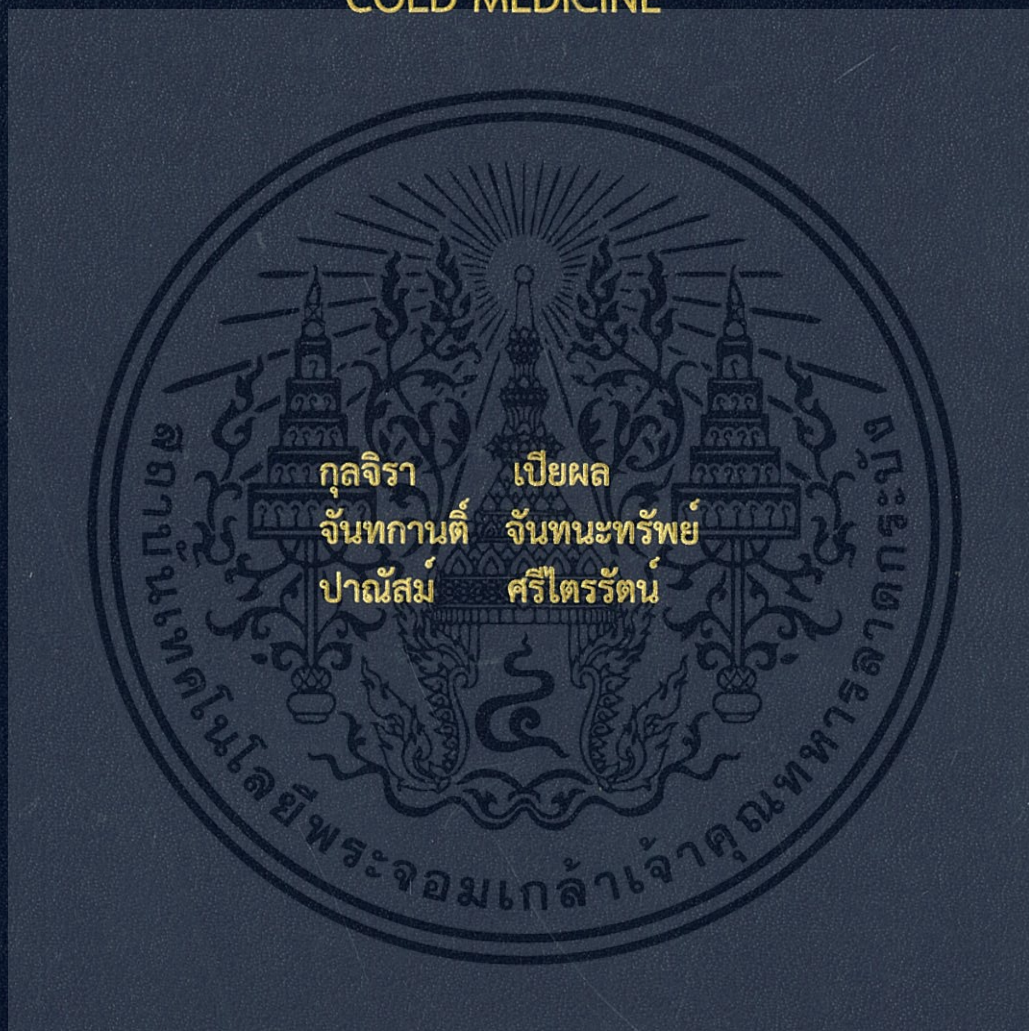


การวิเคราะห์หาปริมาณพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีนใน
ตัวอย่างยาโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

HPLC METHOD FOR THE DETERMINATION OF
PARACETAMOL AND CHLORPHENIRAMINE IN
COLD MEDICINE



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเคมีอุตสาหกรรม
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

การวิเคราะห์หาปริมาณพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีนใน
ตัวอย่างยาโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

HPLC METHOD FOR THE DETERMINATION OF
PARACETAMOL AND CHLORPHENIRAMINE IN
COLD MEDICINE



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเคมีอุตสาหกรรม
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

HPLC METHOD FOR THE DETERMINATION OF
PARACETAMOL AND CHLORPHENIRAMINE IN
COLD MEDICINE



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL CHEMISTRY)
DEPARTMENT OF CHEMISTRY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2015



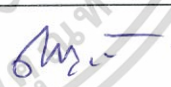
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ การวิเคราะห์หาปริมาณพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีนในตัวอย่างยาโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง
HPLC Method for the Determination of Paracetamol and Chlorpheniramine in Cold Medicine

ชื่อนักศึกษา นางสาวกุลจิรา เปียผล รหัสนักศึกษา 55050579
นางสาวจันทกานต์ จันทนะทรัพย์ รหัสนักศึกษา 55050594
นายปานัสม์ ศรีไตรรัตน์ รหัสนักศึกษา 55050730

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)
ภาควิชา เคมี
ปีการศึกษา 2558
อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2558

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.เสาวภาคย์ อีราทรง กรรมการ	
ผศ.ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การวิเคราะห์หาปริมาณพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีนในตัวอย่างยาโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกุลจิรา	เปี้ยผล	รหัสนักศึกษา 55050579
	นางสาวจันทกานต์	จันทนะทรัพย์	รหัสนักศึกษา 55050594
	นายปานสม์	ศรีไตรรัตน์	รหัสนักศึกษา 55050730
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)		
ภาควิชา	เคมี		
คณะ	วิทยาศาสตร์		
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)		
ปีการศึกษา	2558		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ณัฐฉิ	เชิงชั้น	

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ นำเสนอการหาปริมาณพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีนในตัวอย่างยาแก้ปวดโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงร่วมกับตัวตรวจวัดชนิดยูวี โดยใช้คอลัมน์เป็น C18 ที่อัตราการไหล 0.7 มิลลิลิตรต่อนาที และความยาวคลื่น 254 นาโนเมตรในการตรวจวัด ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม คือ ใช้เฟสเคลื่อนที่ชนิด อะซิโตไนไตรล์ : เมทานอล : น้ำ ในอัตราส่วน 16 : 22 : 62 โดยปริมาตร ซึ่งจะปรับพีเอช (ด้วยกรดฟอสฟอริกความเข้มข้น 10 โมลาร์) เท่ากับ 3.5 พบว่าเกิดการแยกของพีคของคลอเฟนิรามีนและพาราเซตามอลได้ โดยพีคของคลอเฟนิรามีน จะปรากฏที่ 2.913 นาที และพีคของพาราเซตามอลจะปรากฏที่ 3.345 นาที ตามลำดับ สำหรับการประยุกต์ใช้ในตัวอย่างยาแก้ปวดชนิดเม็ด พบว่า มีแนวโน้มที่จะสามารถทำการวิเคราะห์หาปริมาณพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีนได้ โดยสามารถคำนวณความเข้มข้นของพาราเซตามอลได้เท่ากับ 202.27 มิลลิกรัม ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับตามฉลากระบุไว้ คือ 300.00 มิลลิกรัม อย่างไรก็ตาม ยังไม่สามารถคำนวณความเข้มข้นสำหรับการหาปริมาณคลอเฟนิรามีนได้ เนื่องจากลักษณะของโครมาโทแกรมที่ได้ไม่สามารถหาพื้นที่ใต้พีคของคลอเฟนิรามีนได้ ซึ่งจะทำการศึกษาเพิ่มเติมในลำดับต่อไป

คำสำคัญ: คลอเฟนิรามีน เทคนิค HPLC พาราเซตามอล ยาแก้ปวด

Thesis Title	HPLC Method for the Determination of Paracetamol and Chlorpheniramine in Cold Medicine		
Students	Ms.Kuljira	PiapholStudent	Student ID 55050579
	Ms.Chantakan	ChantanasubStudent	Student ID 55050594
	Mr.Panut	SritrairatStudent	Student ID 55050730
Degree	Bachelor of science (Industrial Chemistry)		
Department	Chemistry		
Faculty	Science		
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)		
Academic Year	2015		
Advisor	Asst.Prof.Dr.Nathawut Choengchan		

Abstract

This work presents the determination of paracetamol and chlorpheniramine in cold medicine tablets by High performance liquid chromatography; HPLC. Reverse phase C-18 column, flow rate 0.7 mL/min were used with 254 nm UV detector. Under optimized condition, acetonitrile : methanol : water at ratio 1 : 6 : 22 : 62 volume/volume by Phosphoric acid (10 M) until pH 3.5 were used as mobile phase. Paracetamol and chlorpheniramine can be separated at retention time 2.913 and 3.345 minutes, respectively. For paracetamol, the amount of 202.27 mg was observed and was agreed with labeled value (300.00 mg). However, the amount of chlorpheniramine can not be evaluated since its chromatogram was not detected. Further study on determination of amount of chlorpheniramine will be investigated.

Keywords: Chlorpheniramine,HPLC,Paracetamol,Cold medicine

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษเรื่องการวิเคราะห์หาปริมาณพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีนในตัวอย่างยา โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง จะสำเร็จลุล่วงไม่ได้หากขาดผู้สนับสนุนในการดำเนินโครงการ

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ที่ให้คำปรึกษา พร้อมทั้งให้ความช่วยเหลือและตรวจทานโครงการพิเศษนี้ ทำให้การจัดทำโครงการพิเศษเล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ และ ผศ.ดร.เสาวภาคย์ ธีราทรง ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจสอบและเสนอความคิดเห็นเพื่อแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆในโครงการพิเศษ

ขอขอบคุณนางสาวอรฉัตร เลิศอิทธิพร ที่ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการใช้เครื่องมือรวมถึงปัญหาต่างๆระหว่างการทำโครงการพิเศษ จนโครงการพิเศษนี้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ คุณกัญญา มงคลโกชน์ เจ้าหน้าที่ภาควิชาเคมี ที่ให้ความช่วยเหลือเกี่ยวกับการใช้เครื่อง HPLC และเจ้าหน้าที่ของศูนย์เครื่องมือ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือ จนโครงการพิเศษนี้สมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ หน่วยวิจัยเคมีวิเคราะห์เชิงประยุกต์ ที่เอื้อเฟื้อเครื่องมือ อุปกรณ์และสถานที่สำหรับทำโครงการพิเศษ จนสำเร็จลุล่วง

ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา เพื่อนและพี่นักศึกษาปริญญาโทและเอก ที่ให้คำแนะนำ เป็นกำลังใจ และช่วยเหลือให้คำปรึกษาในการดำเนินโครงการพิเศษนี้

ขอขอบพระคุณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังที่ให้การศึกษาตลอดระยะเวลา 4 ปี และให้ทุนสนับสนุนการนำเสนองานจนสำเร็จการศึกษา

สุดท้ายนี้ประโยชน์และความรู้อันพึงมีจากโครงการพิเศษฉบับนี้ขอมอบแต่บิดา มารดา ครอบครัว ผู้มีพระคุณ และคณาจารย์ทุกท่าน หากมีข้อผิดพลาดประการใด ผู้ศึกษาขอน้อมรับและขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

กุลจิรา	เปี้ยผล
จันทกานต์	จันทนะทรัพย์
ปานัสม์	ศรีไตรรัตน์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป.....	ซ
คำย่อ/สัญลักษณ์	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	1
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	1
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 กระบวนการผลิตยา	3
2.1.1 ยาแก้หวัดประเภทเม็ด.....	3
2.1.2 ยาแก้หวัดประเภทยาน้ำเชื่อม.....	4
2.2 หลักการของโครมาโทกราฟีแบบของเหลว.....	5
2.2.1 โครมาโทกราฟี.....	5
2.2.2 การแบ่งประเภทของโครมาโทกราฟี.....	5
2.2.3 โครมาโทกราฟีแบบของเหลว	5
2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	8
2.3.1 งานวิจัยที่ใช้เทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีในการตรวจวัดพาราเซตามอล	8
2.3.2 งานวิจัยที่ใช้เทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีในการตรวจวัดคลอเฟนิรามีนมาลิเอท	8
2.3.3 งานวิจัยที่ใช้เทคนิคอื่นๆในการตรวจวัดพาราเซตามอล	10
2.3.4 งานวิจัยที่ใช้เทคนิคอื่นๆในการตรวจวัดคลอเฟนิรามีน.....	11
2.3.5 งานวิจัยที่ใช้เทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีในการตรวจวัดพาราเซตามอลและ คลอเฟนิรามีน	12
2.3.6 งานวิจัยที่ใช้เทคนิคอื่นๆในการตรวจวัดพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีน	13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	14
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์.....	14
3.1.1 สารเคมี.....	14
3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องตรวจวัด.....	14
3.2 การเตรียมสารละลาย.....	15
3.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานพาราเซตามอล.....	15
3.2.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานคลอเฟนิรามีน มาลีเอท.....	15
3.2.3 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง.....	16
3.3 วิธีการดำเนินการทดลอง.....	16
3.3.1 ศึกษาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการตรวจวัดพาราเซตามอลและ คลอเฟนิรามีน.....	16
3.3.2 การศึกษาองค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสม.....	16
3.4 การประยุกต์ใช้เทคนิคโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงในการตรวจวัดปริมาณ พาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีน มาลีเอทในตัวอย่างยาแก้ปวด.....	17
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....	18
4.1 การศึกษาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการตรวจวัดพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีน.....	18
4.1.1 การศึกษาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการตรวจวัดพาราเซตามอล.....	18
4.1.2 การศึกษาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการตรวจวัดคลอเฟนิรามีนมาลีเอท.....	18
4.2 การศึกษาองค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสมในการตรวจวัด พาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีนมาลีเอท.....	19
4.2.1 เมทานอลบริสุทธิ์.....	19
4.2.2 อะซิโตไนไตรล์: เมทานอล: น้ำ (pH 2.5).....	22
4.2.3 อะซิโตไนไตรล์: เมทานอล: น้ำ (pH 3.5).....	29
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	37
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	37
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	38
เอกสารอ้างอิง.....	39

