูปที่ 15 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมที่มี  
CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  และ curcumin 0.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข้มที่ 5

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

วันที่ 4

ตารางที่ 4 ความเหมาะสมของระบบ

Tube	Parameters				
	Retention time (min)	Peak area	Resolution	Tailing factor	Number of theoretical plates
1	12.96	1601043	4.16	1.053	8029.94
2	12.96	1586541	4.26	1.050	8353.74
3	12.96	1579262	4.27	1.050	8064.44
4	12.95	1580484	4.29	1.051	8036.73
5	12.95	1584153	4.24	1.045	8039.44
Mean	12.95	1586296.6	4.24	1.050	8104.86
SD	0.01	8737.6	0.05	0.003	139.74
%RSD	0.05	0.55	1.21	0.28	1.72

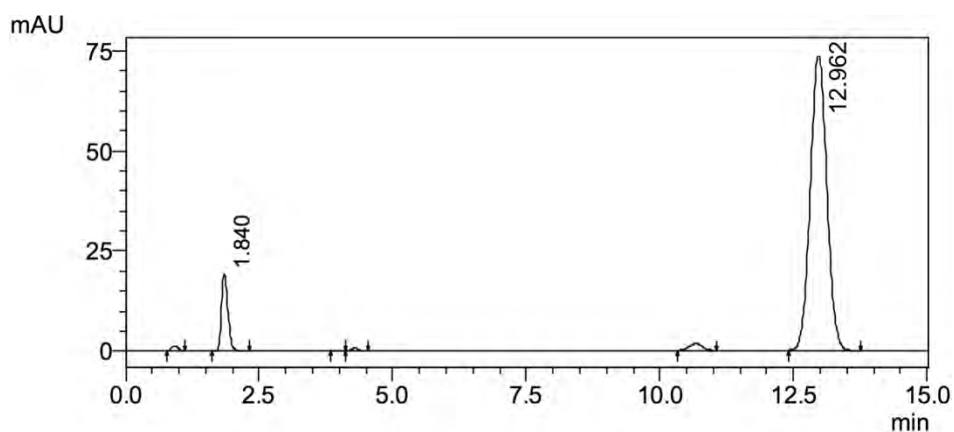


จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

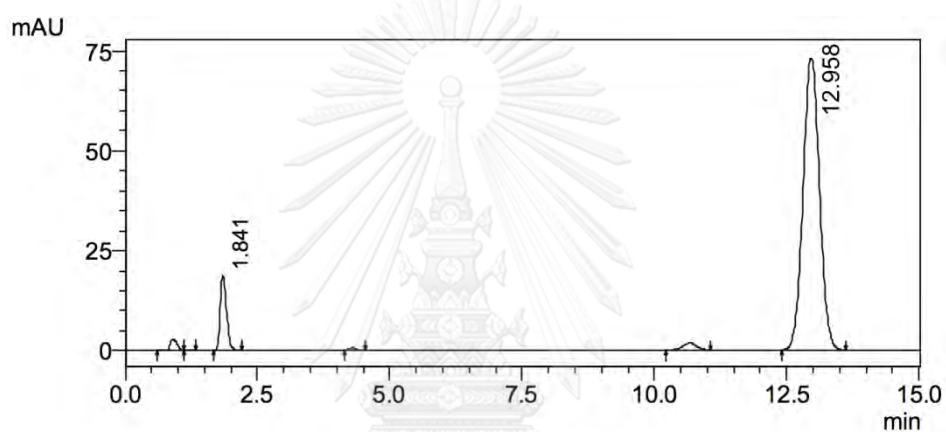
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

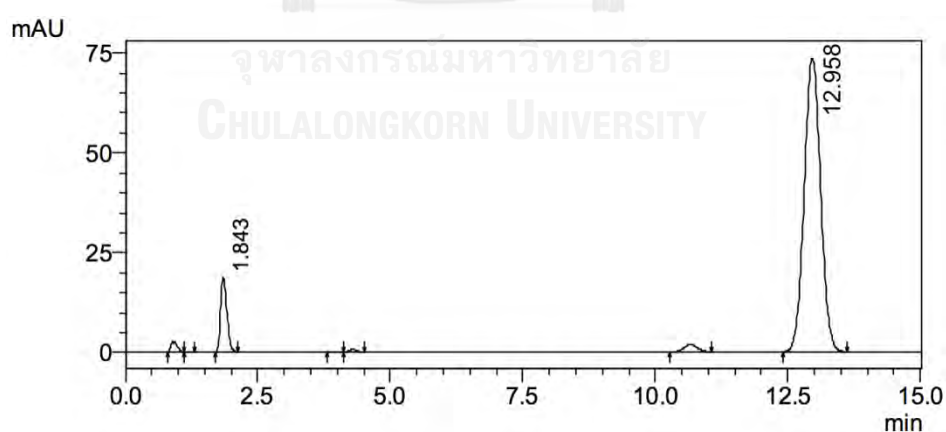




รูปที่ 16 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมที่มี  
CDD 6  $\mu\text{g/mL}$  และ curcumin 0.7  $\mu\text{g/mL}$  เข้มที่ 1



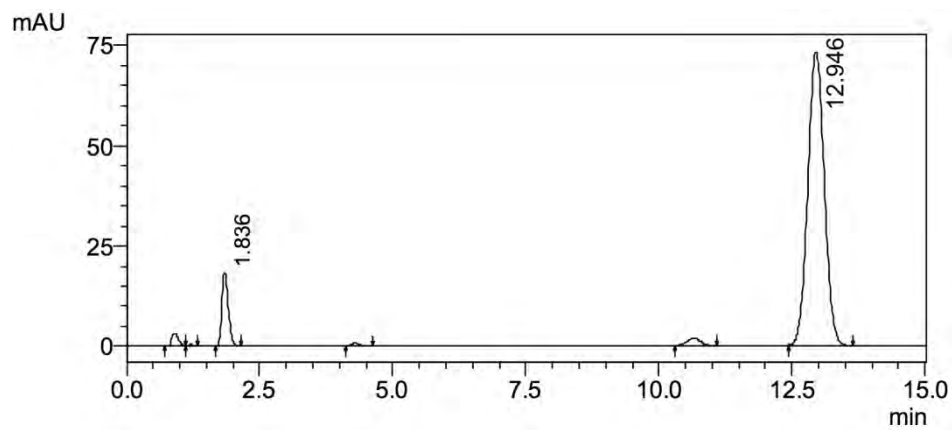
รูปที่ 17 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมที่มี  
CDD 6  $\mu\text{g/mL}$  และ curcumin 0.7  $\mu\text{g/mL}$  เข้มที่ 2



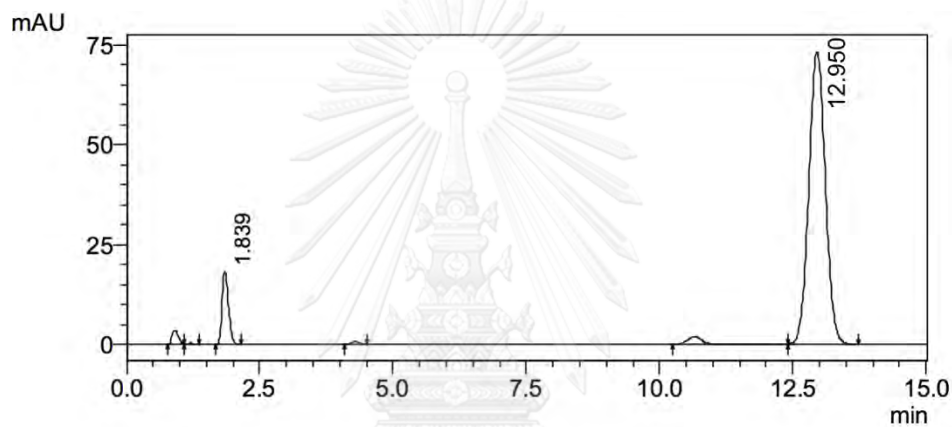
รูปที่ 18 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมที่มี  
CDD 6  $\mu\text{g/mL}$  และ curcumin 0.7  $\mu\text{g/mL}$  เข้มที่ 3

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 19 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมที่มี  
CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  และ curcumin 0.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข้มที่ 4



รูปที่ 20 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมที่มี  
CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  และ curcumin 0.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข้มที่ 5

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

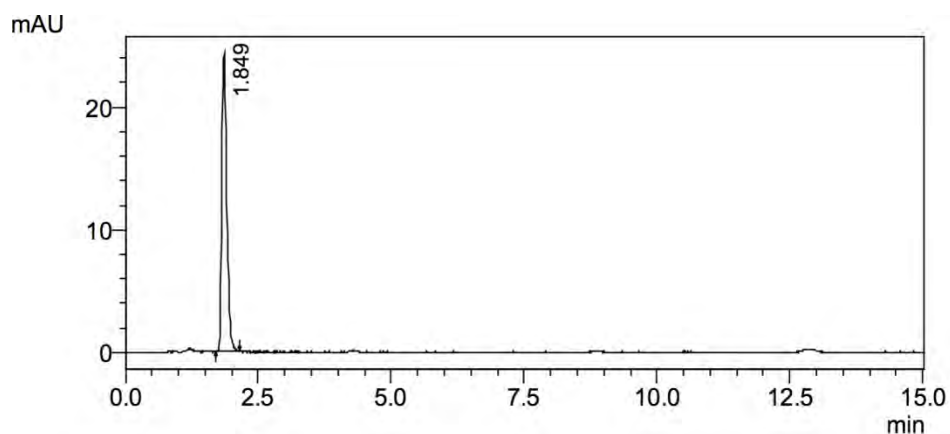
**ภาคผนวก ข**  
**ความจำเพาะเจาะจง**

ตารางที่ 5 ความจำเพาะเจาะจงของสารละลายมาตรฐาน curcumin และสารละลายมาตรฐาน CDD

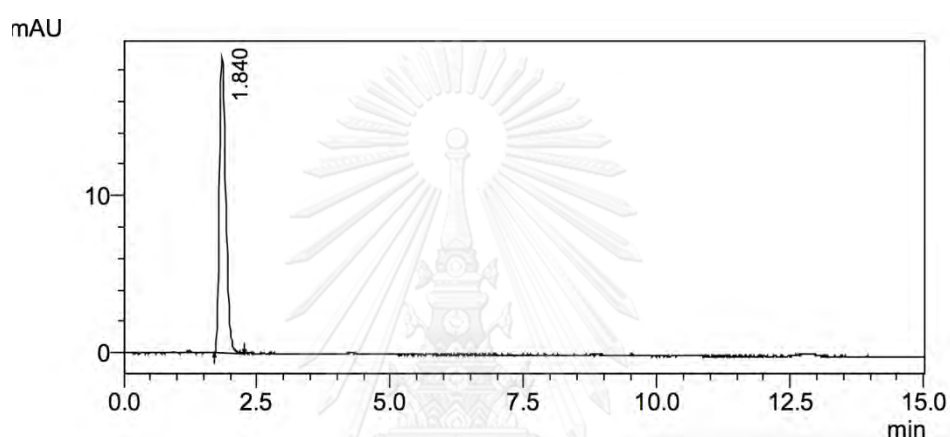
สาร	Tube	Peak area	Retention time (min)
Standard Curcumin	1	159837	1.85
	2	160063	1.84
	3	160237	1.85
	Mean	160045.7	1.85
	SD	200.6	0.01
	%RSD	0.13	0.30
Standard CDD	1	1616394	12.96
	2	1645287	12.94
	3	1591144	12.94
	Mean	1617608.3	12.95
	SD	27091.9	0.01
	%RSD	1.67	0.08
Standard CDD spiked Curcumin	1	160044	1.83
	2	160286	1.84
	3	161581	1.84
	Mean	160637.0	1.84
	SD	826.4	0.01
	%RSD	0.51	0.27
Standard Curcumin CDD	1	1602422	12.95
	2	1601765	12.96
	3	1608444	12.96
	Mean	1604210.3	12.96
	SD	3681.15	0.01
	%RSD	0.23	0.05

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

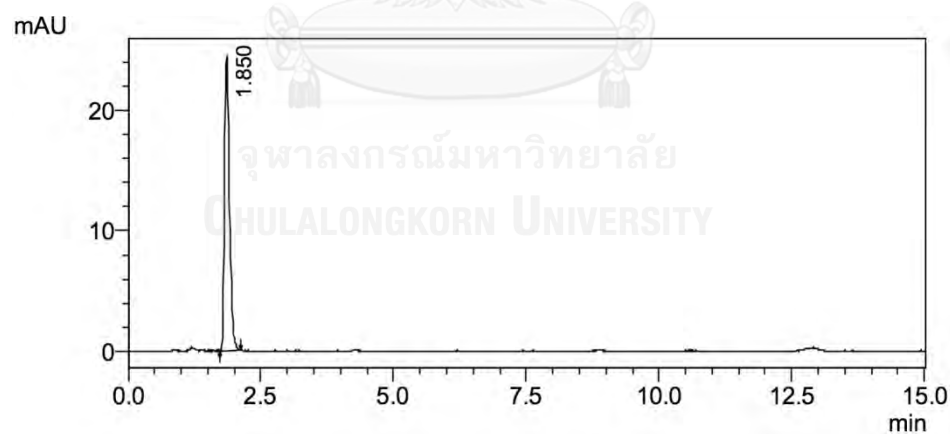
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 21 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน curcumin 0.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข้มที่ 1



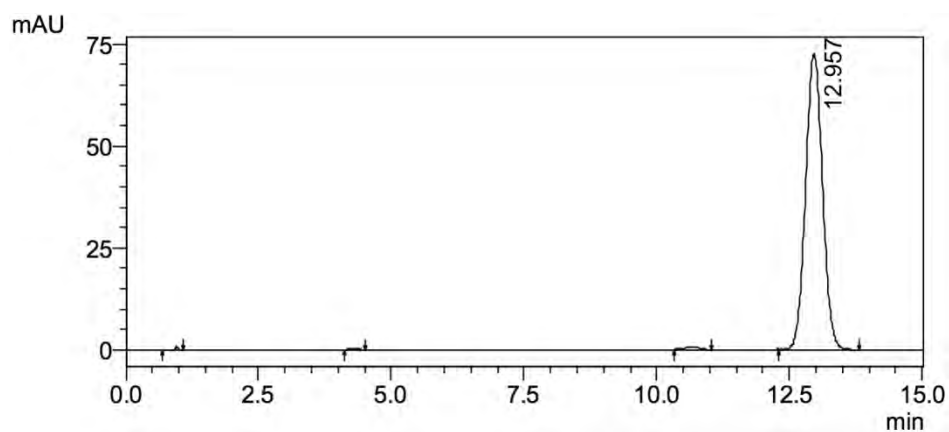
รูปที่ 22 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน curcumin 0.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข้มที่ 2



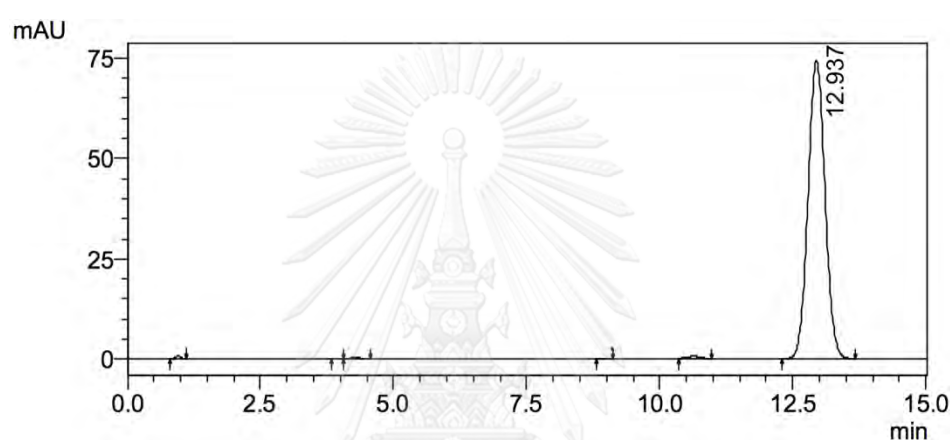
รูปที่ 23 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน curcumin 0.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข้มที่ 3

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

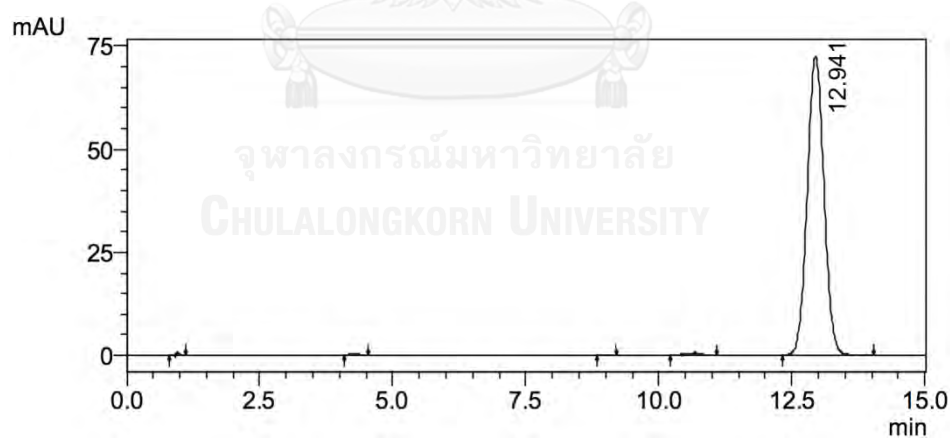
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 24 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เซ็มที่ 1