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก	42
ภาคผนวก ก	43
ภาคผนวก ข	46
ภาคผนวก ค	73



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 สารเคมี	15
3.2 สภาวะการทดลอง	18



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
4.1 สเปกตรัมของสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนมาลิเอทที่ความเข้มข้นต่างๆ	18
4.2 (ก) โคโรมาโทแกรมของสารมาตรฐานพาราเซตามอลที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	19
4.2 (ข) โคโรมาโทแกรมของสารมาตรฐานพาราเซตามอลที่ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	20
4.2 (ค) โคโรมาโทแกรมของสารมาตรฐานพาราเซตามอลที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	20
4.3 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของ สารมาตรฐานพาราเซตามอล	21
4.4 (ก) ผลโคโรมาโทแกรมของสารตัวอย่างคลอเฟนิรามีนมาลิเอทจำนวน 5 เม็ด (ความเข้มข้น 16.5519 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	21
4.4 (ข) ผลโคโรมาโทแกรมของสารตัวอย่างคลอเฟนิรามีนมาลิเอทจำนวน 10 เม็ด (ความเข้มข้น 33.1514 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	22
4.4 (ค) ผลโคโรมาโทแกรมของสารตัวอย่างคลอเฟนิรามีนมาลิเอทจำนวน 20 เม็ด (ความเข้มข้น 66.4676 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	22
4.5 ผลโคโรมาโทแกรมของสารมาตรฐานพาราเซตามอลที่ความเข้มข้น 0.2, 0.6 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	23
4.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน พาราเซตามอล	24
4.7 โคโรมาโทแกรมของสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนมาลิเอทที่ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	24
4.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน คลอเฟนิรามีนมาลิเอท (ค่าเฉลี่ย)	25
4.9 โคโรมาโทแกรมของสารมาตรฐานผสม (ความเข้มข้นของพาราเซตามอล 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และคลอเฟนิรามีนมาลิเอท 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	25
4.10 โคโรมาโทแกรมของสารตัวอย่างยาแก้หวัด 1 เม็ด (ความเข้มข้นของพาราเซตามอล 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ คลอเฟนิรามีนมาลิเอท 0.08 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	26

สารบัญญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.11 (ก) โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนมาลิเอท ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ครั้งที่1).....	27
4.11 (ข) โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนมาลิเอท ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ครั้งที่2).....	27
4.11 (ค) โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนมาลิเอท ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ครั้งที่1).....	28
4.11 (ง) โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนมาลิเอท ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ครั้งที่2).....	28
4.11 (จ) โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนมาลิเอท ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร.....	29
4.12 (ก) โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานพาราเซตามอลความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร.....	30
4.12 (ข) โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานพาราเซตามอลความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร.....	30
4.12 (ค) โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานพาราเซตามอลความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร.....	31
4.13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคและความเข้มข้นของสารมาตรฐาน พาราเซตามอลที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	31
4.14 (ก) โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนมาลิเอท ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร.....	32
4.14 (ข) โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนมาลิเอท ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร.....	33
4.14 (ค) โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนมาลิเอท ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร.....	33
4.15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน คลอเฟนิรามีนมาลิเอทที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	34

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.16 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานผสม (ความเข้มข้นของพาราเซตามอล 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและคลอเฟนิรามีนมาลิเอท 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร).....	34
4.17 โครมาโทแกรมของสารตัวอย่างยาแก้หวัด 1 เม็ด (ความเข้มข้นของพาราเซตามอล 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ คลอเฟนิรามีนมาลิเอท 0.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร).....	35



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบัน ยาแก้หวัด มีวางขายตามร้านขายยาทั่วไปเป็นจำนวนมาก ด้วยที่เป็นองค์ประกอบหลักในยาแก้หวัด คือ พาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีน เพื่อเป็นการควบคุมคุณภาพการผลิตและเพื่อคุ้มครองผู้ป่วย ที่รับประทานยาแก้หวัดเหล่านั้น จึงจำเป็นต้องวิเคราะห์หาปริมาณพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีนในยาแก้หวัดว่ามีปริมาณตรงกับที่ระบุไว้ที่ฉลากหรือไม่

จากการสืบค้นงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง พบว่า เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง หรือ High performance liquid chromatography (HPLC) เป็นเทคนิคที่น่าสนใจสำหรับนำมาวิเคราะห์หาปริมาณพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีน ในยาแก้หวัด เนื่องจากมีข้อดี คือ ให้ผลวิเคราะห์ที่มีความแม่นยำสูง และสามารถวิเคราะห์หาปริมาณตัวยาทั้งสองได้ภายในคราวเดียวกัน ดังนั้นในงานวิจัยนี้ จึงมีความสนใจจะนำวิธี HPLC มาประยุกต์ใช้สำหรับหาปริมาณตัวยาพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีนในยาแก้หวัด ทั้งชนิดเม็ดและชนิดน้ำที่มีจำหน่ายตามร้านขายยาทั่วไป โดยจะนำวิธี HPLC ที่เคยมีผู้รายงานไว้แล้วคือ การวิเคราะห์หาปริมาณพาราเซตามอลในยาแก้หวัดด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง [1] มาประยุกต์ใช้ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีนในยาแก้หวัดด้วยเทคนิค HPLC เพื่อทดสอบความถูกต้องของวิธี HPLC โดยการประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธี

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้ เริ่มจากการสืบค้นงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการหาปริมาณพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีน จากนั้นจึงทำการทดลองโดยศึกษาหาตัวแปรของระบบ HPLC ที่มีผลต่อประสิทธิภาพการแยกพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีน เช่น องค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหล ปริมาตรสารตัวอย่างที่ฉีด เป็นต้น โดยเกณฑ์ในการเลือกตัวแปรที่เหมาะสมจะพิจารณาจากความไวในการวิเคราะห์ ประสิทธิภาพการแยก และเวลาที่ใช้ในการแยก จากนั้นจึงนำสถานะที่เหมาะสมของระบบ HPLC ไปประยุกต์หาปริมาณพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีนในยาแก้หวัด พร้อมทั้งทดสอบความถูกต้องของระบบ HPLC โดยประเมินคุณลักษณะเด่นของระบบ ขั้นตอนต่อไปจะสรุปผลการศึกษาพร้อมทั้งรายงานและเผยแพร่ผลการศึกษาเป็นขั้นตอนสุดท้าย

สำหรับลำดับขั้นตอนการทดลอง เป็นดังต่อไปนี้

- 1) สืบค้นและศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้อง
- 2) ทำการทดลองโดยศึกษาหาตัวแปรของระบบ HPLC ที่มีผลต่อประสิทธิภาพการแยกพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีน
- 3) นำสภาวะที่เหมาะสมของระบบ HPLC ไปประยุกต์หาปริมาณพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีนในยาแก้ปวด
- 4) ทดสอบความถูกต้องของระบบ HPLC โดยประเมินคุณลักษณะเด่นของระบบ
- 5) สรุปผลการศึกษา
- 6) รายงานและเผยแพร่ผลการศึกษา

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถวิเคราะห์หาปริมาณพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีนในยาแก้ปวดด้วยระบบ HPLC ได้เป็นผลสำเร็จ โดยได้ผลการวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องแม่นยำ และน่าเชื่อถือ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กระบวนการผลิตยา

2.1.1 ยาแก้หวัดประเภทเม็ด [2]

ยาเม็ด มีลักษณะเป็นของแข็ง ประกอบด้วยตัวยาสำคัญและอาจจะมีสารอื่นที่เหมาะสมก็ได้ ยาเม็ดจะมีความแตกต่างในด้านต่างๆ เช่น ขนาด รูปร่าง น้ำหนัก ความแข็ง ความหนา และลักษณะการแตกตัว เป็นต้น ซึ่งจะขึ้นอยู่กับปริมาณของตัวยาสำคัญ ในการผลิตยาเม็ดมีวิธีพื้นฐาน 3 วิธี

1. การทำแกรนูลเปียก (The wet granulation method) หมายถึง การทำแกรนูลโดยการเติมของเหลว หรือสารละลายที่ยืดเกาะลงในส่วนผสมของยา มีขั้นตอนดังนี้

- 1.1 การผสมแห้ง นำผงยาและส่วนประกอบอื่นๆมาผสมกันให้ทั่วถึงและสม่ำเสมอ
- 1.2 การผสมเปียก เติมน้ำหรือสารละลายยืดเกาะในส่วนผสมแห้ง ผสมเป็นก้อนเหนียวยึดติดกัน
- 1.3 การแรงเปียก นำของผสมที่ได้จากการผสมเปียกมาลดขนาดโดยการแรงจะได้แกรนูลเปียก
- 1.4 การทำให้แห้ง กำจัดน้ำหรือตัวทำละลายออกจากแกรนูลที่เปียกโดยใช้ตู้อบ
- 1.5 การแรงแห้ง แกรนูลที่ผ่านการทำให้แห้งจะถูกนำมาลดขนาดอีกครั้งเพื่อให้ได้ขนาดที่เหมาะสมโดยการบดหรือการแรง

1.6 การผสมแห้งครั้งสุดท้าย จะเป็นการเติมสารช่วยชนิดต่างๆ เช่น สารช่วยหล่อลื่น สารช่วยในการแตกตัว สารช่วยในการไหล และสารป้องกันการติดผิวหน้า ก่อนที่จะนำไปตอกเป็นเม็ดยา

2. การทำแกรนูลแบบแห้ง (The dry granulation method) หมายถึง การทำส่วนผสมของยาให้เป็นแกรนูลโดยการอัด วิธีนี้จะเลือกใช้เมื่อไม่สามารถตอกโดยตรงได้และการทำแกรนูลเปียกไม่ได้ โดยมีขั้นตอนการผลิตดังนี้

2.1 การผสมครั้งแรก การนำตัวยามาผสมกับสารช่วยหล่อลื่นหรือสารช่วยอื่นๆ เพื่อลดแรงเสียดทานของเครื่องมือและเพิ่มการไหลของผงยา

2.2 การอัดส่วนผสมครั้งแรกให้เป็นก้อน ทำได้โดยวิธี slugging เพื่อให้ได้ขนาดแกรนูลที่เหมาะสม

2.3 การลดขนาด slugs ลดขนาดของก้อนที่ได้จากการทำ slugging เพื่อให้ขนาดของแกรนูลเหมาะสมกับเม็ดยา

2.4 การผสมขั้นสุดท้าย นำแกรนูลที่ได้มาผสมกับสารช่วยอีกครั้งได้แก่ สารช่วยหล่อลื่น และสารช่วยในการแตกตัว

3. การอัดโดยตรง (The direct compression method) หมายถึง กระบวนการที่ไม่มีตัวยุกู้อัดโดยตรง ซึ่งมีการไหลของผงยาสม่ำเสมอไปยังเบ้า และเกิดเม็ดยาที่มีความแข็ง โดยไม่มีการเตรียมผงยาโดยวิธีทำแกรนูลเปียกหรือแกรนูลแห้งมาก่อน มีขั้นตอนดังนี้