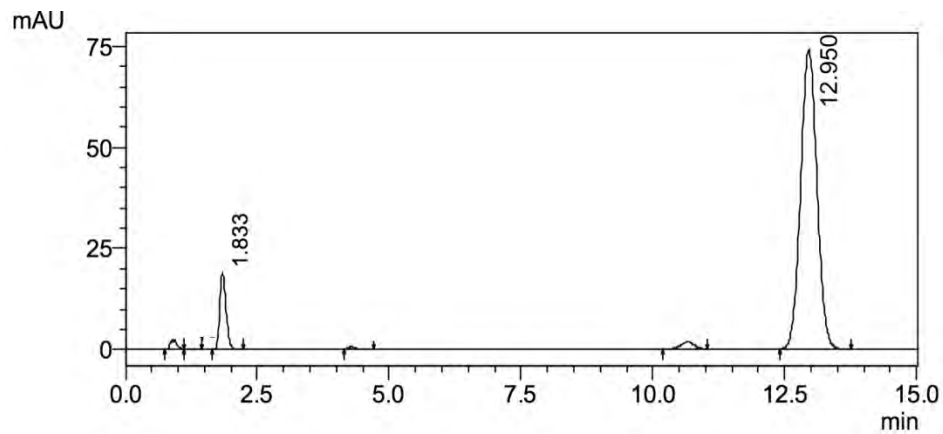
รูปที่ 25 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เซ็มที่ 2



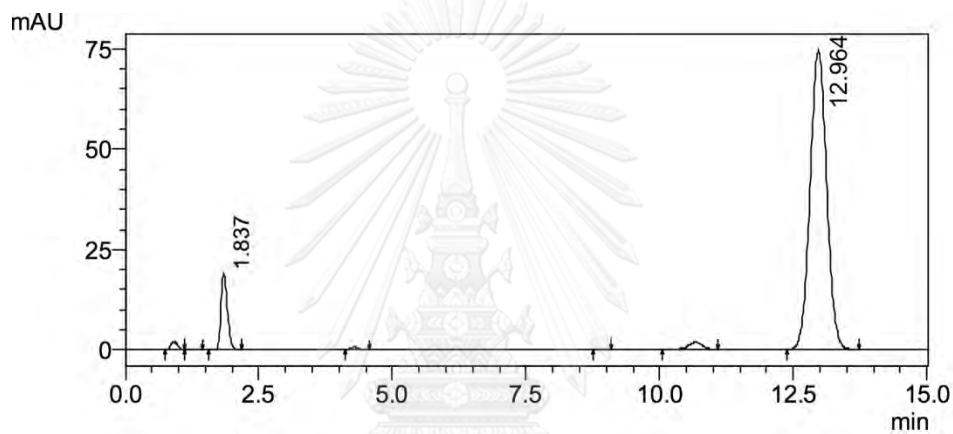
รูปที่ 26 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เซ็มที่ 3

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

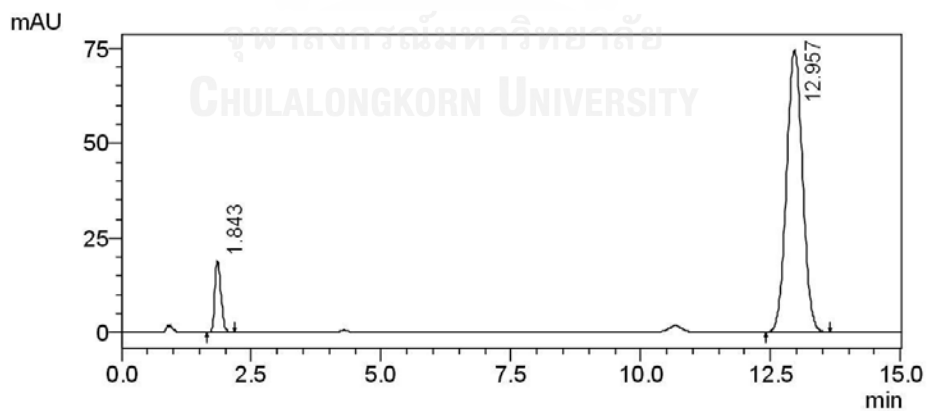
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 27 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมที่มี  
CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  และ curcumin 0.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข้มที่ 1



รูปที่ 28 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมที่มี  
CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  และ curcumin 0.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข้มที่ 2



รูปที่ 29 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมที่มี  
CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  และ curcumin 0.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข้มที่ 3

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

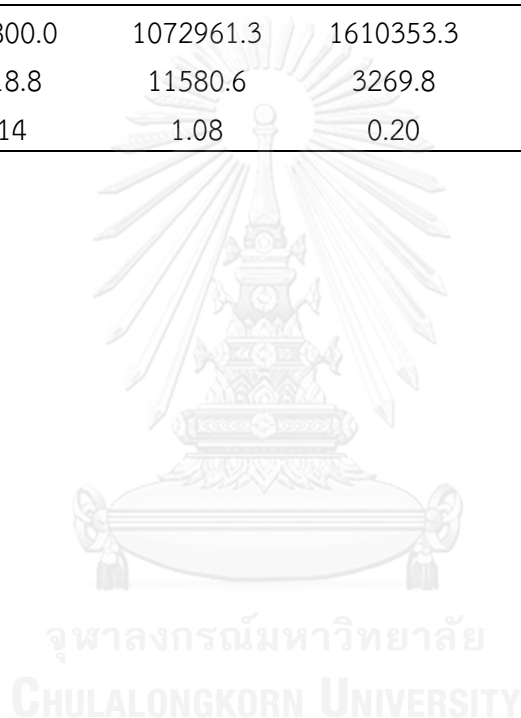
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

**ภาคผนวก ค**  
**ความสัมพันธ์เชิงเส้นและช่วงความเข้มข้นที่ใช้ในการวิเคราะห์**

ตารางที่ 6 ความสัมพันธ์เชิงเส้นของสารละลายมาตรฐาน CDD

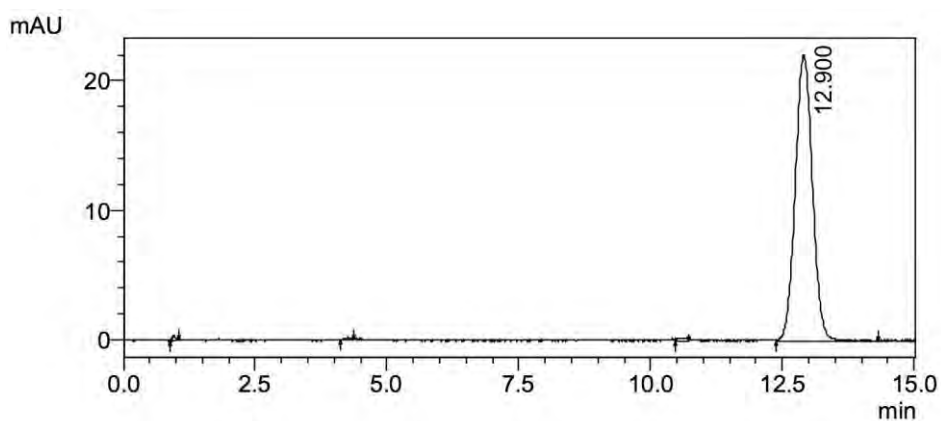
Tube	Peak area				
	Conc. 1.97 µg/mL	Conc. 3.93 µg/mL	Conc. 5.90 µg/mL	Conc. 7.86 µg/mL	Conc. 9.83 µg/mL
1	501099	1076366	1606935	2161440	2667676
2	507837	1060060	1613451	2118054	2662369
3	496464	1082458	1610674	2128566	2662340
Mean	501800.0	1072961.3	1610353.3	2136020	2664128.3
SD	5718.8	11580.6	3269.8	22633.1	3072.4
%RSD	1.14	1.08	0.20	1.06	0.12



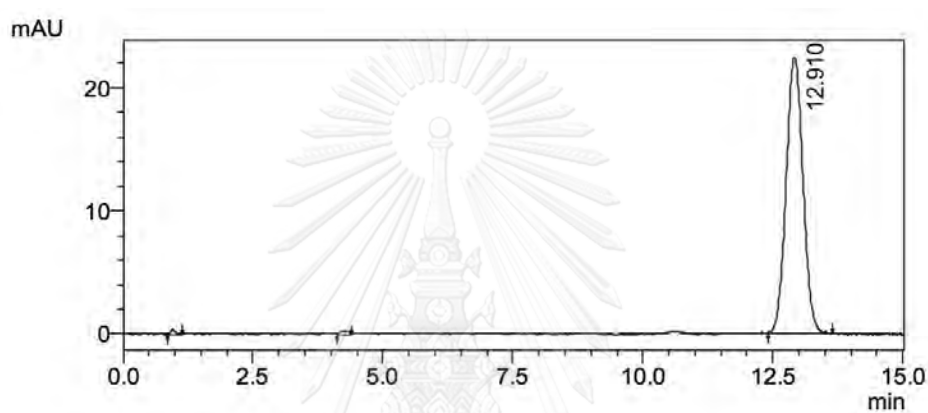
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

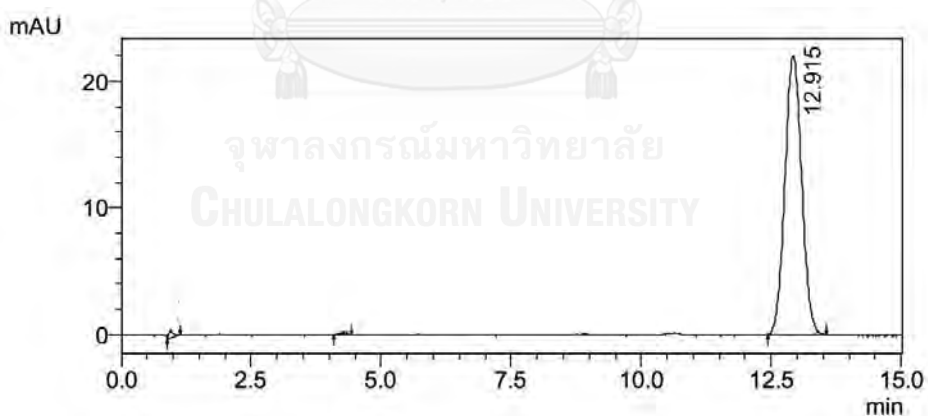




รูปที่ 30 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เซ็มที่ 1



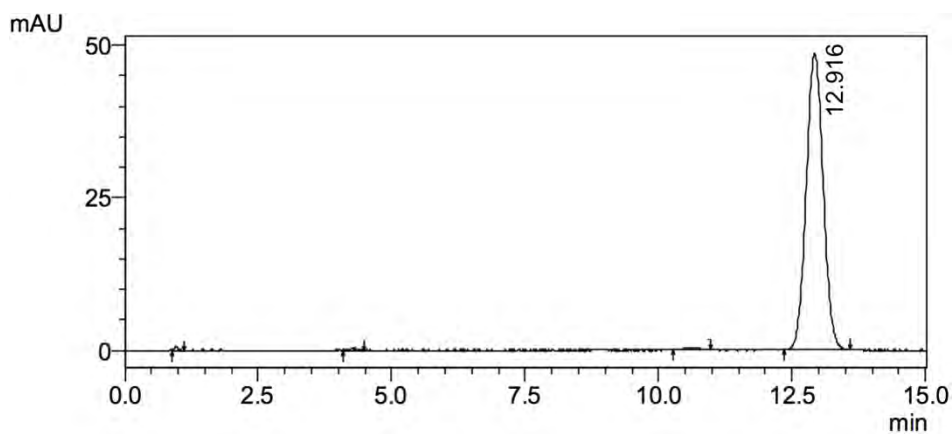
รูปที่ 31 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เซ็มที่ 2



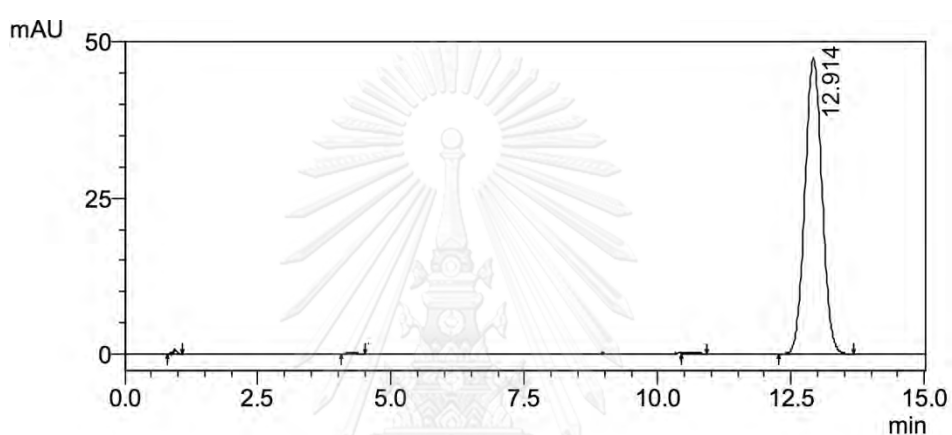
รูปที่ 32 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เซ็มที่ 3

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

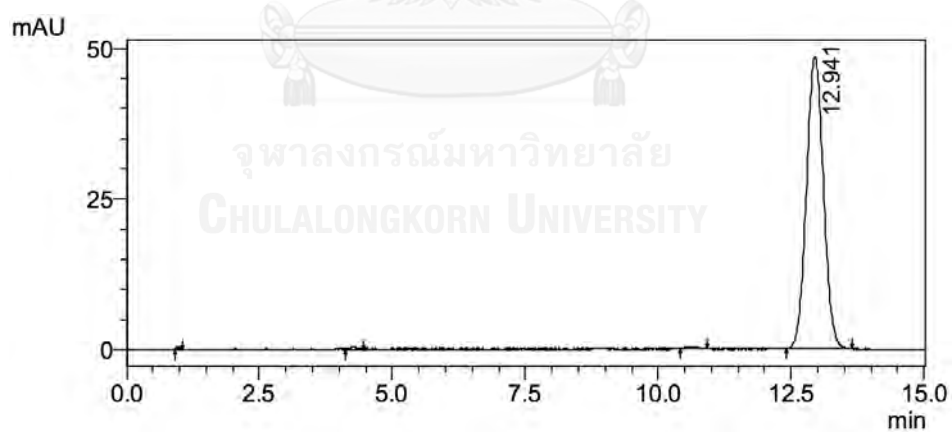
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 33 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เซ็มที่ 1



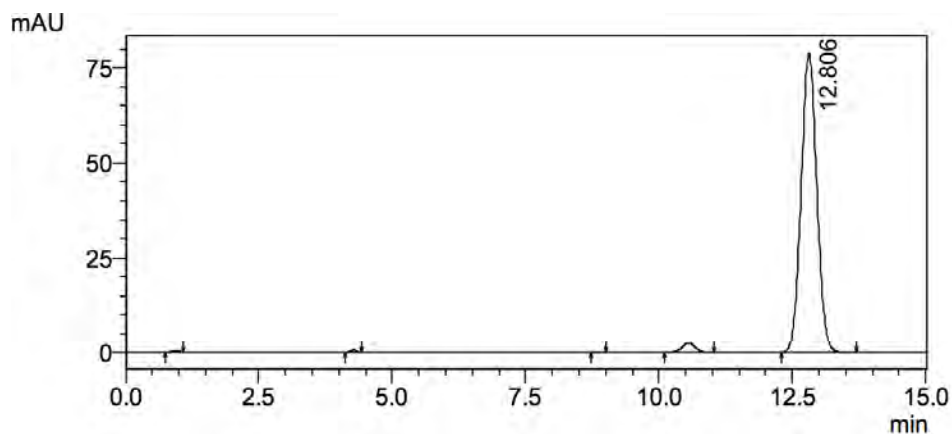
รูปที่ 34 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เซ็มที่ 2



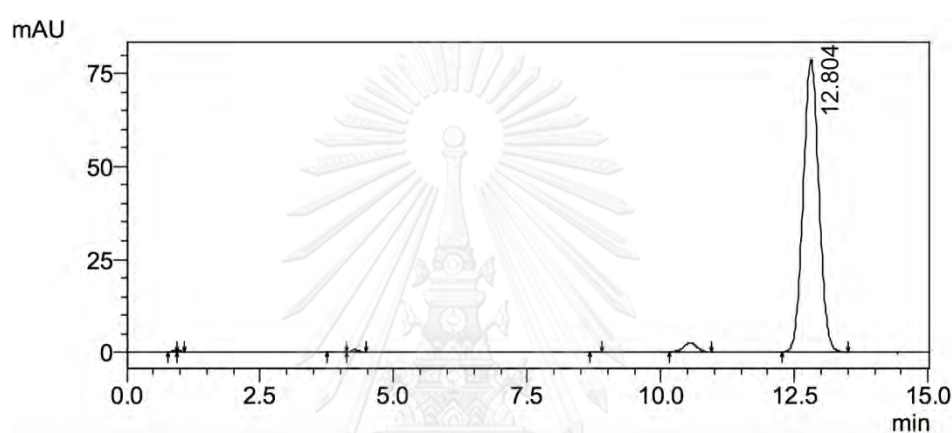
รูปที่ 35 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เซ็มที่ 3