3.1 การผสมแห้ง เครื่องผสมแห้งต้องเป็นเครื่องที่มีประสิทธิภาพดีพอที่จะให้เป็นเนื้อเดียวกันของยาโดยไม่มีการเสียดสี

3.2 การนำผงยาไปตอกเป็นเม็ดยา เนื่องจากยาที่จะนำไปตอกเป็นเม็ดยาโดยวิธีตอกโดยตรงมีอนุภาคเล็กดังนั้นต้องใช้เครื่องกลในการดันผงยาลงสู่เบ้า

2.1.2 ยาแก้หวัดประเภทยาน้ำเชื่อม [2]

ยาน้ำเชื่อม เป็นเภสัชภัณฑ์รูปแบบของเหลวชนิดหนึ่ง มีลักษณะใสและหนืดซึ่งจะมีส่วนผสมของน้ำตาลเช่น น้ำตาลกลูโคส หรือสารให้ความหวาน นอกจากนี้ยังมีการแต่งกลิ่นและสีเพื่อเพิ่มความน่ารับประทาน วิธีการเตรียมน้ำเชื่อมจะขึ้นอยู่กับลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของสารในตำรับ ซึ่งมี 4 วิธีได้แก่

1. การละลายโดยใช้ความร้อนช่วย เป็นวิธีที่สะดวกรวดเร็วในการเตรียม ใช้กับสารที่ทนความร้อนได้โดย

- 1.1 ละลาย sucrose ลงในน้ำบริสุทธิ์ หรือในน้ำเดือด
- 1.2 เติมน้ำเชื่อมอื่น ๆ ที่ทนความร้อนได้ ลงในน้ำเชื่อมที่ร้อน
- 1.3 ถ้ามีตัวยาสลายตัวด้วยความร้อนและสารที่ระเหยง่ายต้องทิ้งให้เย็นก่อนผสม
- 1.4 ปรับปริมาตรจนครบ

2. การละลายยาโดยการเขย่า เป็นการละลายยาโดยหลีกเลี่ยงความร้อนในการผสมของเหลวเข้าด้วยกัน มีวิธีการเตรียมคือ

- 2.1 ละลาย sucrose และสารอื่นๆลงในตำรับด้วยน้ำบริสุทธิ์
- 2.2 เขย่าจนสารละลายหมด

การเตรียมโดยวิธีนี้จะใช้เวลานานกว่าการใช้ความร้อน ถ้าเตรียมในปริมาณที่มากควรเตรียมโดยใช้ stainless steel tanks

3. การเติม sucrose ลงในของเหลวที่มีตัวยาสสำคัญ หรือของเหลวที่ใช้แต่งกลิ่นรส ของเหลวที่มีตัวยาสสำคัญได้แก่ ทิงเจอร์และยาสกัดเหลว จะเป็นแหล่งของตัวยาสสำคัญสำหรับการเตรียมน้ำเชื่อม ถ้าตัวยาสสำคัญต้องการเป็นสารที่ละลายในแอลกอฮอล์ ต้องหาวิธีเพื่อทำให้ตัวยาสสำคัญละลายน้ำ

4. วิธีการสกัด (Percolation)

หมายถึง กระบวนการสกัดสารหรือตัวยาสที่ละลายในตัวทำละลายที่เหมาะสม โดยตัวสกัดหรือตัวทำละลายผ่านคอลัมน์ที่มีสารหรือตัวยาสอยู่ ภาชนะหรืออุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัด เรียกว่า percolator ของเหลวที่ได้จากการสกัดออกมาจากตัวทำละลาย เรียกว่า percolate ส่วนตัวสกัดหรือตัวทำละลายจะเรียกว่า menstruum

2.2 หลักการของโครมาโทกราฟีแบบของเหลว [3-7]

2.2.1 โครมาโทกราฟี

ความหมายของโครมาโทกราฟีตามคำจำกัดความของ IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) คือ A method used primarily for the separation of components of a sample, in which the components are distributed between two phases, one of which is stationary phase, while the other moves in a definite direction ซึ่งหมายถึงเทคนิคการแยกองค์ประกอบที่ปะปนกันอยู่ในสารผสมของสารตัวอย่างโดยการแยกของแต่ละองค์ประกอบจะขึ้นอยู่กับความสามารถในการกระจายตัวขององค์ประกอบแต่ละชนิดในวัฏภาค 2 วัฏภาค คือวัฏภาคนิ่ง หรือตัวดูดซับ (Stationary phase) และวัฏภาคเคลื่อนที่ หรือ ตัวชะ (Mobile phase) ที่แตกต่างกัน ทำให้ลำดับของการแยกออกมาในเวลาที่แตกต่างกัน

2.2.2 การแบ่งประเภทของโครมาโทกราฟี

แบ่งประเภทตามลักษณะของวัฏภาคเคลื่อนที่ ได้แก่

1. โครมาโทกราฟีแบบของเหลว (Liquid Chromatography)
2. โครมาโทกราฟีแบบแก๊ส (Gas Chromatography)
3. โครมาโทกราฟีแบบของเหลวกึ่งวิกฤต (Supercritical Fluid Chromatography)

แบ่งตามกลไกการแยก

1. โครมาโทกราฟีแบบดูดซับ (Adsorption chromatography)
2. โครมาโทกราฟีแบบกระจายตัว (Partition chromatography)
3. โครมาโทกราฟีแบบแลกเปลี่ยนไอออน (Ion-exchange chromatography)
4. โครมาโทกราฟีแบบแยกตามขนาดโมเลกุล (Size-exclusion chromatography)
5. โครมาโทกราฟีแบบแยกตามความจำเพาะ (Affinity chromatography)

2.2.3 โครมาโทกราฟีแบบของเหลว (Liquid Chromatography)

1. เพลนโครมาโทกราฟี (Plane chromatography)

ในสมัยโบราณชาวโรมันรู้จักวิธีการทดสอบของเหลวว่ามีสารมีสี (dyes and pigments) ผสมอยู่หรือไม่ โดยการหยดของเหลวนั้นลงบนแผ่นกระดาษหรือผ้า ถ้าของเหลวดังกล่าวมีสารที่มีสี ผสมอยู่จะเกิดการแพร่กระจายเป็นวงกลมของแถบสีที่สังเกตเห็นได้ ต่อมานักเคมีชาวเยอรมันได้รับปรุงเทคนิคนี้ให้มี reproducibility ดีขึ้นเพื่อใช้ในการด้านปริมาณวิเคราะห์ แต่อย่างไรก็ตามวิธีการนี้ยังไม่เป็นที่ยอมรับ จนกระทั่งในช่วง 50 ปีที่ผ่านมา P. Martin และผู้ร่วมงานได้ค้นพบเทคนิควิธีของโครมาโทกราฟีแบบแบ่งส่วน (Partition chromatography) ทำให้สามารถจัดวิธีการวิเคราะห์นี้เป็นชนิดหนึ่งของโครมาโทกราฟีแบบแบ่งส่วน ซึ่งเรียกว่า Paper chromatography (PC) โดยมีความชื้นในกระดาษทำหน้าที่เป็นวัฏภาคนิ่ง ทำให้ในระยะหลังเทคนิคของการวิเคราะห์แบบ Paper

chromatography ได้รับความนิยม และนำมาใช้งานมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในงานทางด้านชีวเคมี

2. ทินแลเยอร์โครมาโตกราฟี (Thin-Layer Chromatography ; TLC)

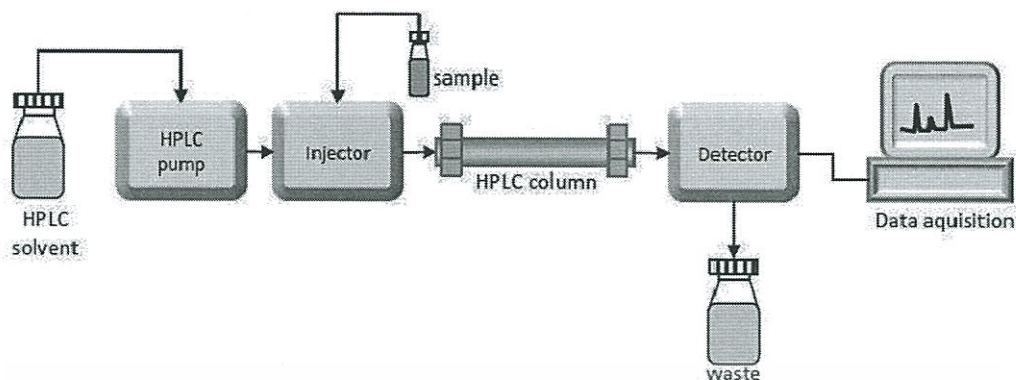
หลักการและเทคนิคของการวิเคราะห์วิธีนี้เหมือนกับวิธีเปเปอร์โครมาโตกราฟีทุกประการ แตกต่างกันที่ตัวเพลต (plate) โดยใช้เป็นของแข็งที่มีความสามารถในการดูดซับ (Sorbent) ฉาบเป็นแผ่นบางๆ บนแผ่นแก้วหรือพลาสติกหรือแผ่นอะลูมิเนียม โดยมากแล้วแผ่นบางๆ ของของแข็งที่ฉาบบนแผ่นแก้วจะมีความหนาแน่นระหว่าง 0.10 ถึง 10 มิลลิเมตร วิธี TLC สามารถประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ได้กว้างขวางกว่าวิธี PC เพราะสามารถเลือกใช้วัสดุภาคนิ่งได้หลากหลายชนิด และสำหรับตัวทำละลายที่ทำหน้าที่เป็นตัวชะที่สามารถใช้ในวิธี PC ก็จะสามารถนำมาใช้ในวิธี TLC ได้ทั้งหมด โดยการเลือกของแข็งที่เป็นตัวดูดซับ และตัวชะที่ทำงานร่วมกันได้อย่างถูกต้องและเหมาะสมจะทำให้สามารถแยกสารได้เป็นอย่างดี ให้ผลของการแยกที่ดีและชัดเจน

วิธีการของ TLC ได้ถูกพัฒนามาเรื่อยๆ เพื่อให้สามารถใช้ได้กับสารตัวอย่างในการวิเคราะห์ที่มีปริมาณน้อย แยกได้ดีขึ้น และใช้เวลาลดลง ทำให้เกิดเทคนิคใหม่ที่มีประสิทธิภาพสูง เรียกว่า High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC) การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคที่เรียกว่า HPTLC มีขั้นตอนในการวิเคราะห์แบบเดียวกับ TLC ทุกประการ แตกต่างกันที่เทคนิคของ HPTLC นั้น ต้องใช้เครื่องมืออัตโนมัติช่วยในการทำการวิเคราะห์ เพราะต้องมีความแม่นยำสูงมาก HPTLC แตกต่างจาก TLC ที่ขนาดของตัวดูดซับที่ฉาบบนเพลต มีขนาดเล็กกว่า โดยตามปกติ TLC จะมีขนาดประมาณ 12 ไมโครเมตร แต่ขนาดของ HPTLC จะอยู่ที่ประมาณ 7 ไมโครเมตรเท่านั้น โดยการฉาบต้องทำให้บางกว่า เรียบสม่ำเสมอ และแน่นกว่า TLC HPTLC มีประสิทธิภาพ ในการแยกสูงกว่า TLC มาก โดยสามารถแยกสารผสมหลายชนิดออกจากกันได้โดยใช้ระยะทางเพียง 5 เซนติเมตรเท่านั้น ในขณะที่ TLC ใช้ระยะทางประมาณ 15 ถึง 20 เซนติเมตรเป็นผลให้วิธี HPTLC จะใช้เวลาในการวิเคราะห์ที่ลดลง

3. โครมาโทกราฟีแบบของเหลวความดันสูง (High Performance Liquid Chromatography ; HPLC)