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

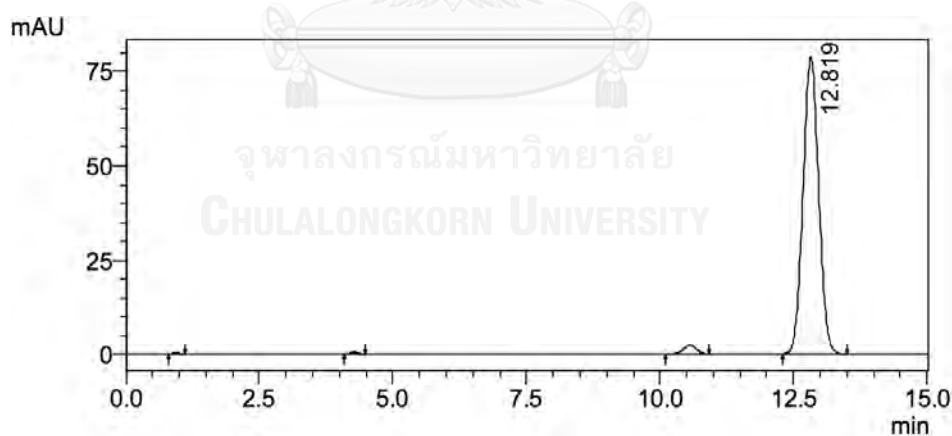
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 36 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g/mL}$  เซ็มที่ 1



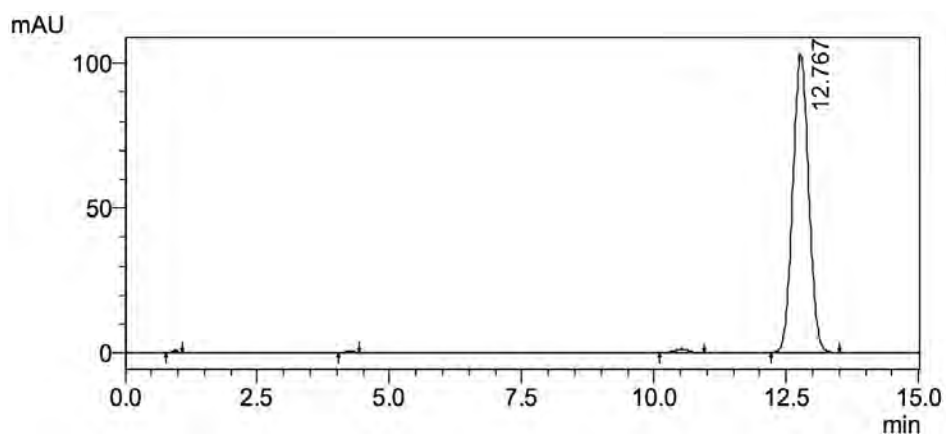
รูปที่ 37 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g/mL}$  เซ็มที่ 2



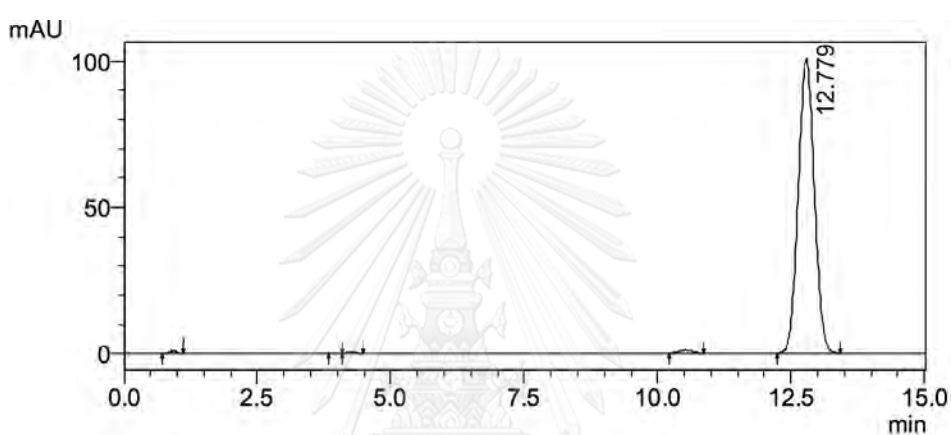
รูปที่ 38 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g/mL}$  เซ็มที่ 3

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

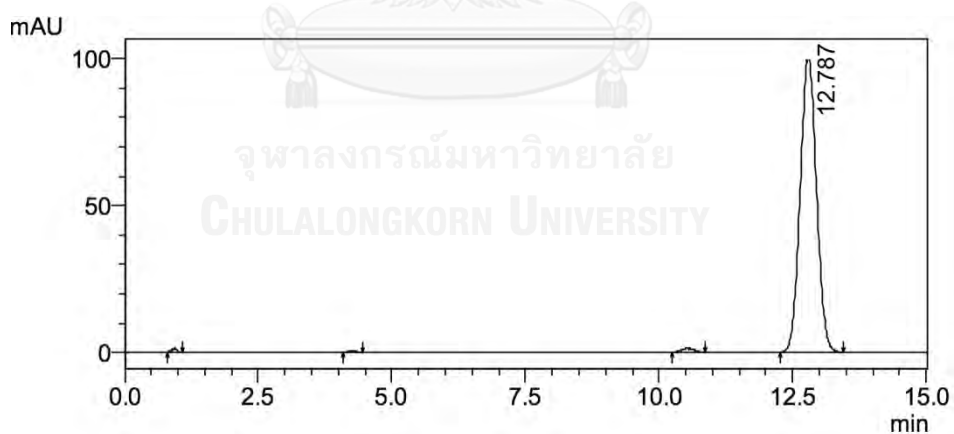
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 39 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 8  $\mu\text{g/mL}$  เข้มที่ 1



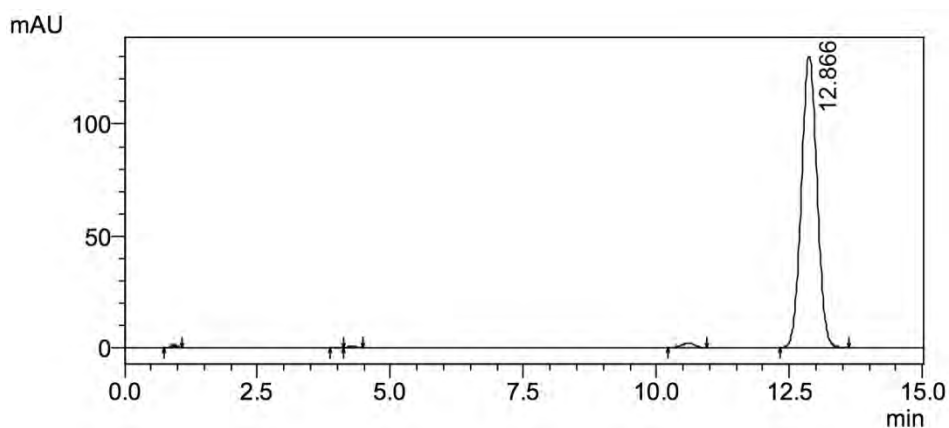
รูปที่ 40 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 8  $\mu\text{g/mL}$  เข้มที่ 2



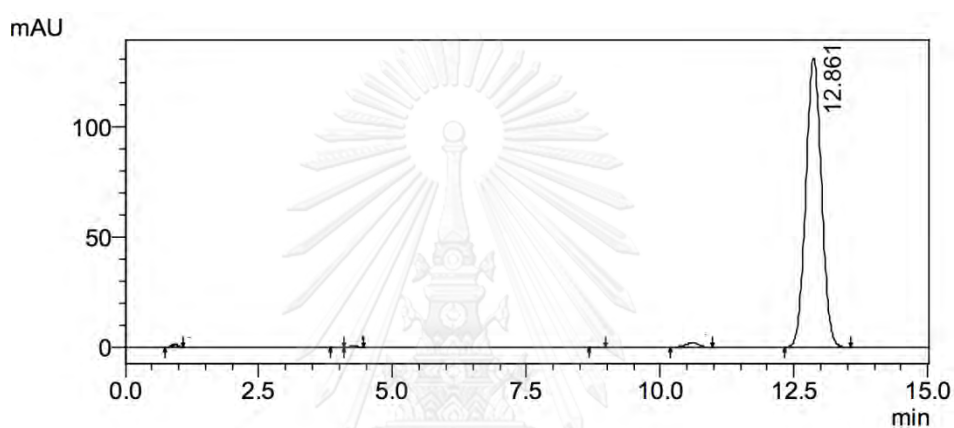
รูปที่ 41 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 8  $\mu\text{g/mL}$  เข้มที่ 3

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

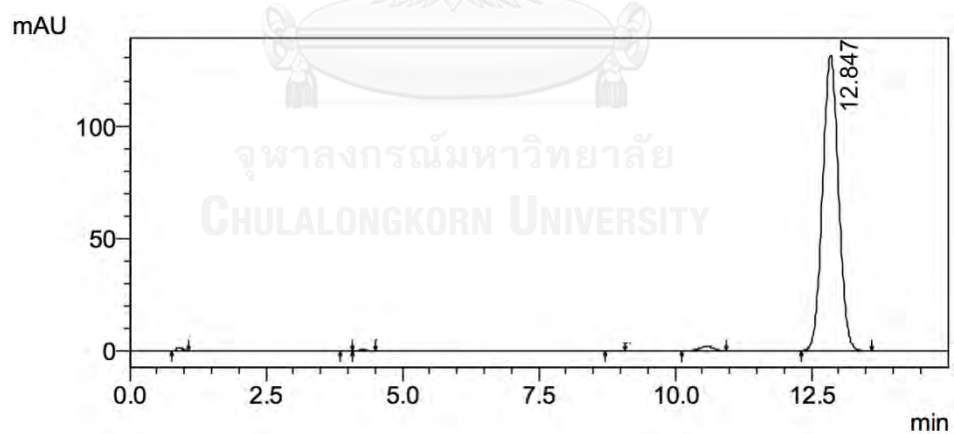
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 42 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 10  $\mu\text{g/mL}$  เข้มที่ 1



รูปที่ 43 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 10  $\mu\text{g/mL}$  เข้มที่ 2



รูปที่ 44 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 10  $\mu\text{g/mL}$  เข้มที่ 3

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

## ภาคผนวก ง

### ความแม่นยำและความเที่ยง

ความแม่นยำและความเที่ยงภายในวันเดียวกัน

ตารางที่ 7 ความแม่นยำและความเที่ยงภายในวันเดียวกันของสารละลายมาตรฐาน CDD

Time	Theoretical Concentrations (µg/mL)	Peak area	Measured Concentrations (µg/mL)
Morning 1		510303	1.93
Morning 2		511580	1.94
Morning 3		500367	1.90
Evening 1		500378	1.90
Evening 2	1.97	499623	1.89
Evening 3		501300	1.90
		Mean	1.91
		SD	0.02
		%RSD	1.05
		%Recovery = 96.90	
Morning 1		1603229	5.92
Morning 2		1584504	5.85
Morning 3		1594523	5.89
Evening 1		1611619	5.95
Evening 2	5.90	1603875	5.92
Evening 3		1608019	5.94
		Mean	5.91
		SD	0.04
		%RSD	0.61
		%Recovery = 100.20	

บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ตารางที่ 7 (ต่อ) ความแม่นยำและความเที่ยงภายในวันเดียวกันของสารละลายมาตรฐาน CDD

Time	Theoretical	Peak area	Measured
	Concentrations ( $\mu\text{g/mL}$ )		Concentrations ( $\mu\text{g/mL}$ )
Morning 1	9.83	2634925	9.69
Morning 2		2662765	9.79
Morning 3		2640621	9.71
Evening 1		2635452	9.69
Evening 2		2627798	9.66
Evening 3		2630200	9.67
			Mean
		SD	0.05
		%RSD	0.48
		%Recovery = 98.65	



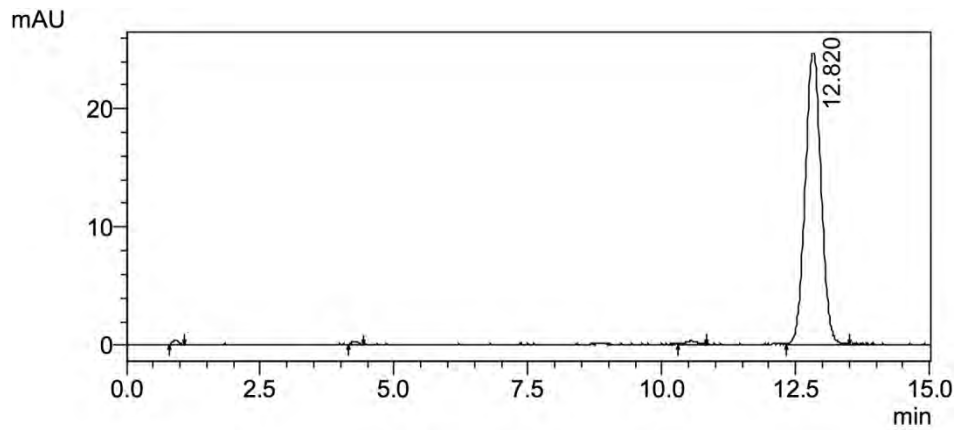
บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

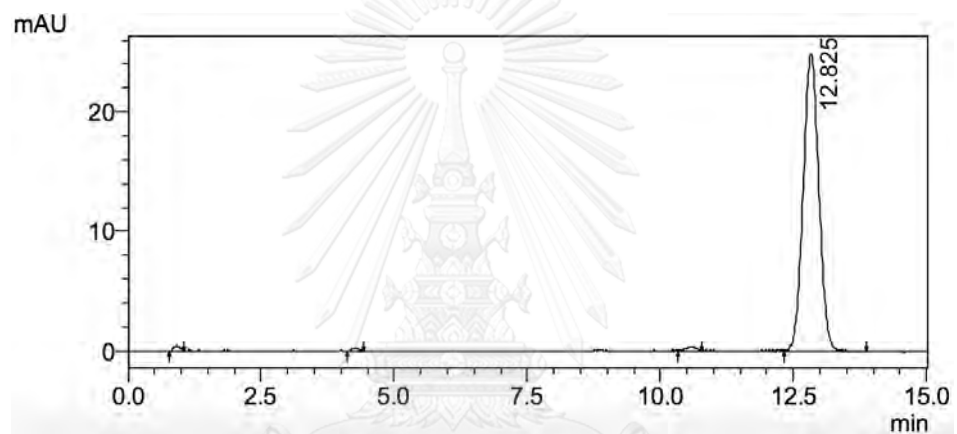
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



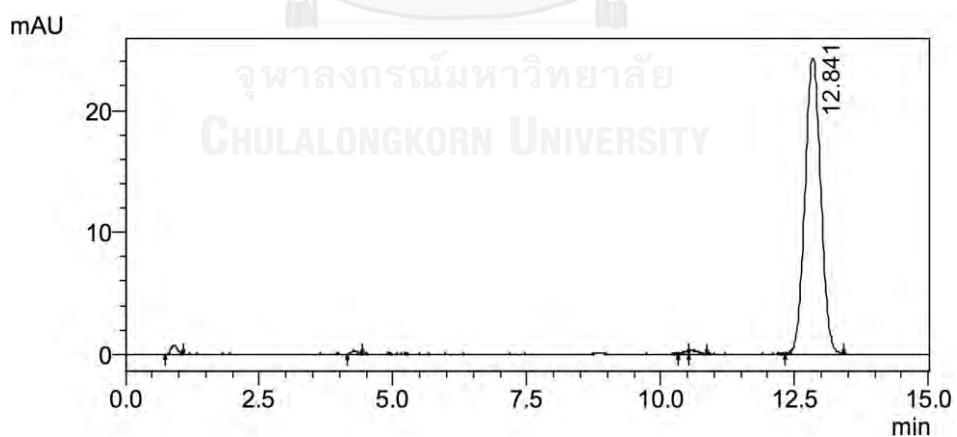
เวลาเช้า



รูปที่ 45 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข็มที่ 1



รูปที่ 46 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข็มที่ 2

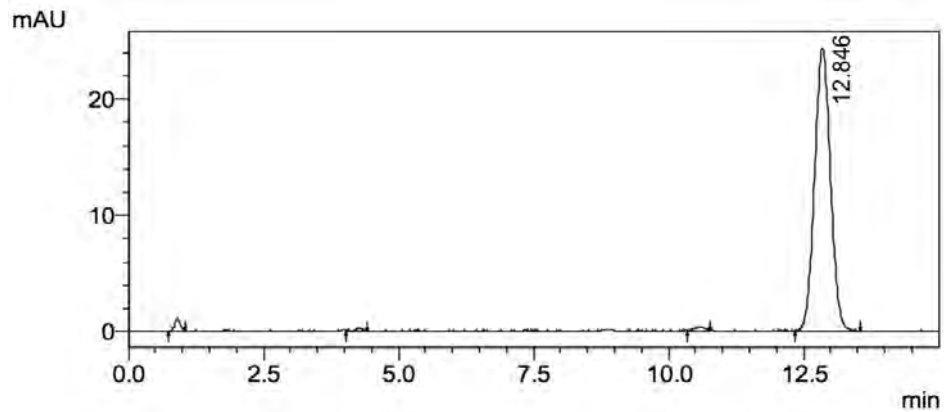


รูปที่ 47 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข็มที่ 3

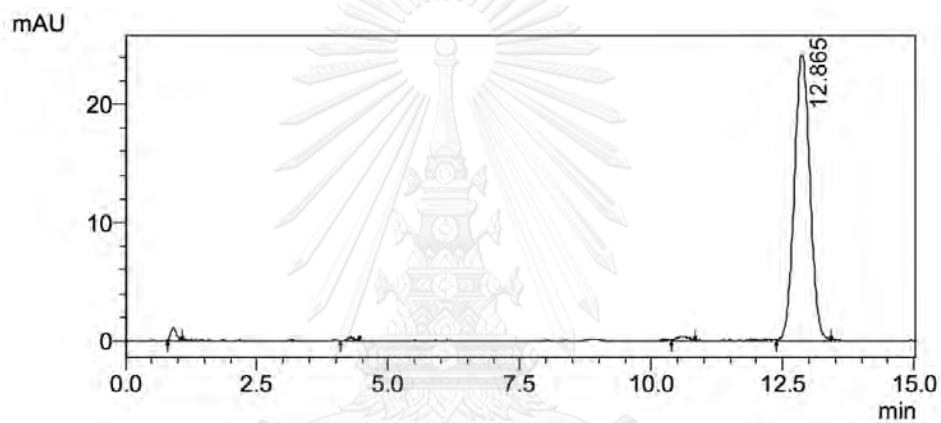
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

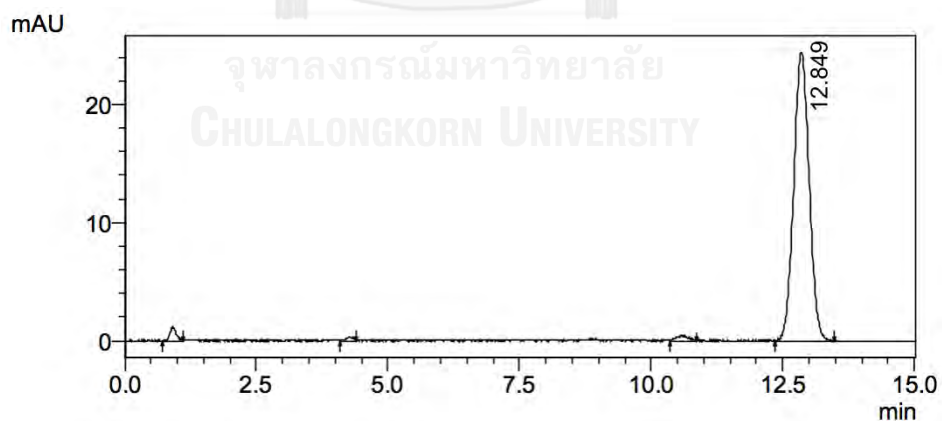
เวลาเย็น



รูปที่ 48 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข้มที่ 1



รูปที่ 49 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข้มที่ 2

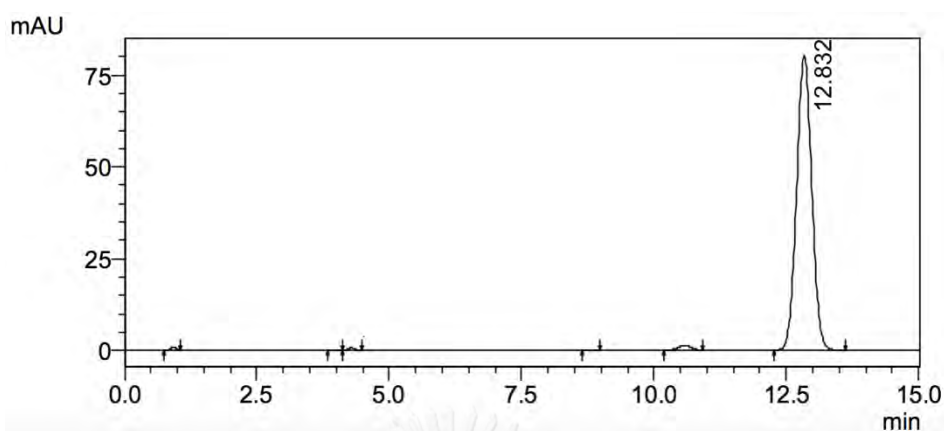


รูปที่ 50 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข้มที่ 3

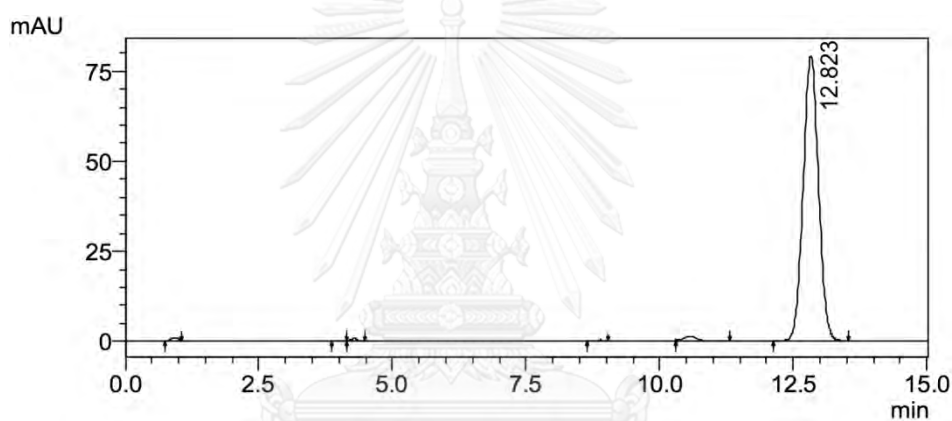
บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

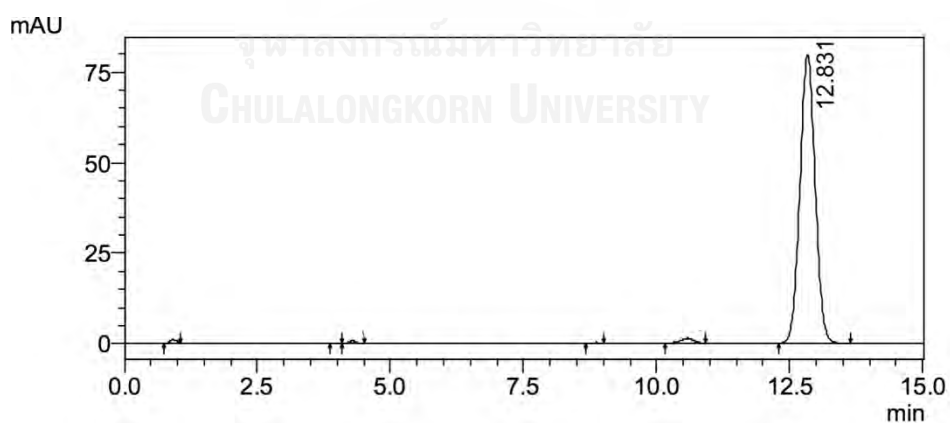
เวลาเช้า



รูปที่ 51 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เซ็มที่ 1



รูปที่ 52 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เซ็มที่ 2

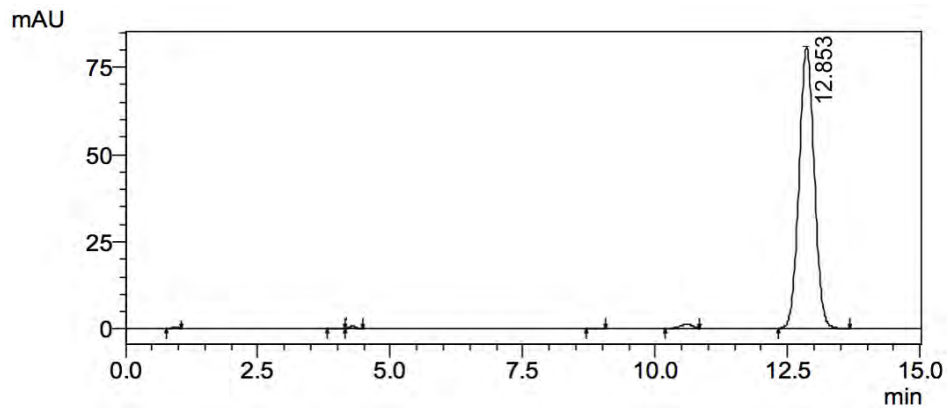


รูปที่ 53 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เซ็มที่ 3

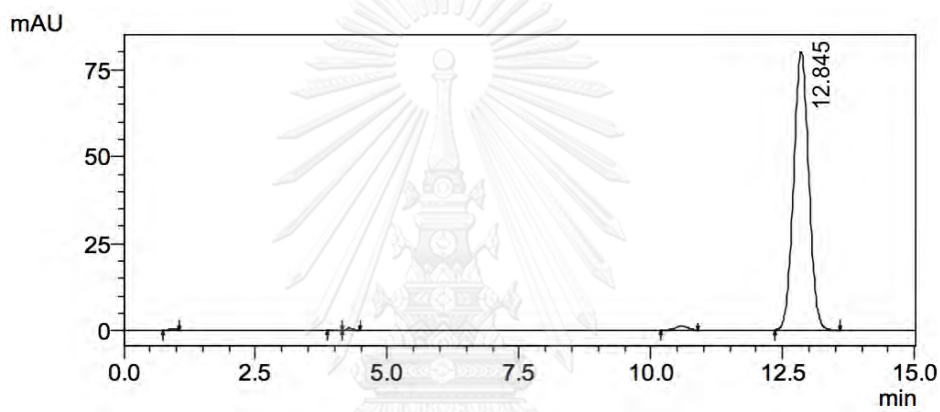
บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

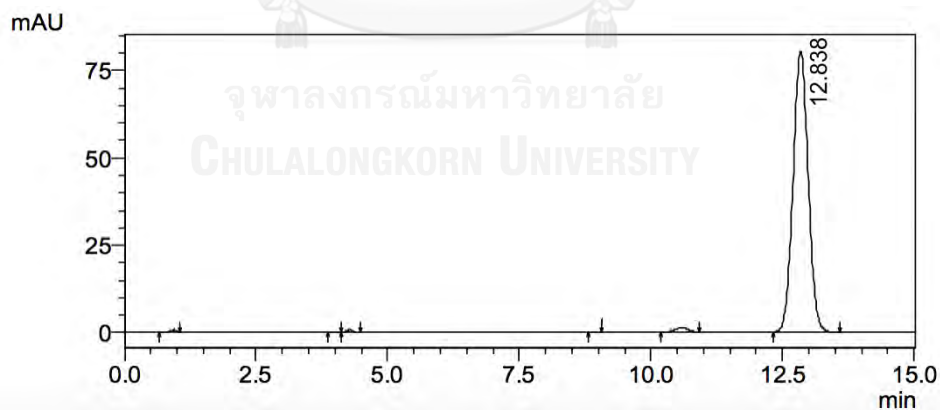
เวลาเย็น



รูปที่ 54 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เซ็มที่ 1



รูปที่ 55 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เซ็มที่ 2



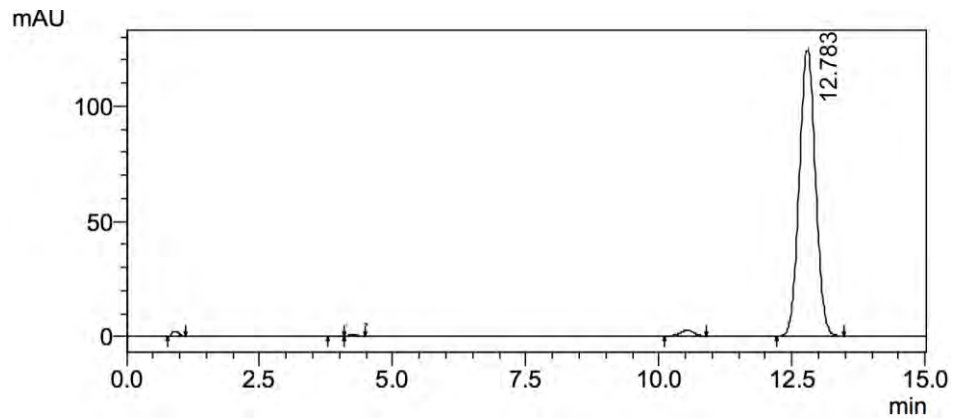
รูปที่ 56 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เซ็มที่ 3

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

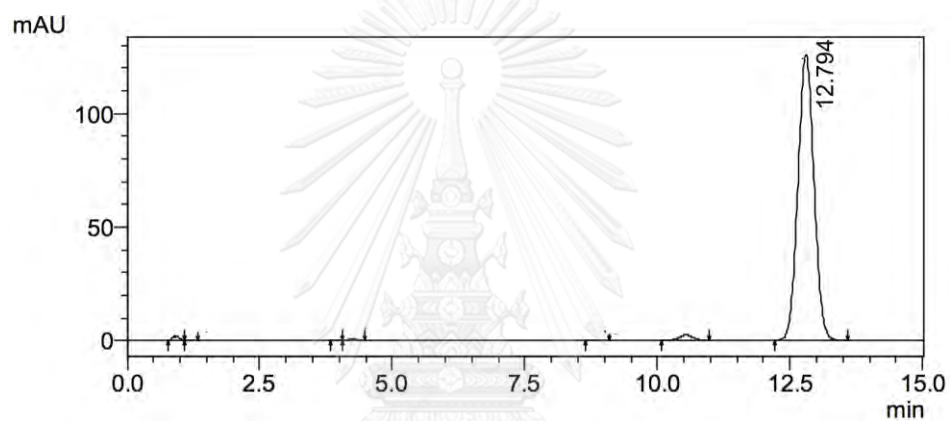
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

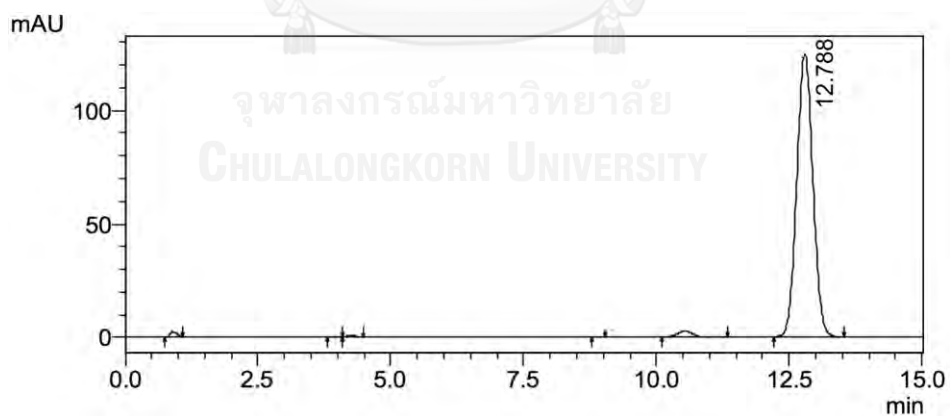
เวลาเช้า



รูปที่ 57 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 10  $\mu\text{g/mL}$  เข็มที่ 1



รูปที่ 58 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 10  $\mu\text{g/mL}$  เข็มที่ 2



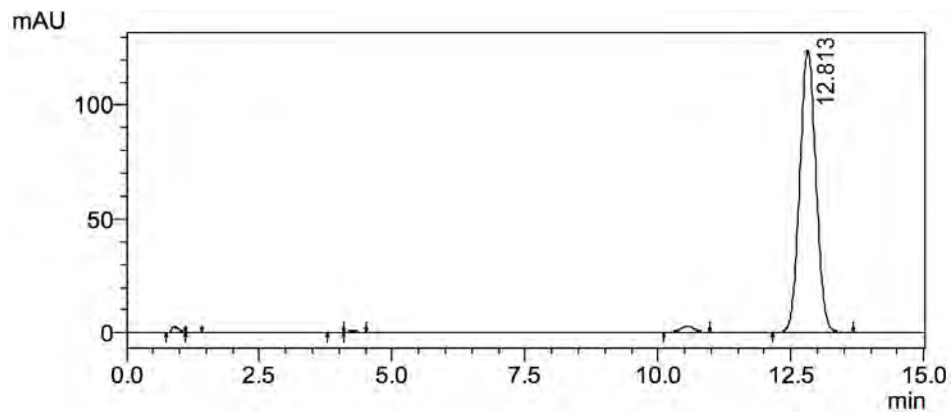
รูปที่ 59 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 10  $\mu\text{g/mL}$  เข็มที่ 3

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

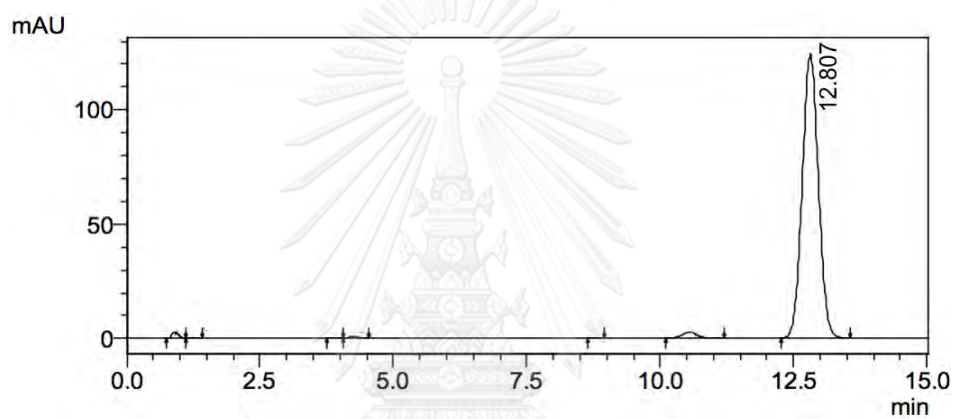
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