HPLC เป็นอีกเทคนิคหนึ่งของลิควิดโครมาโตกราฟีแบบคอลัมน์ที่สามารถแยกได้อย่างรวดเร็ว และมีประสิทธิภาพ เพราะอาศัยความดันช่วย และของแข็งที่บรรจุในคอลัมน์มีขนาดเล็ก เมื่อใช้ของแข็งขนาดเล็กๆบรรจุในคอลัมน์จะทำให้มีค่า Height Equivalent to a Theoretical Plate (HETP) ต่ำ และอัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่จะไม่ผลต่อค่า Height Equivalent to a Theoretical Plate (HETP) ดังนั้นการใช้ความดันช่วยจะทำให้เฟสเคลื่อนที่ไหลได้รวดเร็วขึ้น และไม่ทำให้ประสิทธิภาพของคอลัมน์ลดลง เนื่องจากการทำ HPLC ต้องใช้ความดันช่วยจึงต้องมีเครื่องมือสำหรับดูดการตัวชะ และเนื่องจากสารตัวอย่างที่วิเคราะห์มีปริมาณน้อย ดังนั้น หลังจากนี้ สารตัวอย่างถูกชะออกจากคอลัมน์แล้วจะต้องมีเครื่องมือที่ตรวจวัด (detector) ที่สามารถวัดสารปริมาณน้อยๆ ที่ถูกชะออกมาได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.1 แผนภาพแสดงองค์ประกอบของเครื่อง HPLC [7]

อุปกรณ์ของเครื่อง HPLC

1. ภาชนะบรรจุวัฏภาคเคลื่อนที่ (Mobile phase) ภาชนะที่ใช้บรรจุวัฏภาคเคลื่อนที่หรือสารละลายที่จะใช้เป็นตัวชะสามารถใส่ภาชนะแบบแก้วหรือสแตนเลสก็ได้ มีขนาดบรรจุประมาณ 1 ถึง 2 ลิตร
2. ปั๊ม (Pump) ใช้ในการทำให้วัฏภาคเคลื่อนที่ที่สามารถเข้าสู่ระบบได้ โดยสามารถกำหนดอัตราการไหลได้ เพื่อให้มีความเหมาะสมในการวิเคราะห์ และให้ผลการวิเคราะห์ที่ดี
3. หัวฉีด (Injector) เพื่อฉีดสารตัวอย่างเข้าสู่เฟสเคลื่อนที่ โดยปกติแล้ว การวิเคราะห์องค์ประกอบของสารผสมด้วยเทคนิค HPLC จะใช้สารตัวอย่างเพียงปริมาณเล็กน้อยในระดับไมโครลิตร
4. คอลัมน์ (Column) คอลัมน์สำหรับใช้ในงานวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC จะทำด้วยหลอดแก้วหนาหรือสแตนเลส มีขนาดความยาว 15 ถึง 150 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายในขนาด 2 ถึง 3 มิลลิเมตร คอลัมน์ขนาดที่ยาวเป็นเมตรก็สามารถใช้ได้เช่นกันโดยการขดเป็นวงกลม สารที่นำมาบรรจุในคอลัมน์มี 2 ชนิด คือ ชนิดที่เป็นของแข็งดูดซับ ซึ่งจะมีขนาดเล็กมากและมีได้หลายขนาด อีกชนิดหนึ่งเป็นของเหลวฉาบบนของแข็งซัพพอร์ต (solid support) ซึ่งมีทั้งแบบธรรมดา (normal phase) และแบบกลับเฟส (reverse phase) ของแข็งตัวดูดซับที่เป็นที่นิยมใช้ในเทคนิค HPLC คือ ซิลิกาและอะลูมินา โดยการเลือกใช้ แบ่งตามประเภทของสารที่นำมาวิเคราะห์
5. ตัวตรวจวัด (Detector) ดีเทคเตอร์จะเป็นชนิดใดนั้นขึ้นอยู่กับชนิดและคุณสมบัติพื้นฐานของสารตัวอย่างที่วิเคราะห์ ซึ่งสามารถวัดปริมาณของสารได้ตามคุณสมบัติของสารนั้นๆ สำหรับดีเทคเตอร์ที่นิยมใช้มากที่สุด คือ เครื่องมือวัดค่าการดูดกลืนแสงอุลตราไวโอเลตหรือแสงวิสิเบิล (UV-Vis Spectrophotometer)
6. ชุดการประมวลผล (Data processing) คือหน่วยที่รับข้อมูลการตรวจวัดจากตัวตรวจวัด นำมาประมวลผลให้ได้ผลของการวิเคราะห์ที่แสดงออกมาในรูปของโครมาโทแกรม (Chromatogram)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.3.1 งานวิจัยที่ใช้เทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีในการตรวจวัดพาราเซตามอล

R.Chandra และ K.Dutt Sharma [8] ได้พัฒนาวิธีการตรวจหาปริมาณของพาราเซตามอลและคาเฟอีนในตัวอย่างยาเม็ดด้วยวิธี HPLC โดยใช้คอลัมน์ชนิด C18 สารละลายที่ใช้เป็นตัวชะคือเมทานอลต่อน้ำในอัตราส่วน 40:60 (โดยปริมาตร) อัตราการไหลของตัวชะ 1 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดสารที่ถูกชะออกมาที่ความยาวคลื่น 243 นาโนเมตร เวลาที่พาราเซตามอลและคาเฟอีนถูกชะออกมาพบที่นาที่ 3.03 และ 4.23 นาทีตามลำดับ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมนี้ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.999 และคาเฟอีนเท่ากับ 0.994 ซีดจำกัดของการตรวจวัดและซีดจำกัดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณของพาราเซตามอลเท่ากับ 0.04 และ 0.12 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสำหรับคาเฟอีนเท่ากับ 0.05 และ 0.15 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับของพาราเซตามอลและคาเฟอีนอยู่ในช่วง 99.62 ถึง 99.45 % และ 104.48 ถึง 100.56 % วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ ประสบความสำเร็จในการทดสอบความถูกต้องของ

M.Levent Altun [9] ได้พัฒนาวิธีการตรวจสอบปริมาณพาราเซตามอล, คาเฟอีนและไโดไพโรนโดยใช้คอลัมน์ชนิด C8 อัตราการไหลของตัวชะ 1 มิลลิลิตรต่อนาที สารละลายที่เลือกใช้เป็นตัวชะคือสารละลายผสม 0.01 โมลต่อลิตร ของ โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตต่อเมทานอลต่ออะซิโตรไนไตรล์ต่อไอโซโพรพิลแอลกอฮอล์ในอัตราส่วน 420:20:30:30 (โดยปริมาตร) และใช้ตัวตรวจวัดชนิดสเปกโตรโฟโตเมตริก ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 215 นาโนเมตร ช่วงความเป็นเส้นตรงที่ตรวจวัดพาราเซตามอลอยู่ในช่วง 0.409 ถึง 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรคาเฟอีน 0.151 ถึง 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และไโดไพโรน 0.233 ถึง 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

V. mastarska และ J. Tencheva [10] ได้พัฒนาการตรวจวัดพาราเซตามอลและโคเดอีนฟอสเฟตโดยใช้คอลัมน์ชนิด C18 อัตราการไหลของตัวชะ 1 มิลลิลิตรต่อนาที สารละลายที่ใช้เป็นตัวชะคือสารละลายผสมอะซิโตรไนไตรล์และบัฟเฟอร์ pH 2.5 ในอัตราส่วน 15:85 ตรวจวัดสารที่ถูกชะออกมาที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร วิธีวิเคราะห์นี้ได้ถูกตรวจสอบความถูกต้องโดยการหาค่าความเป็นเส้นตรง, ความแม่นยำ, ความเที่ยง, ซีดจำกัดของการตรวจวิเคราะห์และซีดจำกัดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ โดยช่วงความเป็นเส้นตรงของพาราเซตามอล และโคเดอีนฟอสเฟต ปรากฏในช่วง 100 ถึง 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 65 ถึง 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับของพาราเซตามอล และโคเดอีนฟอสเฟตเท่ากับ 99.88 ถึง 100.2 และ 99.33 ถึง 100.1 ตามลำดับ วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้เหมาะสำหรับการใช้กับงานควบคุมคุณภาพการผลิตยาผสม 2 ชนิดในรูปแบบของยาเม็ด

2.3.2 งานวิจัยที่ใช้เทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีในการตรวจวัดคลอเฟนิรามีนมาลิเอท

T. Takagaki และคณะ [11] ได้พัฒนาวิธีตรวจวัดคลอเฟนิรามีนมาลิเอทในพลาสมาของมนุษย์ด้วยวิธี LC-MS ข้อดีของวิธีนี้คือการสกัดแบบของเหลวของเหลวด้วยไดเอทิลอีเทอร์ และมีค่า

ความไวที่สูง มีค่าความเป็นเส้นตรงที่ดี สามารถวิเคราะห์ได้ในช่วง 0.52 ถึง 20.8 นาโนกรัมต่อ มิลลิลิตรของคลอเฟนิรามีนมาลิเอท ซึ่งจะมีค่า intra day และ inter day และค่าความถูกต้อง ในช่วงระหว่าง 0.0 และ 13.9 % แสดงให้เห็นว่า มีค่าความสามารถในการทำซ้ำที่ดี วิธีนี้ถูกพัฒนา นำไปประยุกต์ใช้สำเร็จเพื่อวิเคราะห์คลอเฟนิรามีนมาลิเอทในการศึกษาทางการแพทย์

M.R. Louhaichi และคณะ [12] ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์ซูโดอีเฟดรีน, เฟนิรามีน, ไกเวเฟนิซิน, ไพริลามีน, คลอเฟนิรามีน และเดกซ์โทรเมทอร์แฟน ในยาแก้ไอและยาแก้หวัดด้วยเทคนิค HPLC ใช้ เวลาในการแยกสารประกอบนี้ 13 นาที บนคอลัมน์ C18 Kromasil เฟสเคลื่อนที่อัตราส่วนคงที่ตลอด การวิเคราะห์ เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้คือเมทานอลต่อไดไฮโดรเจนฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 3 (45:55 v/v) วิเคราะห์ที่อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร ผลที่ได้มีความ เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 5 ถึง 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของซูโดอีเฟดรีน, เฟนิรามีน, คลอเฟนิรามีน และในช่วงความเข้มข้น 50 ถึง 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของไกเวเฟนิซิน ไพริลามีน, เดกซ์-โทรเมทอร์แฟน, เมทิลพาราเบน และโซเดียมเบนโซเอต ($R^2 > 0.998$) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ intraday และ interday $< 2\%$ วิธีนี้ประสบความสำเร็จสำหรับวิเคราะห์สารประกอบเหล่านี้ในการเตรียมตัวอย่างยาแก้ไอและยาแก้หวัดที่แตกต่างกัน เช่น ยาชนิดน้ำเชื่อม ยาชนิดแคปซูล ยาชนิดเม็ด และยาผงแห้งชนิดผสมก่อนใช้ ผลการทดลองจะแสดงให้เห็นสารกันบูด (เมทิลพาราเบน และโซเดียมเบนโซเอต) และสารเพิ่มปริมาณ ซึ่งจะไม่แสดงผลรบกวนต่อการวิเคราะห์สารประกอบเหล่านี้

M. Maithani และคณะ [13] ได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดปริมาณคลอเฟนิรามีนมาลิเอท และ ฟินิลเอพรีนในตัวอย่างยาพร้อมกันด้วยวิธี HPLC โดยใช้คอลัมน์ชนิด C18 ขนาด 250 มิลลิเมตร x 8 มิลลิเมตร บรรจุอนุภาคขนาด 10 ไมโครเมตร สารละลายที่ใช้เป็นตัวชะคือ อะซิโตไนโตรลและฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ในอัตราส่วน 55:45 (v/v) ควบคุม pH ให้อยู่ในช่วง 5.6 ± 0.02 ด้วยไตรเอทิลเอมีน อัตราการไหลของตัวชะ 1 มิลลิลิตรต่อนาที และตรวจวัดสารที่ถูกชะออกมาที่ ความยาวคลื่น 255 นาโนเมตร เวลาที่ถูกชะออกมาของคลอเฟนิรามีนมาลิเอท และฟินิลเอพรีน พบที่ 3.13 และ 4.58 นาทีตามลำดับ วิธีนี้ได้ถูกตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบโดยทดสอบช่วง ความเป็นเส้นตรง, ความจำเพาะเจาะจง, ความแม่นยำ, ความเที่ยง, ชีตจำกัดของการตรวจวัดและ ชีตจำกัดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ พบว่า ช่วงความเป็นเส้นตรงของวิธีนี้อยู่ในช่วง 10 ถึง 70 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับของคลอเฟนิรามีน มาลิเอท และฟินิลเอพรีนเท่ากับ 101.09 และ 98.99 งานวิจัยนี้ประสบผลสำเร็จในการนำมาใช้ตรวจวัดปริมาณ คลอเฟนิรามีนมาลิเอทและฟินิลเอพรีนที่รวมกันอยู่ในรูปของยาเม็ด