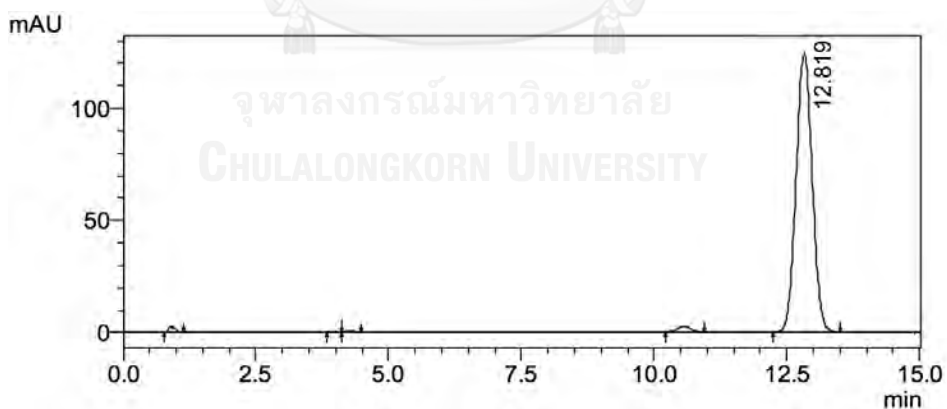
เวลาเย็น



รูปที่ 60 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 10  $\mu\text{g/mL}$  เข้มที่ 1



รูปที่ 61 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 10  $\mu\text{g/mL}$  เข้มที่ 2



รูปที่ 62 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 10  $\mu\text{g/mL}$  เข้มที่ 3

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

ความแม่นยำและความเที่ยงต่างวันกัน

ตารางที่ 8 ความแม่นยำและความเที่ยงต่างวันกันของสารละลายมาตรฐาน CDD

Time	Theoretical Concentrations (µg/mL)	Peak area	Measured Concentrations (µg/mL)
Day 1.1		510303	1.93
Day 1.2		511580	1.94
Day 1.3		500367	1.90
Day 2.1		505561	1.91
Day 2.2		505213	1.91
Day 2.3		499433	1.89
Day 3.1	1.97	499407	1.89
Day 3.2		504929	1.91
Day 3.3		505646	1.92
		Mean	1.91
		SD	0.02
		%RSD	0.84
%Recovery = 97.05			
Day 1.1		1603229	5.92
Day 1.2		1584504	5.85
Day 1.3		1594523	5.89
Day 2.1		1586190	5.86
Day 2.2		1615300	5.96
Day 2.3		1609728	5.94
Day 3.1	5.90	1611459	5.95
Day 3.2		1572575	5.81
Day 3.3		1576972	5.82
		Mean	5.89
		SD	0.06
		%RSD	0.98
%Recovery = 99.83			

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



ตารางที่ 8 (ต่อ) ความแม่นยำและความเที่ยงต่างวันกันของสารละลายมาตรฐาน CDD

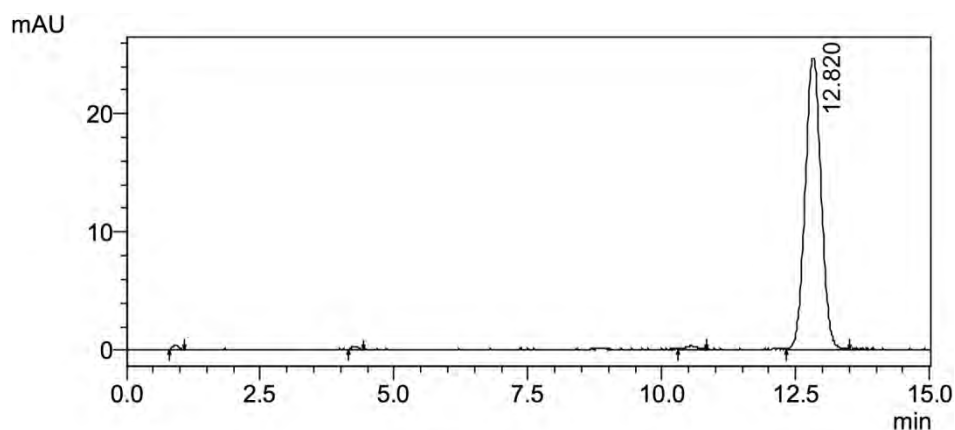
Time	Theoretical Concentrations (µg/mL)	Peak area	Measured Concentrations (µg/mL)
Day 1.1		2634925	9.69
Day 1.2		2662765	9.79
Day 1.3		2640621	9.71
Day 2.1		2670673	9.81
Day 2.2		2657535	9.77
Day 2.3		2648780	9.73
Day 3.1	9.83	2649617	9.74
Day 3.2		2642816	9.71
Day 3.3		2640634	9.71
		Mean	9.74
		SD	0.04
		%RSD	0.44
		%Recovery = 99.07	

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

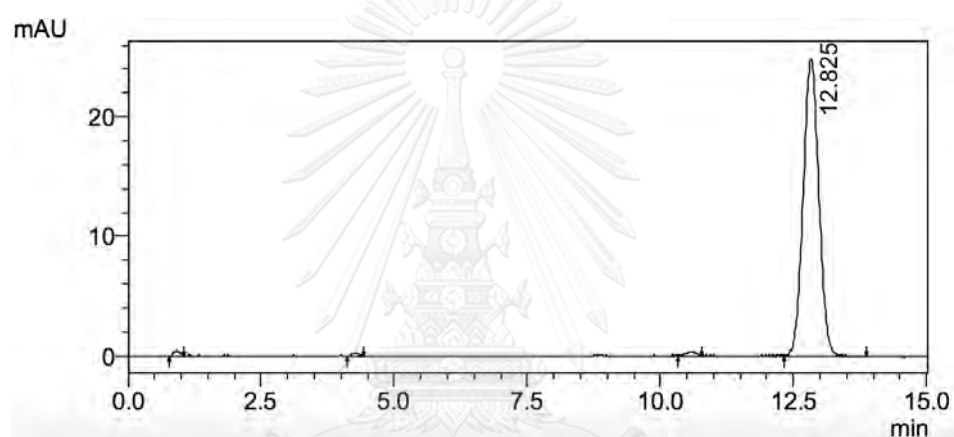
บทคัดย่อและเพิ่มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นเพิ่มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

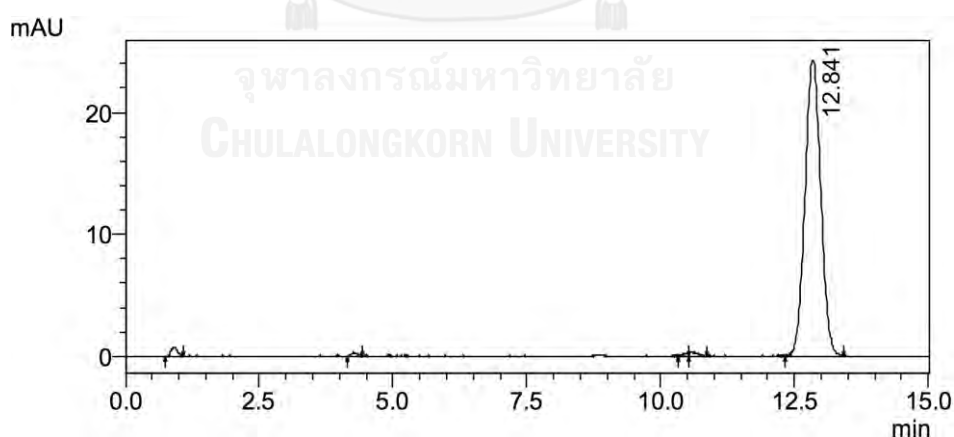
วันที่ 1



รูปที่ 63 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เซ็มที่ 1



รูปที่ 64 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เซ็มที่ 2

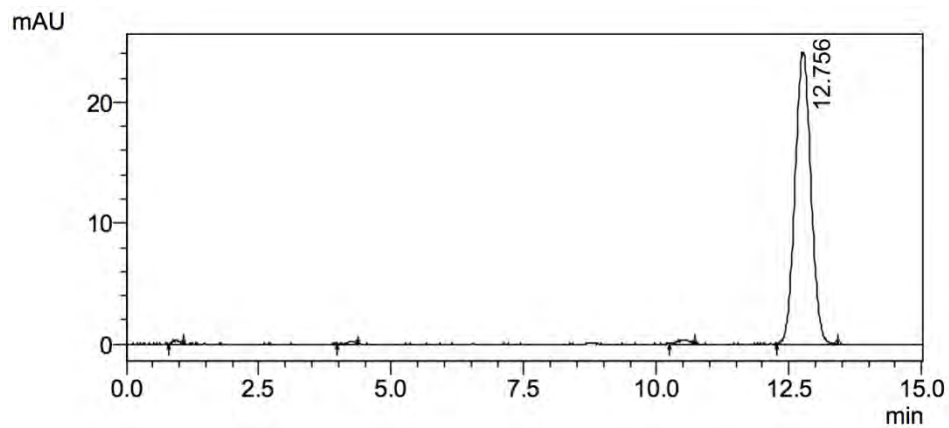


รูปที่ 65 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เซ็มที่ 3

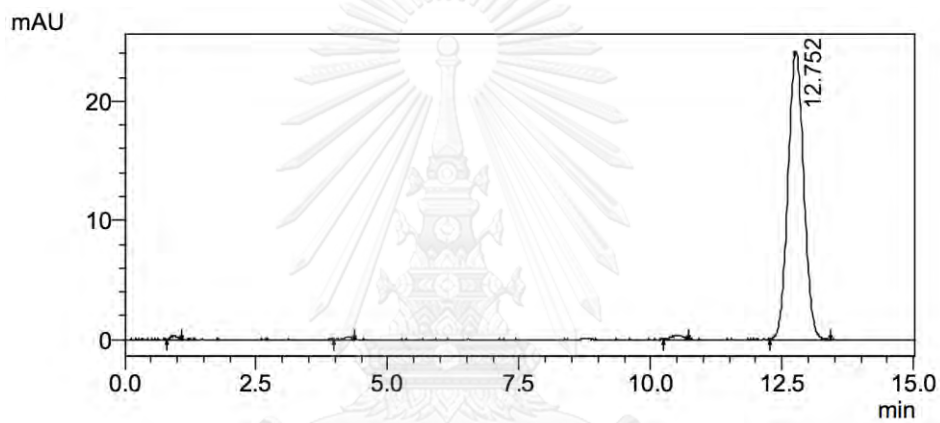
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

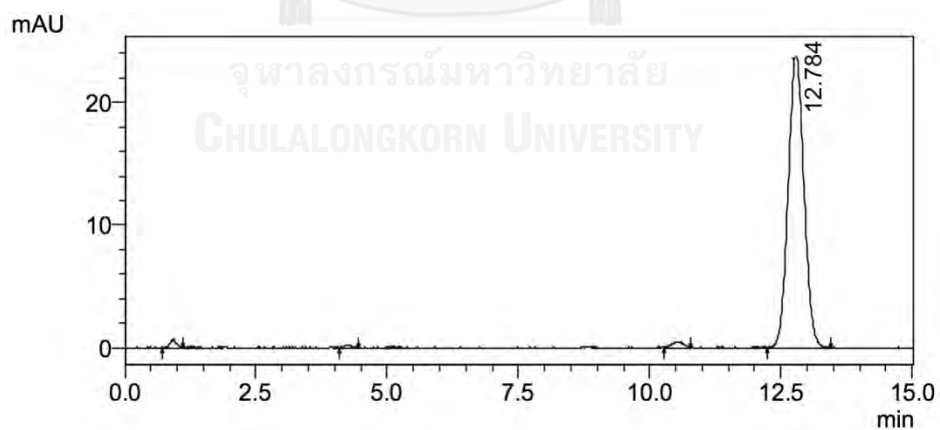
วันที่ 2



รูปที่ 66 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เซ็มที่ 1



รูปที่ 67 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เซ็มที่ 2

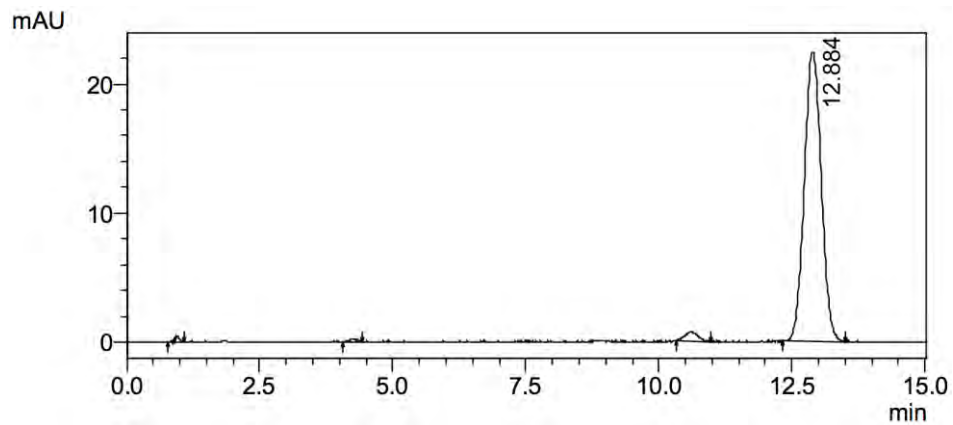


รูปที่ 68 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เซ็มที่ 3

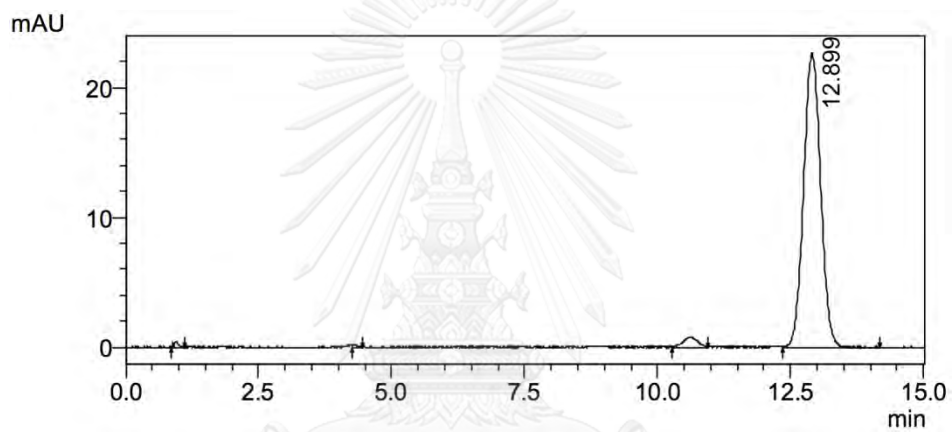
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

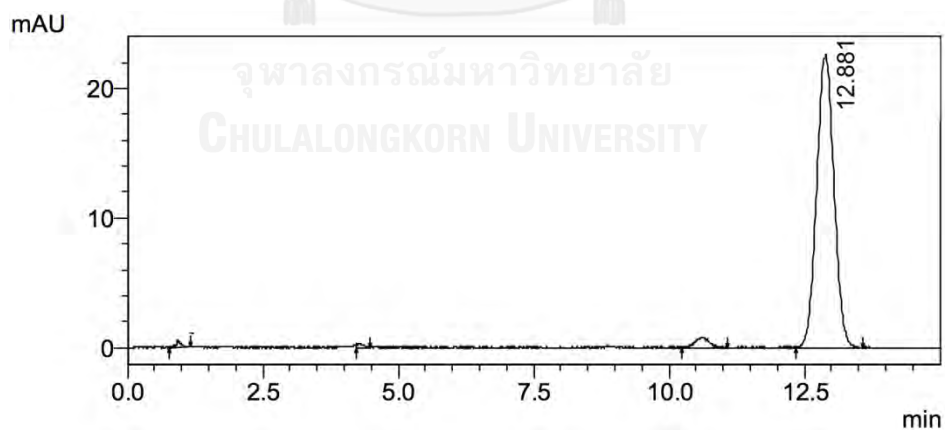
วันที่ 3



รูปที่ 69 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 2  $\mu\text{g/mL}$  เซ็มที่ 1



รูปที่ 70 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 2  $\mu\text{g/mL}$  เซ็มที่ 2

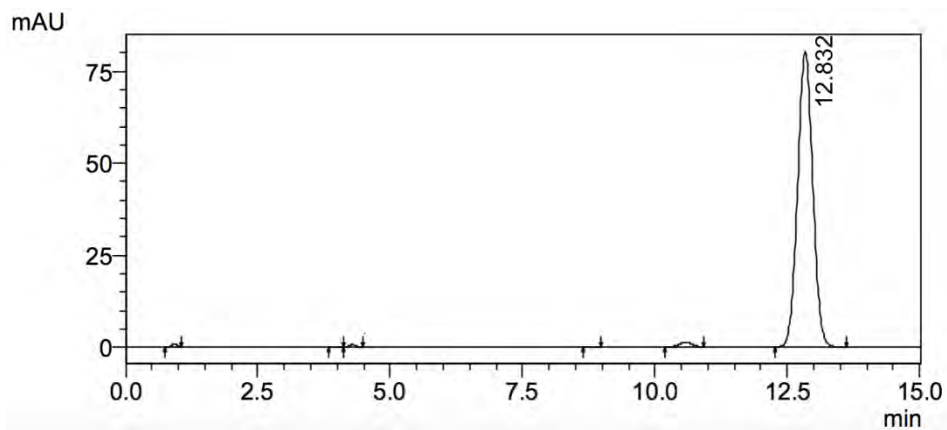


รูปที่ 71 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 2  $\mu\text{g/mL}$  เซ็มที่ 3

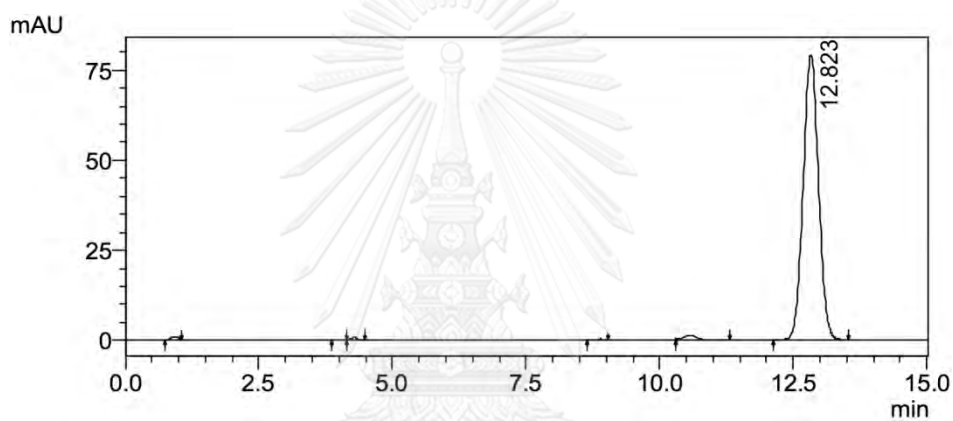
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

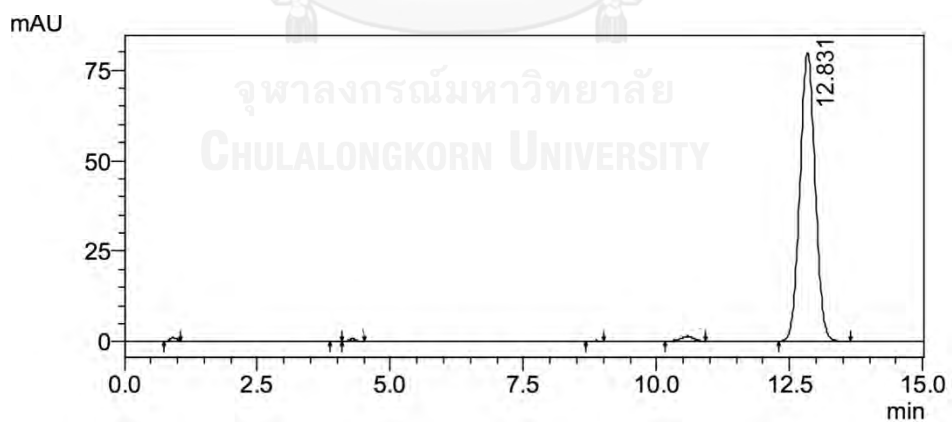
วันที่ 1



รูปที่ 72 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข็มที่ 1



รูปที่ 73 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข็มที่ 2

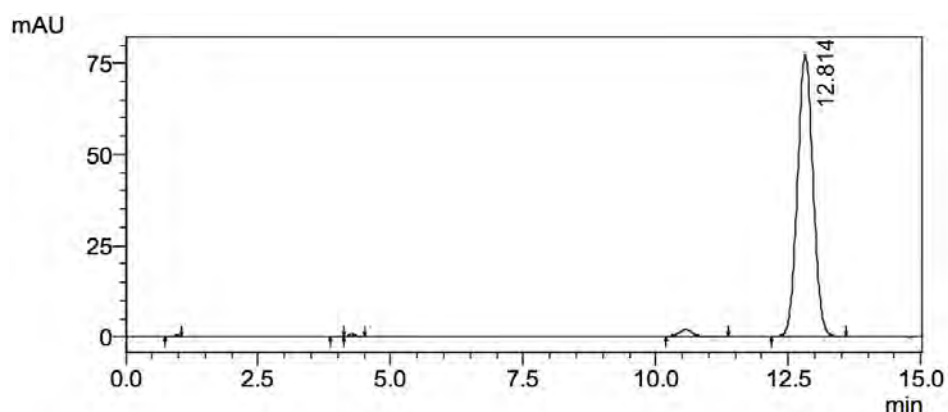


รูปที่ 74 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เข็มที่ 3

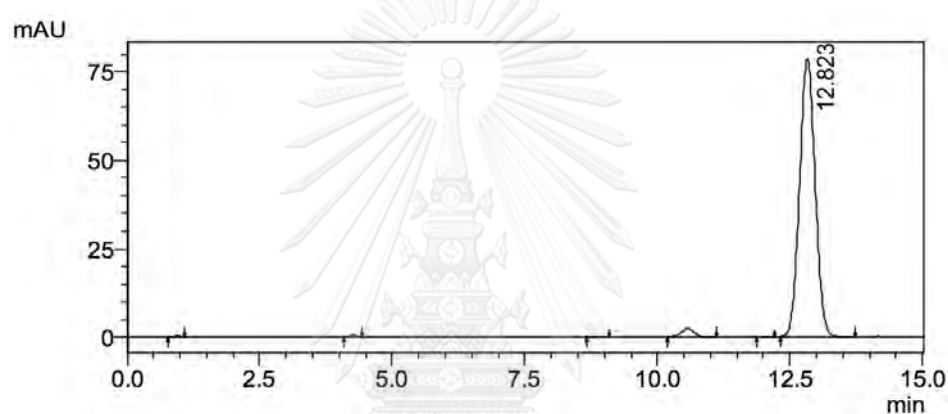
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

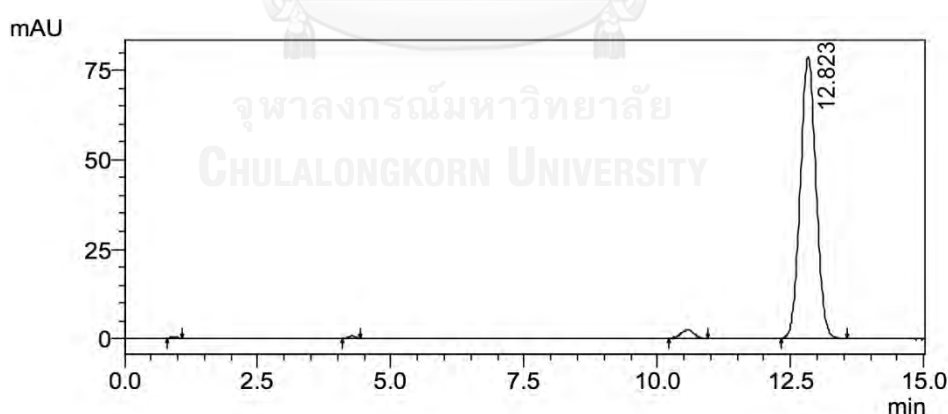
วันที่ 2



รูปที่ 75 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g/mL}$  เซ็มที่ 1



รูปที่ 76 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g/mL}$  เซ็มที่ 2

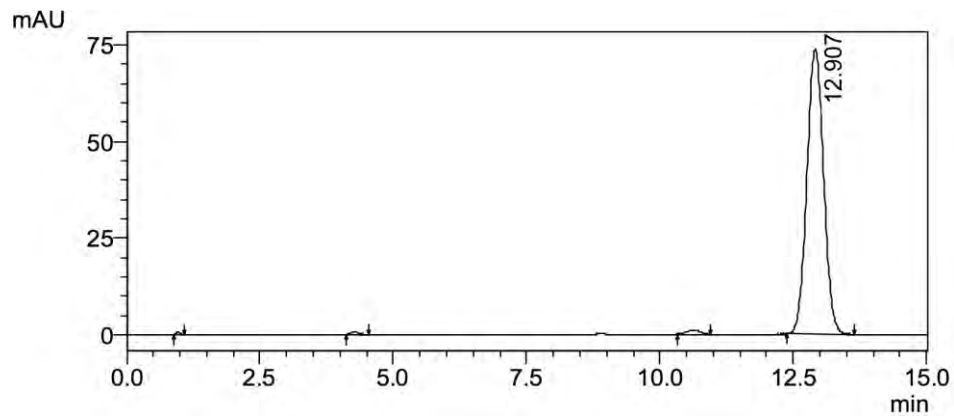


รูปที่ 77 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g/mL}$  เซ็มที่ 3

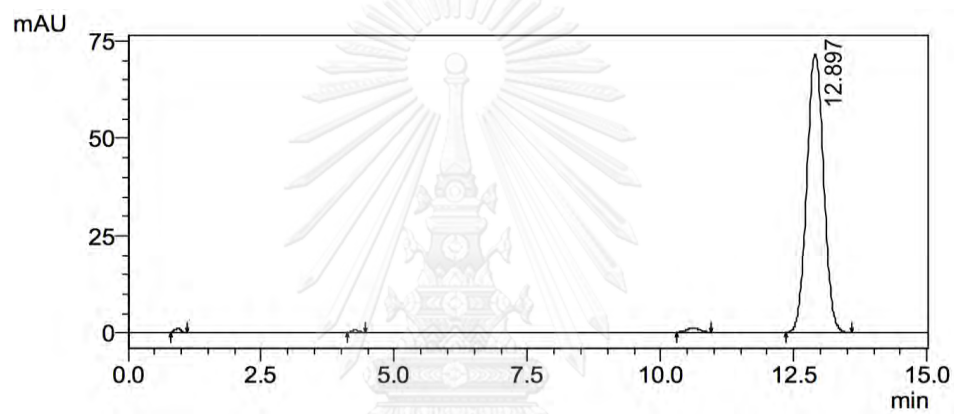
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

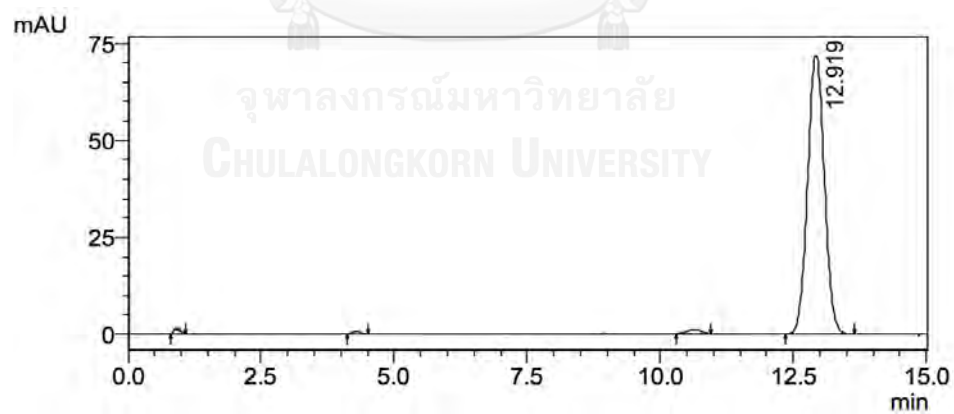
วันที่ 3



รูปที่ 78 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เซ็มที่ 1



รูปที่ 79 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เซ็มที่ 2

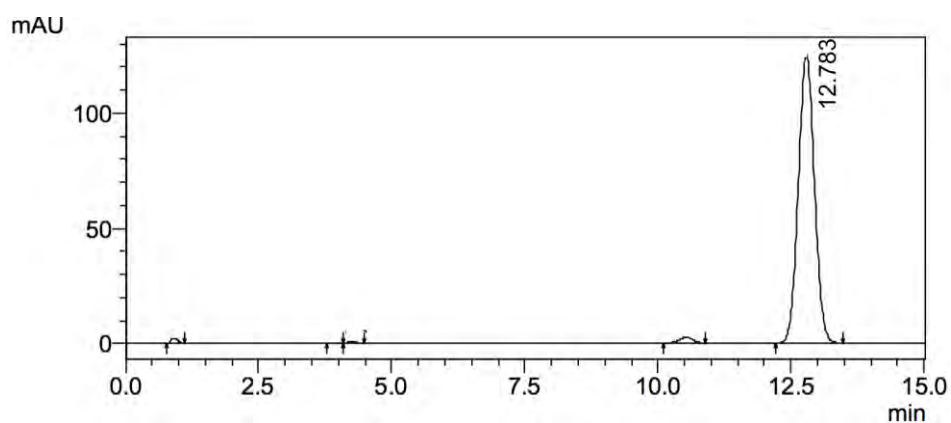


รูปที่ 80 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  เซ็มที่ 3

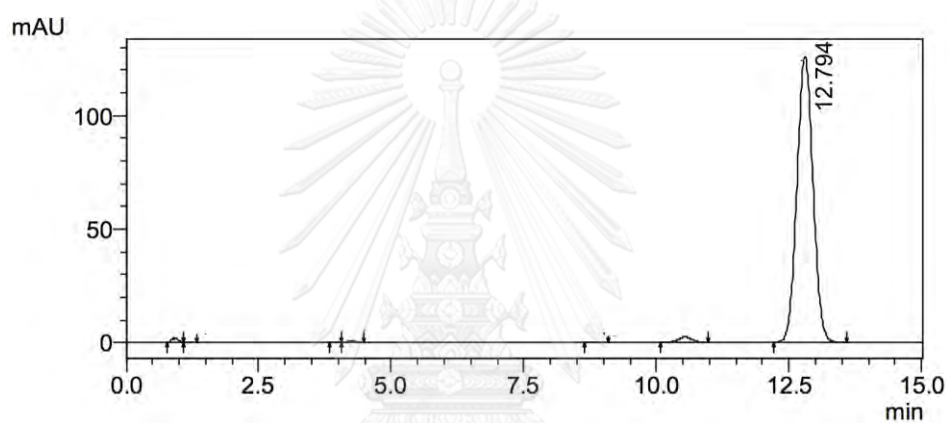
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

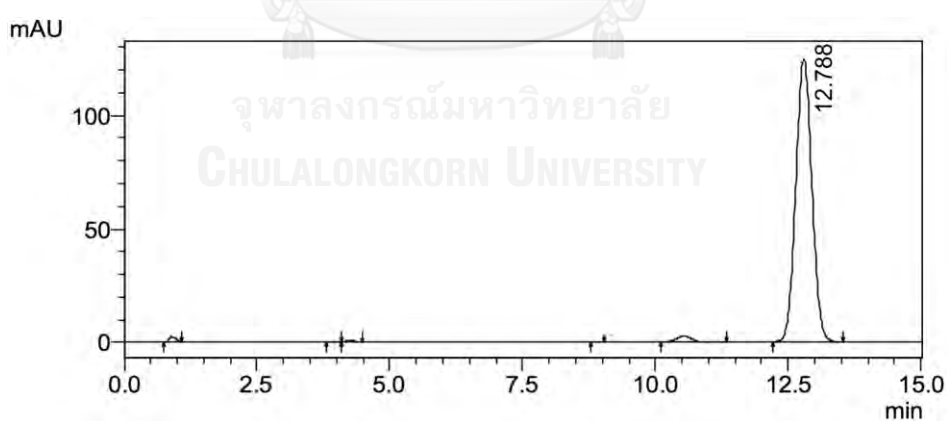
วันที่ 1



รูปที่ 81 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 10  $\mu\text{g/mL}$  เข็มที่ 1



รูปที่ 82 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 10  $\mu\text{g/mL}$  เข็มที่ 2



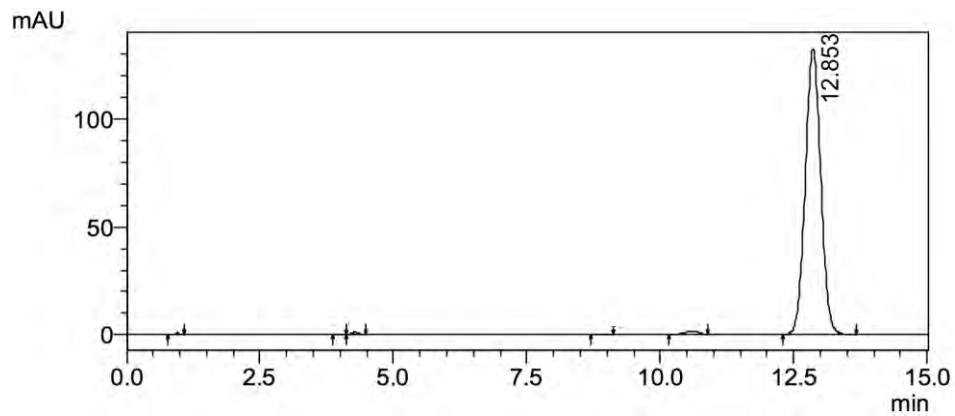
รูปที่ 83 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 10  $\mu\text{g/mL}$  เข็มที่ 3