A.Marin และคณะ [14] ได้ทำการพัฒนาวิธีตรวจวัดอะซิตามิโนเฟน, ฟินิลเอพรีน และ คลอเฟนิรามีนที่อยู่ในรูปยาแบบแคปซูลและผงด้วยวิธี HPLC สภาวะที่ใช้ในการทดลองนี้จะใช้ อัตราส่วนของสารละลายตัวชะแบบปรับอัตราส่วนระหว่างช่วงการทดลอง โดยประกอบไปด้วย A คือ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.0 ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลต่อลิตร และ B คือ อะซิโตไนโตรล อัตราส่วนของสารละลายที่ใช้เป็นตัวชะในขณะเริ่มทดลอง A 92 % และ B 8 % ค่อยๆปรับอัตราส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็น A 75 % และ B 25 % ในเวลา 8 นาที จากนั้นปรับอีกครั้งเป็น A 30 % และ B 70 % ทั้งไว้นาน 5 นาที และนาทีที่ 15 ปรับอัตราส่วนของตัวจะเป็น A 92 % และ B 8 % จนครบ 20 นาที ใช้ตัวตรวจวัดชนิดยูวี ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 215 นาโนเมตรสำหรับฟีนิลเอพรีน และคลอเฟนิรามีน และที่ 280 นาโนเมตรสำหรับอะซิตามิโนเฟน

2.3.3 งานวิจัยที่ใช้เทคนิคอื่นๆในการตรวจวัดพาราเซตามอล

A.J Vyas และคณะ [15] ได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดนาบูโทมีนและพาราเซตามอลในตัวอย่างยาเม็ดด้วยวิธี Vierodt's spectrophotometry ทำการตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 2 ค่าคือ 229.2 นาโนเมตรสำหรับนาบูมิโทน และที่ 248 นาโนเมตรสำหรับพาราเซตามอล ยาทั้ง 2 ชนิดนี้ถูกตรวจวัดและเป็นไปตามกฎของเบียร์-แลมเบิร์ต สามารถตรวจวัดนาบูมิโทนช่วงความเข้มข้น 2 ถึง 8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ พาราเซตามอลที่ช่วงความเข้มข้น 2 ถึง 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

A. R. Khaskheli และคณะ [16] ได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดพาราเซตามอลในตัวอย่างยาเม็ดและตัวอย่างปัสสาวะด้วยวิธีดิฟเฟอเรนเชียลพัลส์โวลแทมเมตริก โดยใช้อิเล็กโทรดชนิดฟิล์มวัสดุประกอบจากmicro-crystalline natural graphite-polystyrene ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพสำหรับการวิเคราะห์ โดยพิจารณาทั้งค่า pH ของ Britton-Robinson บัฟเฟอร์ และศักย์ไฟฟ้าที่เกิดขึ้นที่ผิวหน้าของอิเล็กโทรด ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม โดยใช้บัฟเฟอร์ pH 4 นี้แสดงค่าความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานในช่วงความเข้มข้นของพาราเซตามอล 0.02 ถึง 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ค่า LOD 0.034 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีนี้มีความไวในการวิเคราะห์สูง และนำไปประยุกต์ใช้ได้ในการตรวจวัดพาราเซตามอลในตัวอย่างทั้งในด้านเภสัชกรรมและตัวอย่างปัสสาวะมนุษย์อีกด้วย

B. C. Lorenção และคณะ [17] ได้พัฒนาวิธีตรวจวัดพาราเซตามอลและคาเฟอีนในตัวอย่างทางด้านเภสัชกรรมด้วยวิธีโวลแทมเมตริก โดยใช้อิเล็กโทรดโบรอนที่เคลือบด้วยเพชร โดยวิเคราะห์ในตัวอย่างที่ละลายในอะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 4.5 ร่วมกับสแคร์เวฟโวลแทมเมตริกหรือดิฟเฟอเรนเชียลพัลส์โวลแทมเมตริก (DPV) โดยจะใช้ DPV กับขั้วแคโทดในการปรับสภาพ BDD อิเล็กโทรดเมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าที่ 550 มิลลิโวลต์กับสารละลายจะแสดงการแยกจากกันของฟลักซ์ไฟฟ้าออกซิเดชันของพาราเซตามอลและคาเฟอีน กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์นี้ได้ค่าความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 5×10^{-7} โมลต่อลิตร ถึง 8.3×10^{-5} โมลต่อลิตร สำหรับสารทั้ง 2 ตัว ขีดจำกัดของการตรวจวัดของพาราเซตามอลและคาเฟอีนมีค่าเท่ากับ 4.9×10^{-7} โมลต่อลิตร และ 3.5×10^{-8} โมลต่อลิตร ตามลำดับ งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดพาราเซตามอลและคาเฟอีนในตัวอย่างทางเภสัชกรรมมากมาย (ในรูปยาเม็ด) และให้ผลการวิเคราะห์ที่ดีเหมือนกับการตรวจวัดด้วยวิธี HPLC (ร้อยละความเชื่อมั่นเท่ากับ 95)

S. Chittravathi และคณะ [17] ได้พัฒนาวิธีตรวจวัดพาราเซตามอล, ทรามาดอล และคาเฟอีนด้วยวิธีโวลแทมเมตริก โดยใช้อิเล็กโทรดชนิดglassy carbon poly (nile blue glassy

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

carbon electrode : PNBMGCE) ถูกประดิษฐ์ขึ้นด้วยวิธีอิเล็กโทรโพลีเมไรเซชันของ Nile blue มอนอเมอร์ การตรวจสอบการนำไฟฟ้าแสดงผลว่า PNB พิล์มไปรวมตัวอยู่ที่ผิวของ glassy carbon electrode และพัฒนาประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ด้วยอิเล็กโทรดที่ยังไม่เคลือบ ผลของสัญญาณพีคและศักย์ไฟฟ้าจะตรวจสอบว่าขึ้นอยู่กับค่า pH, sweep rate และความเข้มข้นหรือไม่ ผลการวิเคราะห์แสดงว่าวิธีนี้มีความไวและความจำเพาะในการวิเคราะห์สูงจากค่าความเป็นเส้นตรงในช่วงกว้างตั้งแต่ 2.0×10^{-7} - 1.62×10^{-5} โมลต่อลิตร, 1.0×10^{-6} - 3.1×10^{-4} โมลต่อลิตร และ 8.0×10^{-7} - 2.0×10^{-5} โมลต่อลิตร โดยมีค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เท่ากับ 0.08, 0.5 และ 0.1 ไมโครโมลต่อลิตรสำหรับพาราเซตามอล, ทรามาดอล และคาเฟอีนตามลำดับ สามารถกล่าวได้ว่า PNBMGCE ประสบความสำเร็จในการนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดพาราเซตามอล, ทรามาดอล และคาเฟอีนในตัวอย่างทางเภสัชกรรม

2.3.4 งานวิจัยที่ใช้เทคนิคอื่นๆ ในการตรวจวัดคลอเฟนิรามีน

M. Kazemipour และคณะ [18] ได้ทำการพัฒนาวิธีตรวจวัดคลอเฟนิรามีนมาลีเอท (CP), ฟีนิลเอพรีน ไฮโดรคลอไรด์ (PE) และฟีนิลโพรพานอลามีน ไฮโดรคลอไรด์ (PP) ที่รวมกันอยู่ในรูปยาเม็ดด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรีเชิงอนุพันธ์ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อทำการตรวจวัดตัวอย่างยาที่มีส่วนผสมของสาร 3 ชนิดนี้ พิจารณาจากสเปกตรัมขององค์ประกอบแต่ละชนิด และสเปกตรัมของสารผสม รวมถึงอนุพันธ์ลำดับที่ 0 ถึง 4 ด้วยเช่นกัน นอกจากนี้ยังรวมไปถึงสเปกตรัมของสารเพิ่มปริมาณ เช่น แลคโทส, แป้ง และไมโครคริสตัลลินเซลลูโลสเพื่อสังเกตการรบกวนที่สามารถเป็นไปได้ อนุพันธ์ของจุดข้ามศูนย์ (zero-crossing derivative spectrophotometry) จะขึ้นกับค่าที่ได้จากเส้นโค้งอนุพันธ์ลำดับที่ 2 สำหรับฟีนิลเอพรีน ไฮโดรคลอไรด์มีค่า 286.5 นาโนเมตร และเส้นโค้งอนุพันธ์ลำดับที่ 4 ของ PP มีค่า 220 นาโนเมตร โดยจะเป็นค่าที่ใช้สำหรับตรวจวัดสารแต่ละตัว สารตัวที่ 3 คือ CP นั้นจะถูกตรวจวัดในช่วงความยาวคลื่นที่กำหนดดังนี้ 265.8, 262.2, 269.5 และ 273.8 นาโนเมตรตามค่าจากอนุพันธ์ลำดับที่ 2 ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่า ส่วนประกอบอื่นๆ ในยานั้นไม่มีผลรบกวนการวิเคราะห์ จากกราฟมาตรฐานของสารแต่ละตัว ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ที่ 1 ถึง 8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร PE และ PP อยู่ในช่วง 5 ถึง 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ CP อยู่ในช่วง 2 ถึง 8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ขีดจำกัดต่ำสุดของการวัดพบว่า PE เท่ากับ 0.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร PP 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ CP เท่ากับ 0.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ค่าเฉลี่ยของร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ PE เท่ากับ 95.3 % วิธีวิเคราะห์นี้ประสบความสำเร็จในการนำมาตรวจวัดสาร 3 ตัวที่ผสมกันอยู่ในรูปของยาแก้ปวด โดยแสดงค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับที่สูงมีความเที่ยงและแม่นยำ

Y. Dong และคณะ [19] ได้พัฒนาวิธีสำหรับตรวจสอบและวิเคราะห์สารประกอบไนโตรเจน 4 ชนิด ได้แก่ ซูโดเอพีดรีน, เดกซ์โทรเมทอร์แฟน, ไตเฟนไฮโดรรามีน และคลอเฟนิรามีน ด้วยวิธีนาโนเอควิวสคาพิลลารี อิเล็กโทรโฟรีซิส (Nanoaqueous Capillary Electrophoresis หรือ NACE) โดยใช้บัฟเฟอร์ประกอบด้วย 40 มิลลิโมลต่อลิตร ammonium acetate, 10% acetonitrile

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใน methanol คอลัมน์ที่ใช้ คือ *fused-silica capillary column* ขนาด 47 เซนติเมตร \times 75 ไมโครเมตร โดยให้แรงดันไฟฟ้า 25 กิโลโวลต์ และอุณหภูมิ capillary 25 องศาเซลเซียส ช่วงความเป็นเส้นตรง ซูโดเอพิไดรีน ($R^2 > 0.9993$), เดกซ์โทรเมทอร์แฟน ($R^2 > 0.9971$), ไตเฟนไฮโครามีน ($R^2 > 0.9991$) และ คลอเฟนิรามีน ($R^2 > 0.9995$) ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของลำดับการชะออกของสาร 0.37 3.90 0.73 0.68 และพื้นที่ใต้กราฟ 2.80 3.50 1.60 และ 3.70 % ตามลำดับร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วงระหว่าง 91 และ 109 %

R. Sawant และคณะ [20] ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์สารพร้อมกันของพาราเซตามอล, ฟีนิลเอพรีน ไฮโดรคลอไรด์ และคลอเฟนิรามีนมาลิเอทในรูปแบบสารบริสุทธิ์และรูปแบบของยาที่เป็นของแข็ง ด้วยการทำการทดลอง 2 วิธี สำหรับวิธีแรกคือการคำนวณประยুক্তจากสมการเชิงเส้นสองตัวแปรและวิธีที่สอง คือวิธีวิเคราะห์สเปกโตรโฟโตเมตริก แบบหลายความยาวคลื่น ทั้งสองวิธีใช้ 0.1 โมลต่อลิตร NaOH เป็นตัวทำละลาย สมการเชิงเส้นสองตัวแปรตรวจวัด พาราเซตามอลที่ความยาวคลื่น 256.8 นาโนเมตร ฟีนิลเอพรีน ไฮโดรคลอไรด์ ที่ความยาวคลื่น 236.8 นาโนเมตร และคลอเฟนิรามีนมาลิเอท ที่ความยาวคลื่น 222.4 นาโนเมตร กราฟความเข้มข้นมาตรฐาน กราฟที่ได้เป็นเส้นตรง มีความเข้มข้นในช่วง 0 ถึง 35 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับยาทุกตัว ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่า การทดลองนี้ มีความถูกต้อง แม่นยำ และมีค่าความสามารถในการทำซ้ำ ($RSD < 1\%$)