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

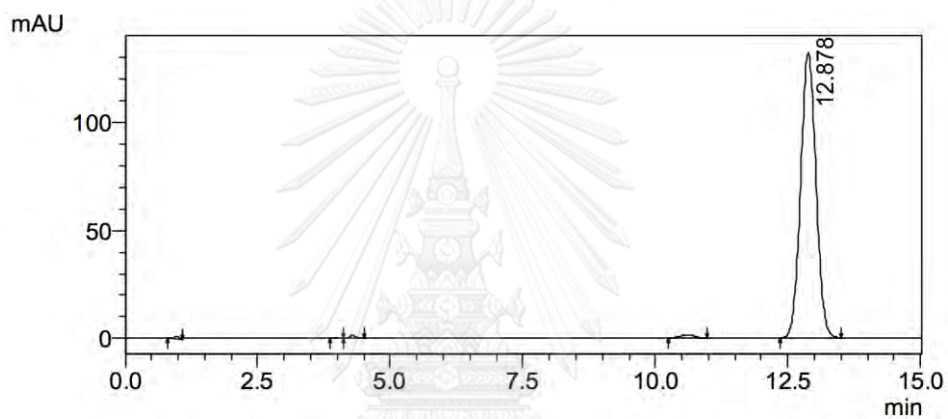
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



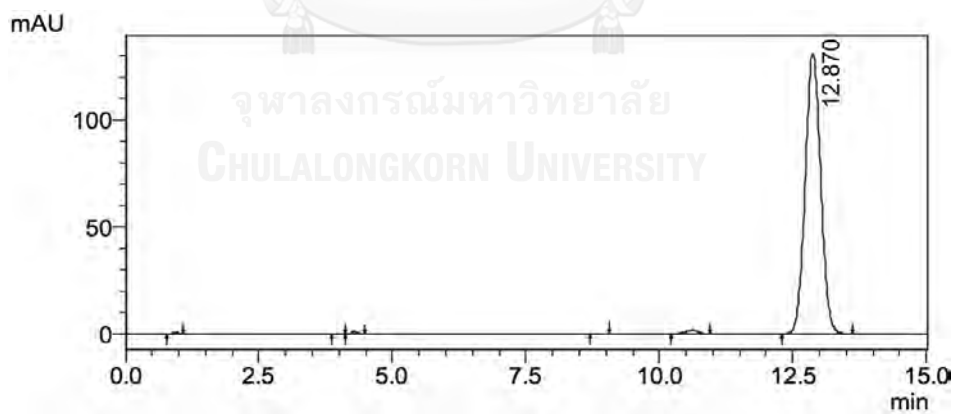
วันที่ 2



รูปที่ 84 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 10 µg/mL เข้มที่ 1



รูปที่ 85 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 10 µg/mL เข้มที่ 2

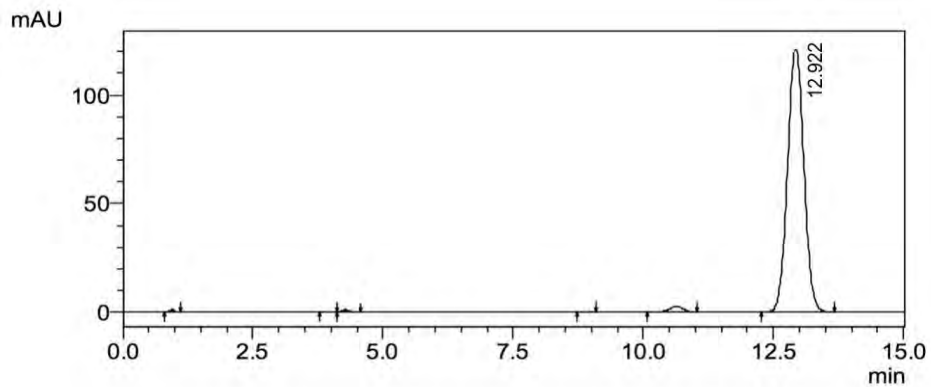


รูปที่ 86 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 10 µg/mL เข้มที่ 3

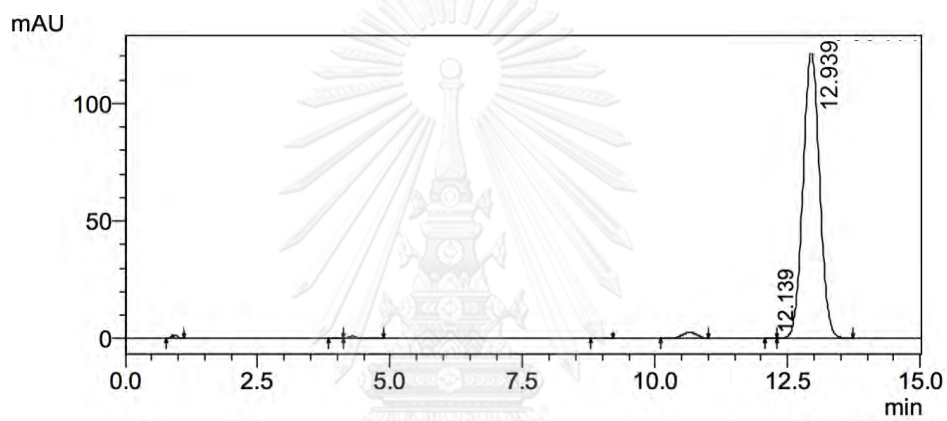
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

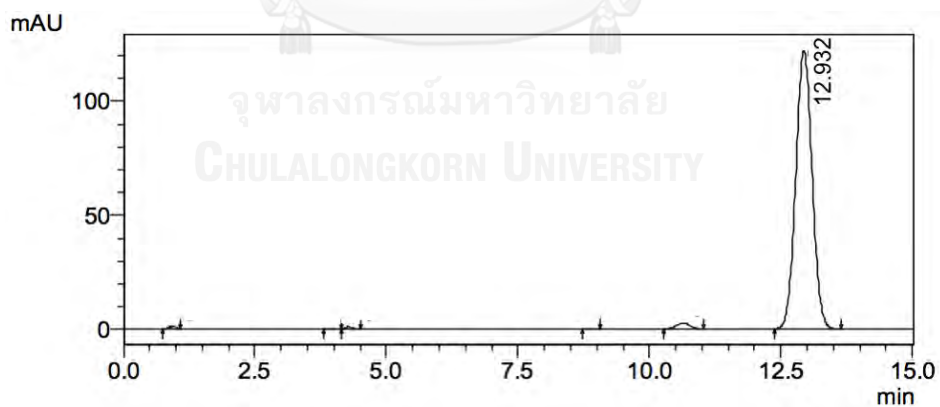
วันที่ 3



รูปที่ 87 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 10  $\mu\text{g/mL}$  เข้มที่ 1



รูปที่ 88 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 10  $\mu\text{g/mL}$  เข้มที่ 2



รูปที่ 89 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 10  $\mu\text{g/mL}$  เข้มที่ 3

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

**ภาคผนวก จ**  
**ความคงทน**

ตารางที่ 9 ความคงทนของสารละลายมาตรฐาน CDD

Acetonitrile: 2% Acetic acid (v/v)	Tube	Parameters			
		Retention time (min)	Resolution	Tailing factor	Capacity factor
70:30	1	17.85	4.98	1.037	19.34
	2	17.84	4.98	1.036	19.50
	3	17.87	5.03	1.034	19.08
	Mean	17.85	5.00	1.036	19.31
	SD	0.01	0.03	0.002	0.21
	%RSD	0.07	0.56	0.15	1.09
	72:28	1	12.83	4.49	1.052
2		12.84	4.48	1.055	12.76
3		12.85	4.45	1.051	13.08
Mean		12.84	4.47	1.053	12.97
SD		0.01	0.02	0.002	0.19
%RSD		0.08	0.45	0.20	1.46
74:26		1	9.63	3.99	1.089
	2	9.62	4.03	1.090	9.66
	3	9.63	3.98	1.086	9.45
	Mean	9.63	4.00	1.088	9.56
	SD	0.01	0.03	0.002	0.11
	%RSD	0.05	0.75	0.19	1.10

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

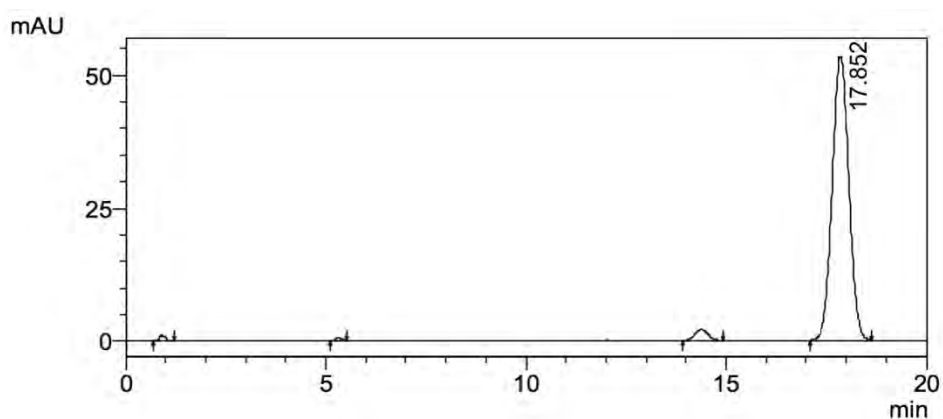
ตารางที่ 9 (ต่อ) ความคงทนของสารละลายมาตรฐาน CDD

Acetonitrile:		Parameters			
2% Acetic acid (v/v)	Tube	Retention time (min)	Resolution	Tailing factor	Capacity factor
76:24	1	7.33	3.36	1.134	6.89
	2	7.32	3.38	1.128	7.04
	3	7.32	3.33	1.131	7.08
	Mean	7.32	3.35	1.131	7.01
	SD	0.01	0.03	0.003	0.10
	%RSD	0.08	0.76	0.27	1.44
	78:22	1	5.65	2.68	1.182
2		5.66	2.70	1.177	5.07
3		5.65	2.69	1.183	5.19
Mean		5.65	2.69	1.181	5.11
SD		0.01	0.01	0.003	0.07
%RSD		0.10	0.21	0.27	1.34
80:20		1	4.47	2.06	1.240
	2	4.46	2.05	1.242	3.79
	3	4.47	2.05	1.239	3.80
	Mean	4.47	2.05	1.240	3.82
	SD	0.01	0.01	0.002	0.05
	%RSD	0.14	0.29	0.12	1.38

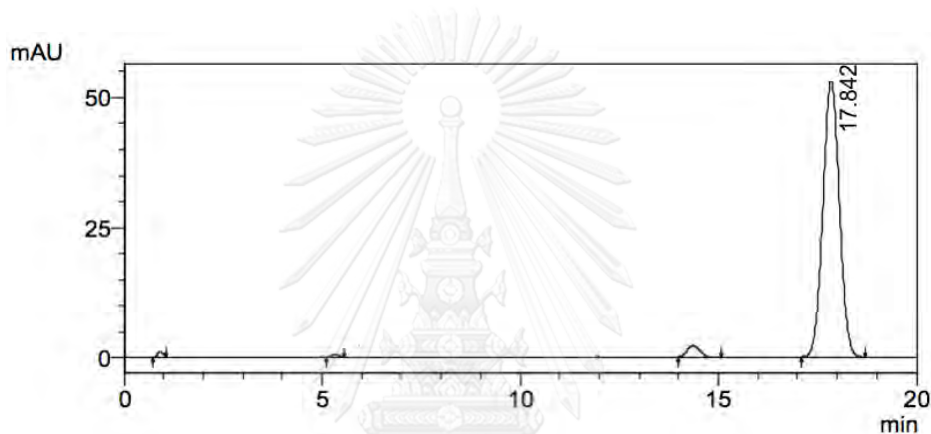
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

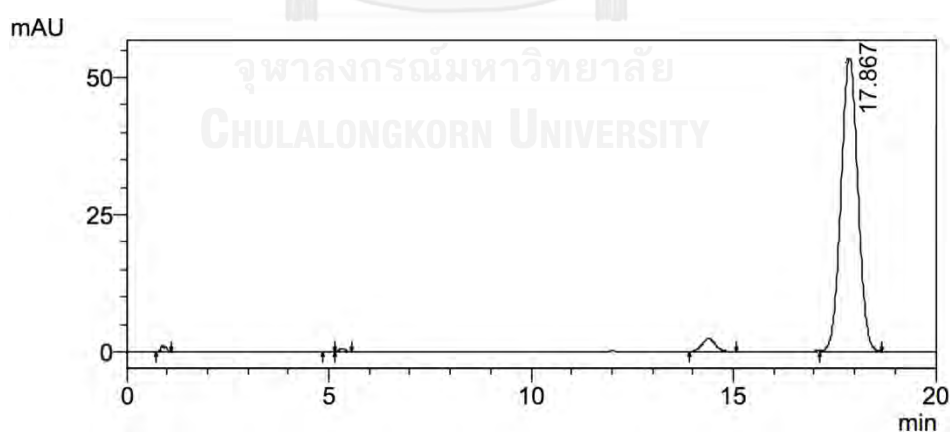
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 90 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$   
โดยใช้ acetonitrile: 2% acetic acid 70:30 v/v เข็มที่ 1



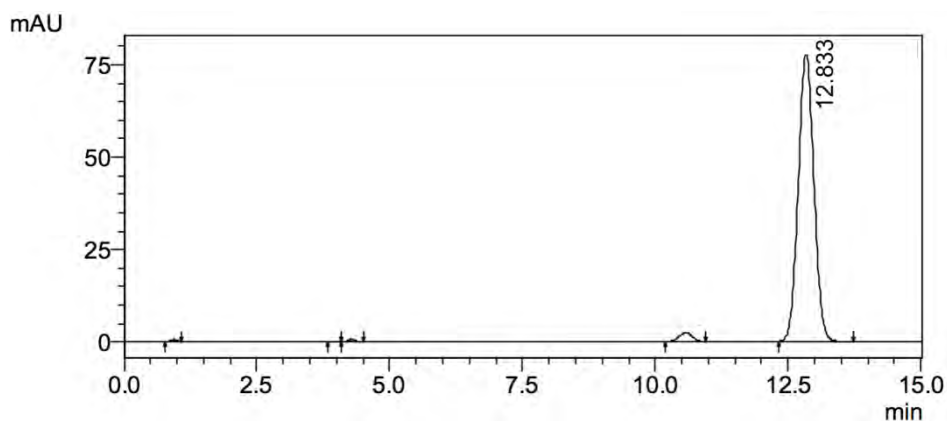
รูปที่ 91 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$   
โดยใช้ acetonitrile: 2% acetic acid 70:30 v/v เข็มที่ 2



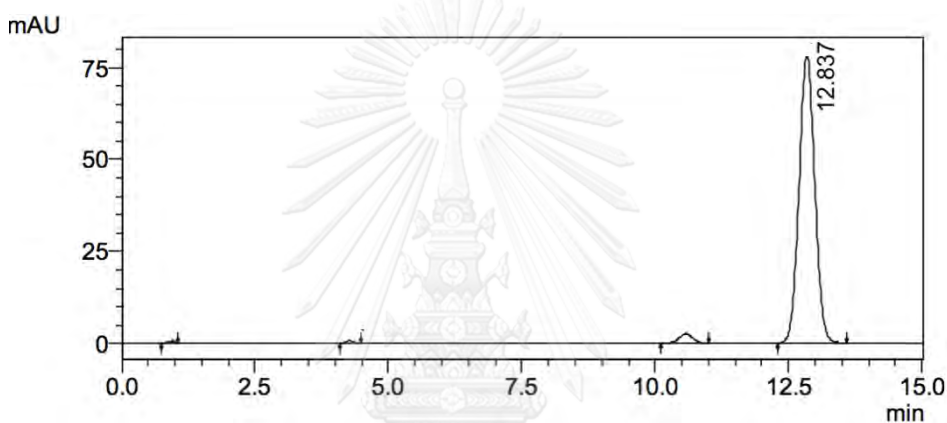
รูปที่ 92 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$   
โดยใช้ acetonitrile: 2% acetic acid 70:30 v/v เข็มที่ 3

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

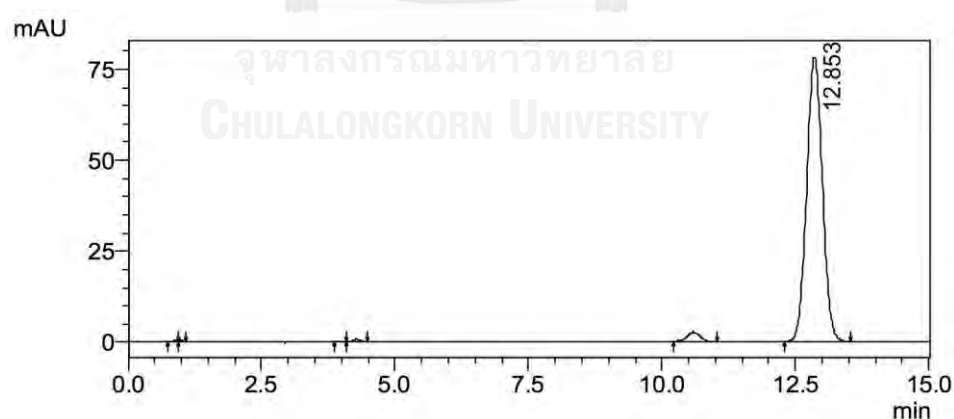
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 93 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g/mL}$   
โดยใช้ acetonitrile: 2% acetic acid 72:28 v/v เข้มที่ 1