2.3.5 งานวิจัยที่ใช้เทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีในการตรวจวัดพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีน

S. Rajurkar [21] ได้พัฒนาวิธีตรวจวัดคลอเฟนิรามีนมาลิเอท, พาราเซตามอล และซูโดเอพิไดรีน ไฮโดรคลอไรด์ ในยาชนิดแคปซูลและยาน้ำด้วยวิธี HPLC การแยกของตัวยาสามส่วนประกอบถูกวิเคราะห์บน คอลัมน์ C18 ขนาด 150 \times 4.6 มิลลิเมตร โดยใช้เฟสเคลื่อนที่แบบเปลี่ยนแปลงอัตราส่วน เมทานอล-โซเดียมเปอร์คลอเรต (0.043 โมลต่อลิตร, 2 มิลลิลิตร ไตรเอทิลเอมีน, pH 5.0) อัตราการไหล 1 มิลลิลิตร ตรวจวัดที่ความยาว 204 นาโนเมตร สำหรับตรวจวัดคลอเฟนิรามีนมาลิเอท, ซูโดเอพิไดรีน และที่ความยาว 300 นาโนเมตร สำหรับตรวจวัดพาราเซตามอล ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่า มีการแยกที่ดีซึ่งมีร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 98 ถึง 108 % ผลของวิธีการทดสอบแสดงให้เห็นว่าวิธีนี้มีความจำเพาะเจาะจง มีค่าความเป็นเส้นตรงถูกต้องและแม่นยำ

A. P. Dewani และคณะ [22] ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์การแยกสารของ ฟีนิลเอพรีน, พาราเซตามอล, คาเฟอีน และคลอเฟนิรามีน ในตัวอย่างเม็ดยาด้วยวิธี RP-HPLC-DAD ระบบเฟสเคลื่อนที่คงที่ตลอดการวิเคราะห์ ในการศึกษาครั้งนี้ ใช้ คอลัมน์ C18 แบบผันกลับ ขนาด 150 มิลลิเมตร \times 4.5 มิลลิเมตร อนุภาคขนาด 5 ไมโครเมตร เฟสเคลื่อนที่ที่ใช้ คือ อะซิโตนไนโตรล์, เมทานอล และ 10 มิลลิโมลต่อลิตร ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 16:22:62 (v/v) pH ของ บัฟเฟอร์ 2.5 ปรับ pH ด้วย ออร์โธ-ฟอสฟอริกแอซิด อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่ออนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ลำดับการชะออกของสาร ฟีนิลเอพรีน, พาราเซตามอล, คาเฟอีน และคลอเฟนิรามีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่พบคือ 1.8, 3.1, 5.2 และ 10.9 นาที ตามลำดับ วิธีนี้ถูกตรวจสอบความเป็นเส้นตรง ช่วงความจำเพาะเจาะจง ความถูกต้อง และความแม่นยำ วิธีนี้ประสบความสำเร็จในการควบคุมปริมาณของฟีนิลเอพรีน, พาราเซตามอล, คาเฟอีน และคลอเฟนิรามีนในรูปแบบของยา

A. García และคณะ [23] ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์ยาแก้หวัด พาราเซตามอล, ฟีนิลเอพรีน และคลอเฟนิรามีน ด้วยเทคนิค HPLC เฟสคงที่แบบผันกลับ สำหรับการวิเคราะห์สารประกอบทั้ง 3 ใช้ระบบเฟสเคลื่อนที่อัตราส่วนคงที่ตลอดการทดลอง คอลัมน์ที่ใช้ คือ Supelco Discovery HS PEG column poly (ethyleneglycol) ขนาด 15×0.46 เซนติเมตร, 5 ไมโครเมตร เฟสเคลื่อนที่ คือ 20 มิลลิโมลต่อลิตร ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0 ต่อ อะซิโตไนโตรล์ (90 : 10 v/v) ที่อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 215 นาโนเมตร สำหรับทุกสารประกอบ ยกเว้น พาราเซตามอล จะตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 310 นาโนเมตร

H.G. Lou และคณะ [24] ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์สารพร้อมกันของ พาราเซตามอล ซูโดอีเฟดรีน, เดกซ์โทรแฟน และคลอเฟนิรามีน ในพลาสมาของมนุษย์ด้วยเทคนิค LC-MS/MS ซึ่งใช้ diphenhydramine เป็น internal standard สารที่ต้องการวิเคราะห์และ internal standard จะกระจายด้วยบนคอลัมน์ C18 YMC-ODS-AQ ขนาด 100×2.0 มิลลิเมตร, 3 ไมโครเมตร โดยเฟสเคลื่อนที่ที่มีการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนตลอดการวิเคราะห์ เฟสเคลื่อนที่ใช้ 0.3 % (v/v) กรดอะซิติก และเมทานอล อัตราการไหล 0.30 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดด้วยเครื่อง triple quadrupole tandem mass spectrometer แบบ electrospray ionization in the positive ion mode ผลที่ได้มีความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 10 ถึง 5,000 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตรสำหรับ พาราเซตามอล, ซูโดอีเฟดรีน 2 ถึง 1,000 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร, เดกซ์โทรแฟน 0.05 ถึง 25 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และคลอเฟนิรามีน 0.1 ถึง 50 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ค่าความถูกต้องวิเคราะห์ จากควบคุมคุณภาพตัวอย่างในช่วง 8.37 % ถึง 3.13 % สำหรับทุกสารที่ต้องการวิเคราะห์ ค่าความแม่นยำ intra-day น้อยกว่า 11.54 % และ inter - day น้อยกว่า 14.35 %

2.3.6 งานวิจัยที่ใช้เทคนิคอื่นๆในการตรวจวัดพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีน

H. S. Appasaheb และคณะ [25] ได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดพาราเซตามอล, คลอเฟนิรามีน มาลีเอท และฟีนิลเอพรีน ไฮโดรคลอไรด์ในตัวอย่างยาเม็ดด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมตริก โดยทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารทั้งในรูปส่วนที่ผสมรวมกันและตัวอย่างยาเม็ดที่ความยาวคลื่นต่างๆกัน ได้แก่ 258, 262 และ 239 นาโนเมตร สำหรับพาราเซตามอล, คลอเฟนิรามีนมาลีเอท และฟีนิลเอพรีนไฮโดรคลอไรด์ที่ละลายอยู่ในเมทานอลตามลำดับ สามารถวัดได้ในช่วงความเข้มข้น 4 ถึง 24 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ของสารทั้ง 3 ชนิด การคำนวณหาปริมาณของสารทั้ง 3 ชนิดนี้สามารถทำได้ โดยใช้สมการที่คำนวณพร้อมกัน, Q-analysis และการคำนวณจากพื้นที่ใต้เส้นโค้ง วิธีการตรวจวัดนี้ได้ตรวจสอบความถูกต้องของวิธีทดสอบตาม ICH guidelines

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

ตารางที่ 3.1 : สารเคมี

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ยี่ห้อและประเทศผู้ผลิต
อะเซตามีนโนเฟน หรือ พาราเซตามอล (Acetaminophen / Paracetamol)	$C_8H_9NO_2$	SIGMA- ALDRICH, USA
คลอร์เฟนิรามีน มาลีเอท (Chlorpheniramine maleate)	$C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$	SIGMA- ALDRICH, USA
เมทานอล (Methanol)	CH_3OH	Fisher Scientific, UK
อะซิโตไนไตรล์ (Acetonitrile)	C_2H_3N	LAB-SCAN ANALYTICAL SCIENCE, Thailand
น้ำปราศจากไอออน (Deionized water)	H_2O	Water Purification system Zeneer up 400, Korea
กรดฟอสฟอริก (Orthophosphoric acid)	H_3PO_4	CARLO ERBA, Italy

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องตรวจวัด

1. เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (Water Model M486, 515 waters)
2. เข็มฉีดยาขนาด 10 ไมโครลิตร (EXMSIO, Japan)
3. เครื่องยูวี-วิสสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (HITACHI U-2900, Japan)
4. ไนลอนเมมเบรน ขนาด 0.22 ไมโครเมตร
5. เครื่องวัด pH (Metrohm, 827 pH Lab Meter, USA)
6. ขวดวัดปริมาตร
7. ปิเปตและไมโครปิเปต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. ขวดรูปชมพู่
9. ปีกเกอร์
10. กระบอกตวง
11. ซ้อนตักสาร
12. กระบอกน้ำกลั่น
13. เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง (Shimadzu Aux220, Japan)
14. เครื่องอัลตราโซนิก (Mettler 54M16216, USA)

3.2 การเตรียมสารละลาย

3.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานพาราเซตามอล

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐานพาราเซตามอลความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
ชั่งสารมาตรฐานพาราเซตามอลมา 25 มิลลิกรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนและปรับ
ปริมาตรจนครบ 25 มิลลิลิตร
2. การเตรียมสารละลายมาตรฐานพาราเซตามอลความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
ปิเปตสารมาตรฐานพาราเซตามอลความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมา 15 มิลลิลิตร และ
ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนครบ 25 มิลลิลิตร
3. การเตรียมสารละลายมาตรฐานพาราเซตามอลความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
ปิเปตสารมาตรฐานพาราเซตามอลความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมา 5 มิลลิลิตร และ
ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนครบ 25 มิลลิลิตร

3.2.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานคลอเฟนิรามีน มาลีเอท

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐานคลอเฟนิรามีน มาลีเอทความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อ
มิลลิลิตร
ชั่งสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีน มาลีเอท 250 มิลลิกรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน
และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนครบ 50 มิลลิลิตร
2. การเตรียมสารละลายมาตรฐานคลอเฟนิรามีน มาลีเอทความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อ
มิลลิลิตร
ปิเปตสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีน มาลีเอทความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมา 15
มิลลิลิตรและ ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนครบ 25 มิลลิลิตร
3. การเตรียมสารละลายมาตรฐานคลอเฟนิรามีน มาลีเอทความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ
มิลลิลิตร
ปิเปตสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีน มาลีเอทความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมา 5
มิลลิลิตรและ ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนครบ 25 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง [23]

สารตัวอย่างจะเป็นยาเม็ดที่มีส่วนผสมของพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีนมาลีเอท นำยามาชั่งและบดน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง หลังจากนั้นนำมาบดด้วยโกร่งบดยาและปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

สารตัวอย่างจะผ่านการกรองด้วยไนลอนเมมเบรน ขนาด 0.22 ไมโครเมตร (Agela Technologies, USA) ก่อนทำการฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High-performance liquid chromatography : HPLC)

3.3 วิธีการดำเนินการทดลอง

3.3.1 ศึกษาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการตรวจวัดพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีน การศึกษาความยาวคลื่นที่เหมาะสมทำได้โดยเทสารละลายลงในเซลล์สำหรับใช้กับเครื่องยูวี-วิสทิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ แล้วนำไปวัดที่ค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 200-500 นาโนเมตร โดยใช้ น้ำกลั่นปราศจากไอออนในการปรับค่าศูนย์ [1]

3.3.2 การศึกษาองค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสม

1. เมทานอลบริสุทธิ์ [1]

ทำการกรองเมทานอลเกรด HPLC แล้วไล่อากาศด้วยเครื่องอัลตราโซนิคเป็นเวลา 30 นาที เมื่อต้องการจะนำมาใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ให้ทำการไล่อากาศอีกครั้งโดยใช้เวลา 15 นาที

2. อะซิโตไนไตรล์ : เมทานอล : น้ำ ที่ค่า pH 2.5 [23]

ทำการกรองอะซิโตไนไตรล์ เมทานอล และน้ำ แล้วไล่อากาศด้วยเครื่องอัลตราโซนิคเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นมาผสมในอัตราส่วน 16 : 22 : 62 ตามลำดับ และทำการตรวจวัดค่า pH โดยค่า pH มีค่า 2.5 และเมื่อต้องการจะนำมาใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ให้ทำการไล่อากาศอีกครั้งโดยใช้เวลา 15 นาที

3. อะซิโตไนไตรล์ : เมทานอล : น้ำ ที่ค่า pH 3.5 [23]

ทำการกรองอะซิโตไนไตรล์ เมทานอล และน้ำ แล้วไล่อากาศด้วยเครื่องอัลตราโซนิคเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นมาผสมในอัตราส่วน 16 : 22 : 62 ตามลำดับ และทำการตรวจวัดค่า pH โดยค่า pH มีค่า 3.5 และเมื่อต้องการจะนำมาใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ให้ทำการไล่อากาศอีกครั้งโดยใช้เวลา 15 นาที