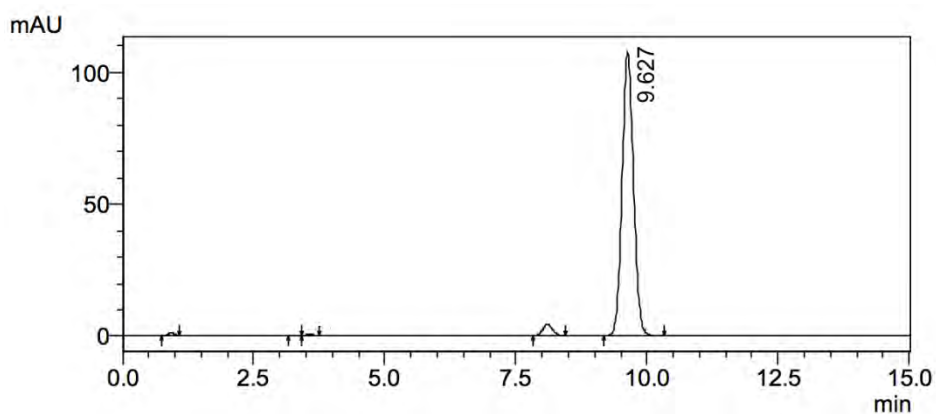
รูปที่ 94 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g/mL}$   
โดยใช้ acetonitrile: 2% acetic acid 72:28 v/v เข้มที่ 2



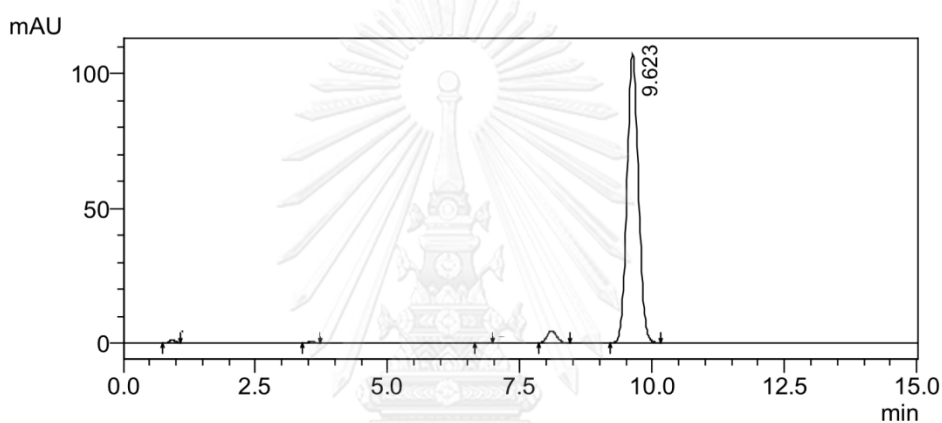
รูปที่ 95 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g/mL}$   
โดยใช้ acetonitrile: 2% acetic acid 72:28 v/v เข้มที่ 3

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

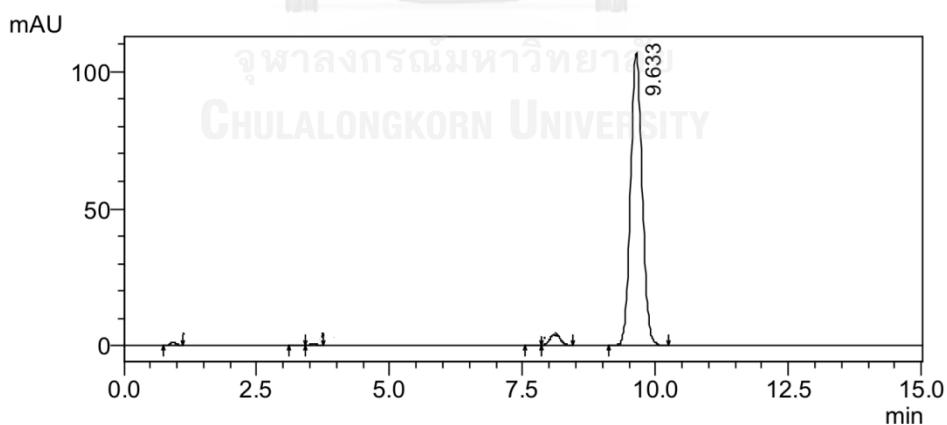
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 96 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g/mL}$   
โดยใช้ acetonitrile: 2% acetic acid 74:26 v/v เข้มที่ 1



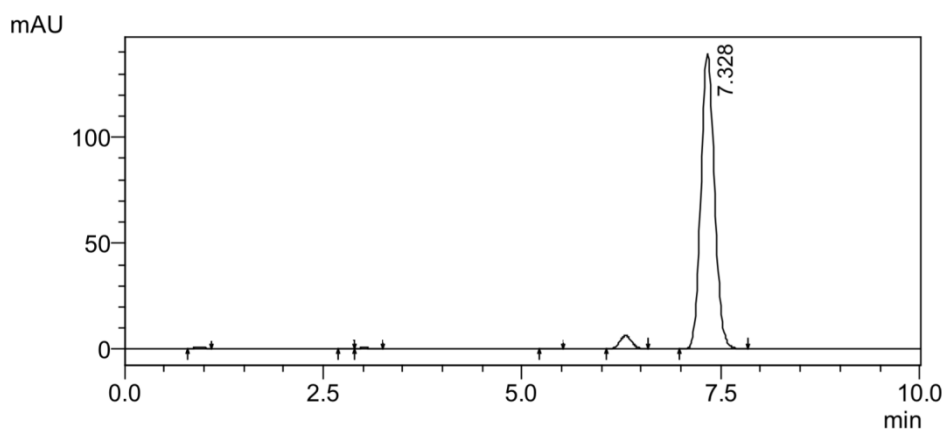
รูปที่ 97 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g/mL}$   
โดยใช้ acetonitrile: 2% acetic acid 74:26 v/v เข้มที่ 2



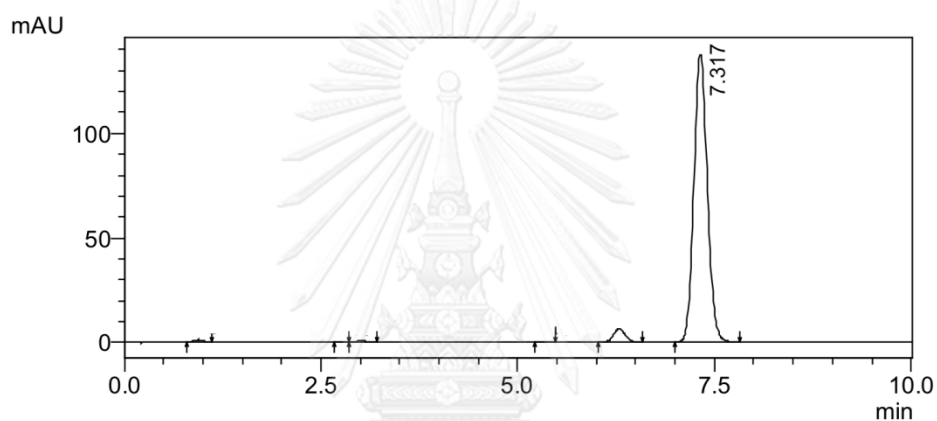
รูปที่ 98 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g/mL}$   
โดยใช้ acetonitrile: 2% acetic acid 74:26 v/v เข้มที่ 3

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

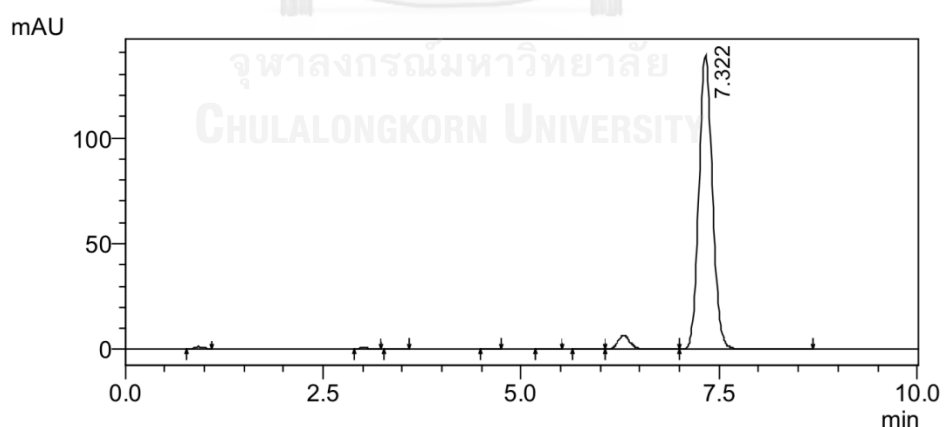
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 99 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g/mL}$   
โดยใช้ acetonitrile: 2% acetic acid 76:24 v/v เข็มที่ 1



รูปที่ 100 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g/mL}$   
โดยใช้ acetonitrile: 2% acetic acid 76:24 v/v เข็มที่ 2

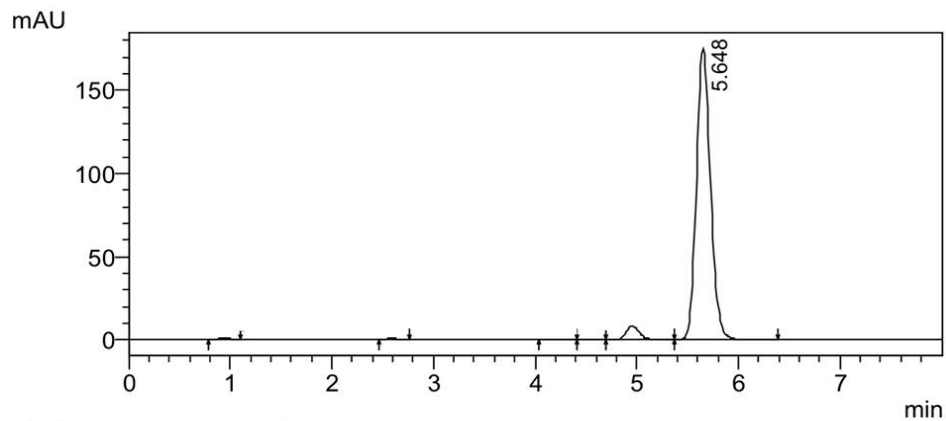


รูปที่ 101 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g/mL}$   
โดยใช้ acetonitrile: 2% acetic acid 76:24 v/v เข็มที่ 3

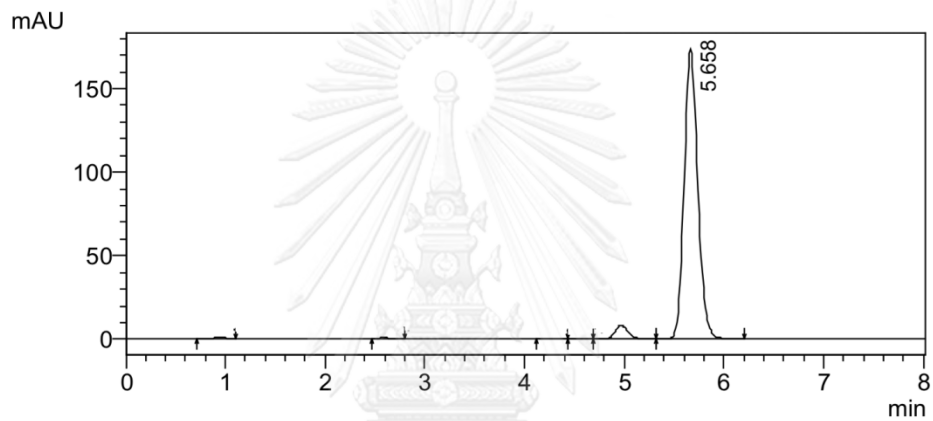
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.

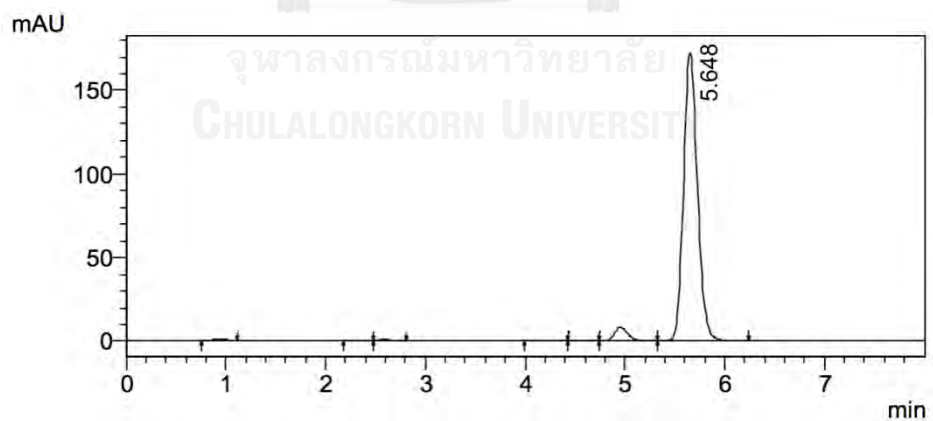




รูปที่ 102 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g/mL}$   
โดยใช้ acetonitrile: 2% acetic acid 78:22 v/v เข็มที่ 1



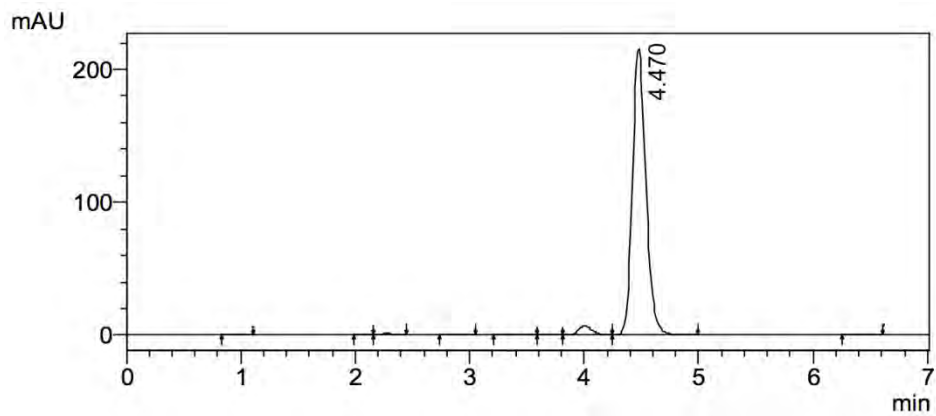
รูปที่ 103 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g/mL}$   
โดยใช้ acetonitrile: 2% acetic acid 78:22 v/v เข็มที่ 2



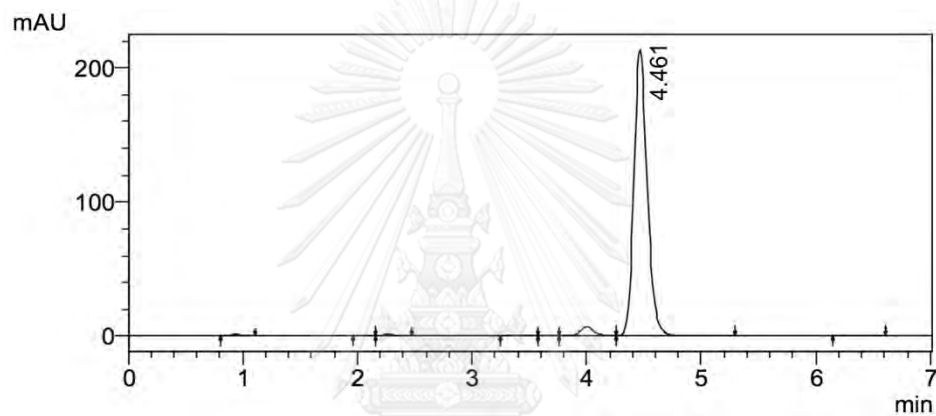
รูปที่ 104 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g/mL}$   
โดยใช้ acetonitrile: 2% acetic acid 78:22 v/v เข็มที่ 3

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

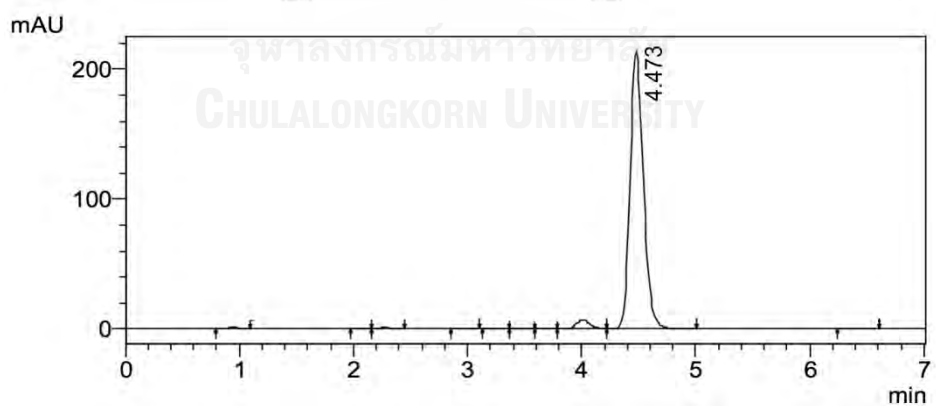
The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.



รูปที่ 105 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g/mL}$   
โดยใช้ acetonitrile: 2% acetic acid 80:20 v/v เข็มที่ 1



รูปที่ 106 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g/mL}$   
โดยใช้ acetonitrile: 2% acetic acid 80:20 v/v เข็มที่ 2



รูปที่ 107 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน CDD 6  $\mu\text{g/mL}$   
โดยใช้ acetonitrile: 2% acetic acid 80:20 v/v เข็มที่ 3

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการปริญญาโทที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการปริญญาโทที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of Senior Project in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the Senior Project authors' files submitted through the faculty.