สภาวะการทดลอง ดังตารางที่ 3.2
 ตารางที่ 3.2 : สภาวะการทดลอง

ตัวแปรในการแยก

ความยาวคอลัมน์ 150 มิลลิเมตร

ชนิดคอลัมน์ C18 (KYA TECH, Japan)

อัตราการไหล 0.7 มิลลิลิตรต่อนาที

ความยาวคลื่นที่ใช้ตรวจวัด 254 นาโนเมตร

3.4 การประยุกต์ใช้เทคนิคโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงในการตรวจวัดปริมาณพาราเซตามอล และคลอเฟนิรามีน มาลีเอตในตัวอย่างยาแก้ปวด

ในการประยุกต์ใช้เทคนิคโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงทำได้โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. นำสารละลายตัวอย่างที่ทำการปรับปริมาตรและกรองผ่านเมมเบรนแล้วฉีดเข้าเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High-performance liquid chromatography : HPLC)
2. เปรียบเทียบเวลาที่ใช้ในการแยกกับสารมาตรฐานแต่ละชนิด และทำการคำนวณหาความเข้มข้นของพาราเซตามอล และคลอเฟนิรามีน มาลีเอตในสารตัวอย่าง

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

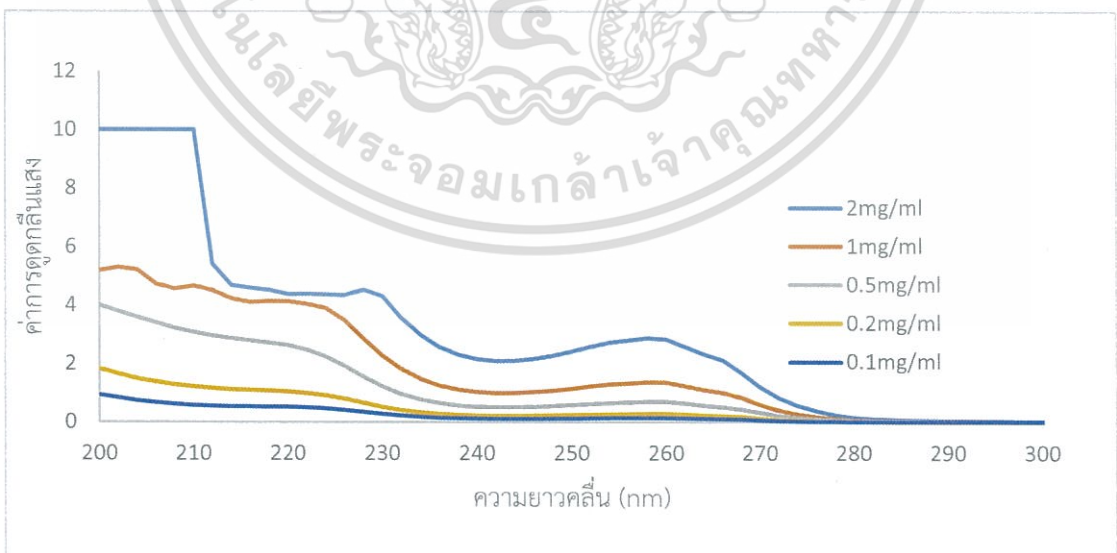
4.1 การศึกษาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการตรวจวัดพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีนมาลิเอท

4.1.1 การศึกษาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการตรวจวัดพาราเซตามอล

ในการทดลองนี้ได้เลือกใช้ความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการตรวจวัดพาราเซตามอลตามความยาวคลื่นที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณพาราเซตามอลในยาแก้ปวดด้วยเทคนิค HPLC [1] คือ 254 นาโนเมตร

4.1.2 การศึกษาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการตรวจวัดคลอเฟนิรามีนมาลิเอท

เมื่อนำสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนมาลิเอทที่ความเข้มข้นต่างกัน คือ 0.1, 0.2, 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ มาศึกษาความยาวคลื่นที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ พบว่า ความยาวคลื่นสูงสุดของการดูดกลืนแสง (λ_{max}) ของคลอเฟนิรามีนมาลิเอท เป็น 258 นาโนเมตร ดังแสดงในรูป 4.1 และจากการศึกษาความยาวคลื่นที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณพาราเซตามอลด้วยเทคนิค HPLC พบว่าใช้ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับความยาวคลื่นสูงสุดในการตรวจวัดคลอเฟนิรามีนมาลิเอท ดังนั้นจึงเลือกใช้ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ในการศึกษาการตรวจวัดพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีนมาลิเอท ด้วยเทคนิค HPLC ต่อไป



รูปที่ 4.1 สเปกตรัมของสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนมาลิเอทที่ความเข้มข้นต่างๆ

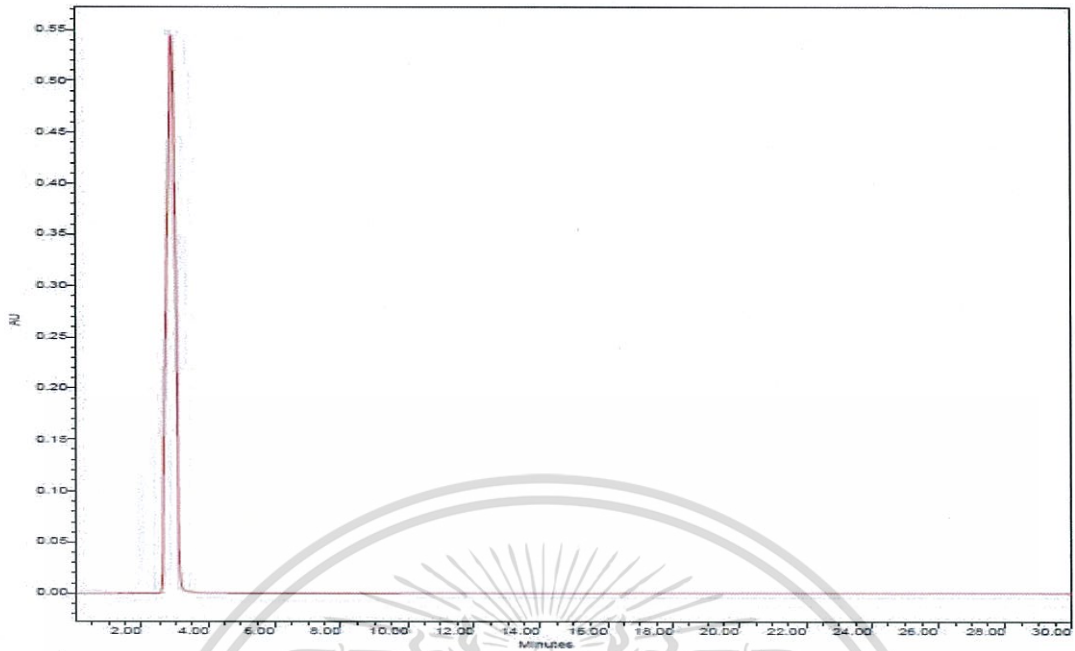
4.2 การศึกษาองค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสมในการตรวจวัดพาราเซตามอล และคลอเฟนิรามีนมาลิเอท

4.2.1 เมทานอลบริสุทธิ์

เมื่อนำสารมาตรฐานพาราเซตามอลที่ความเข้มข้นต่างกัน คือ 0.2, 0.4 และ 1 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร และสารละลายตัวอย่างคลอเฟนิรามีนมาลิเอท (ใช้ทดลองแทนสารมาตรฐาน) จำนวน 5, 10 และ 20 เม็ด ในยา 1 เม็ดมีปริมาณของคลอเฟนิรามีนมาลิเอท 4 มิลลิกรัม จึงมีความเข้มข้นของ สารละลายเป็น 16.55, 33.15 และ 66.46 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ มาทำการตรวจวัดด้วย เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง พบว่า สารมาตรฐานพาราเซตามอลที่ความเข้มข้น 0.2 , 0.4 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้สัญญาณโครมาโทแกรมที่มีเวลาในการแยกช่วงเดียวกัน คือ ช่วงเวลานาทีที่ 3 ดังแสดงในรูป 4.2 (ก), (ข) และ (ค) ตามลำดับ และเมื่อนำค่าจากการทดลองมา สร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคและความเข้มข้น พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ การตัดสนใจเท่ากับ 0.9988 จึงสามารถกล่าวได้ว่าเฟสเคลื่อนที่ชนิดนี้สามารถใช้ในการวิเคราะห์ ปริมาณ พาราเซตามอลได้อย่างมีประสิทธิภาพ



รูปที่ 4.2 (ก) โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานพาราเซตามอลที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร

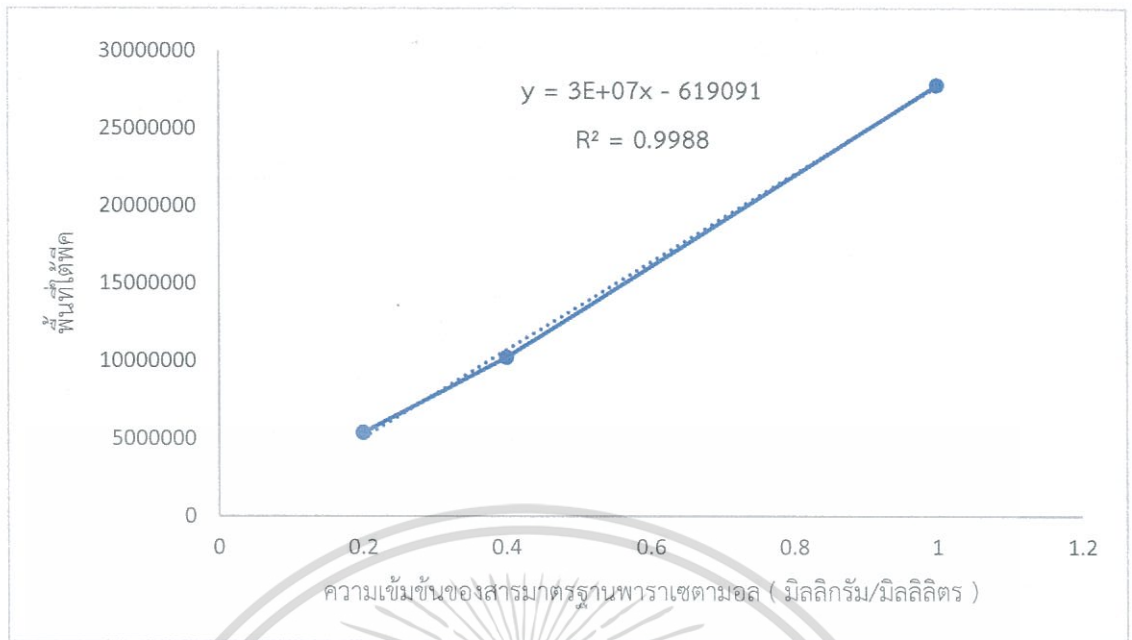


รูปที่ 4.2 (ข) โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานพาราเซตามอลที่ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



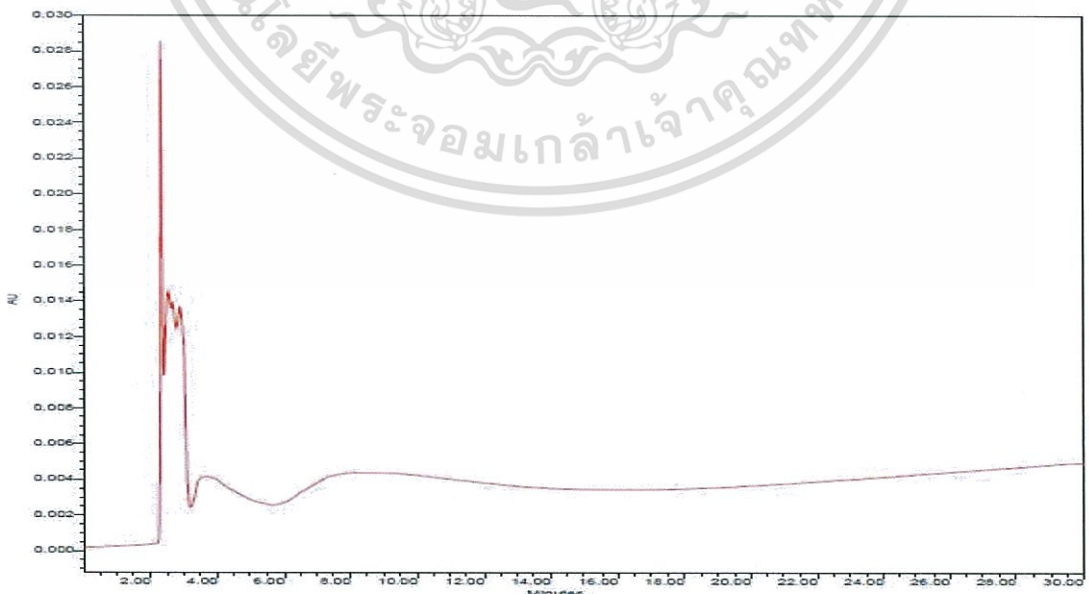
รูปที่ 4.2 (ค) โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานพาราเซตามอลที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



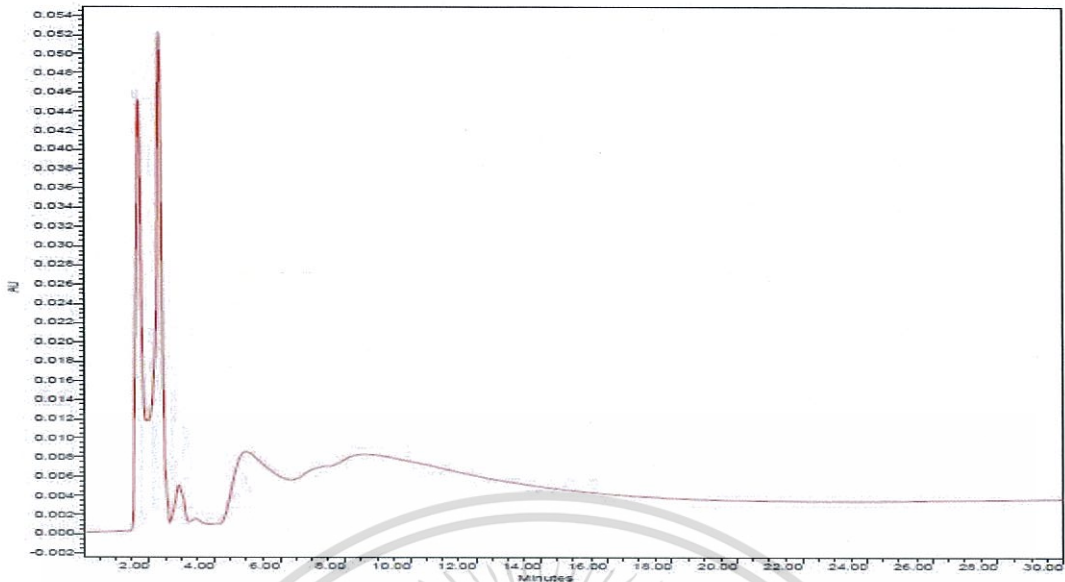
รูปที่ 4.3 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานพาราเซตามอล

ในส่วนของการตรวจวัดคลอเฟนิรามีนมาลิเอทนั้น ไม่ปรากฏสัญญาณของคลอเฟนิรามีนมาลิเอท จะพบเพียงสัญญาณรบกวนเล็กๆ ในทุกความเข้มข้นที่นำมาตรวจวัด ดังแสดงในรูป 4.5 (ก) , (ข) , (ค) ตามลำดับ จึงอาจสรุปได้ว่าองค์ประกอบของเฟสเคลื่อนที่ที่ใช้เมทานอลบริสุทธิ์เพียงอย่างเดียวนี้ไม่เหมาะสำหรับการตรวจวัดคลอเฟนิรามีนมาลิเอท อาจเหมาะสมในการตรวจวัดพาราเซตามอลเพียงชนิดเดียวเท่านั้น

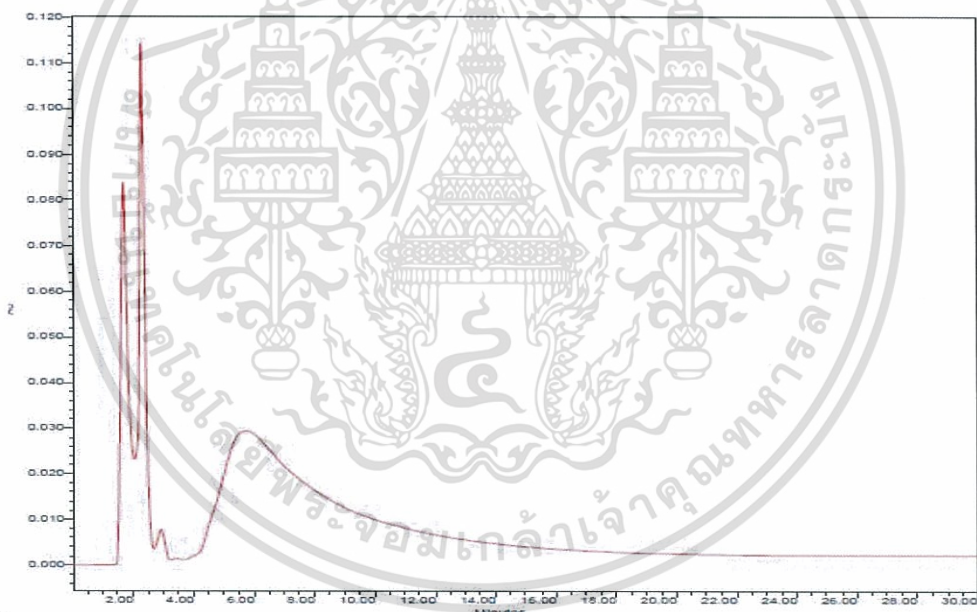


รูปที่ 4.4 (ก) โครมาโทแกรมของสารตัวอย่างคลอเฟนิรามีนมาลิเอทจำนวน 5 เม็ด (ความเข้มข้น 16.55 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 (ข) โครมาโทแกรมของสารตัวอย่างคลอเฟนิรามีนมาลิเอทจำนวน 10 เม็ด (ความเข้มข้น 33.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)



รูปที่ 4.4 (ค) โครมาโทแกรมของสารตัวอย่างคลอเฟนิรามีนมาลิเอทจำนวน 20 เม็ด (ความเข้มข้น 66.46 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

4.2.2 อะซิโตนไตรล: เมทานอล: น้ำ (pH 2.5)

เมื่อนำสารมาตรฐานพาราเซตามอลที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน คือ 0.2, 0.6 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, สารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนมาลิเอทที่มีความเข้มข้นของสารละลายเป็น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สารมาตรฐานผสมระหว่างพาราเซตามอลความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และคลอเฟนิรามีนมาลิเอทความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ สารละลายตัวอย่างยาแก้หวัด ในที่นี้ใช้ยาแก้หวัด 1 เม็ด จึงให้ความเข้มข้นของพาราเซตามอล 20 มิลลิกรัม

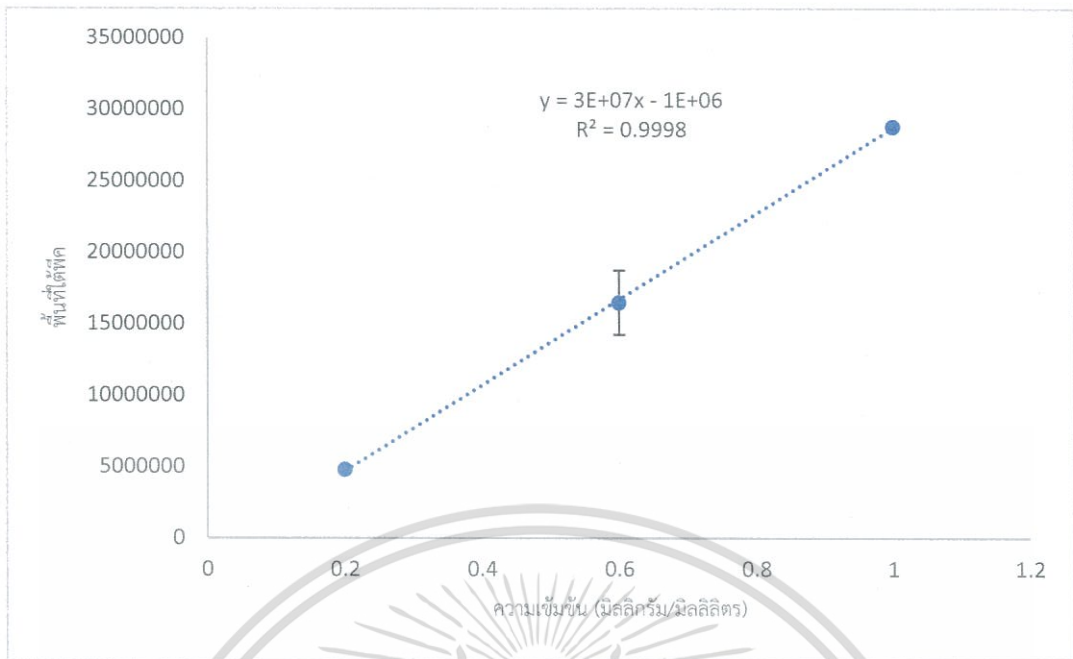
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อมิลลิลิตร และ คลอเฟนิรามีนมาลิเอท 0.08 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ตามฉลากระบุความเข้มข้นของ พาราเซตามอล 500 มิลลิกรัม และ คลอเฟนิรามีนมาลิเอท 2 มิลลิกรัม ต่อเม็ดยา1เม็ด) มาทำการ ตรวจวัดด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High-performance liquid chromatography : HPLC) พบว่า สารมาตรฐานพาราเซตามอลที่ความเข้มข้น 0.2, 0.6 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นั้นล้วนให้สัญญาณโครมาโทแกรมที่มีเวลาในการแยกช่วงใกล้เคียงกัน คือ ช่วงเวลานาทีที่ 4.795, 4.805 และ 4.799 ตามลำดับ (ดังแสดงในรูป 4.5) จึงสามารถยืนยันผลการ ทดลองได้ว่าเป็นสัญญาณของการตรวจวัดพาราเซตามอล และสามารถนำค่าพื้นที่ใต้พีคจากการ ทดลองมาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคและความเข้มข้นของสารละลาย พาราเซตามอล โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเท่ากับ 0.9988 (ดังแสดงความสัมพันธ์ในรูป 4.6)



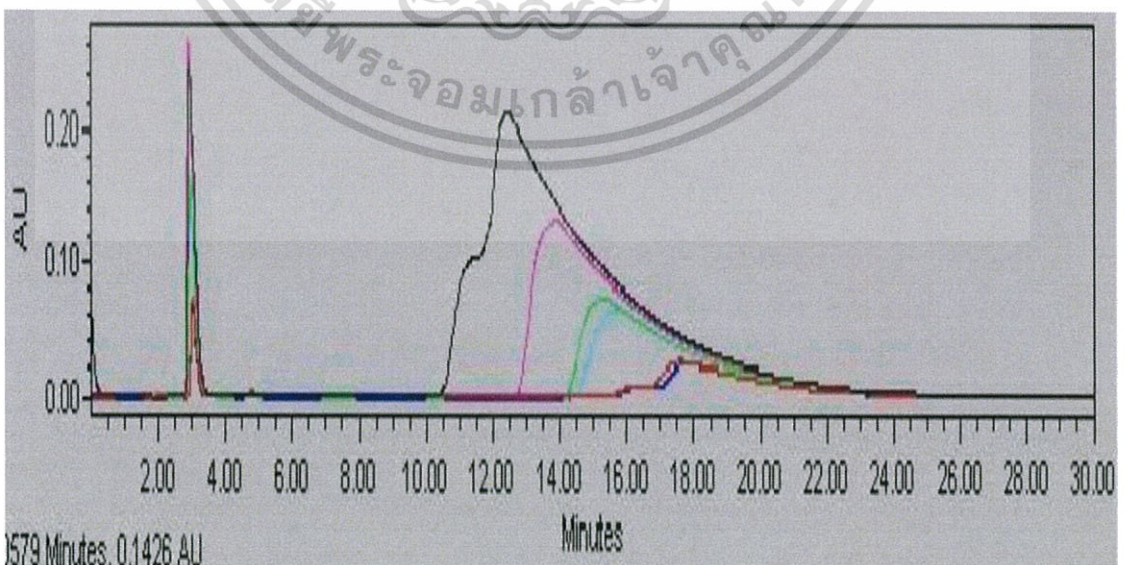
รูปที่ 4.5 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานพาราเซตามอลที่ความเข้มข้น 0.2, 0.6 และ 1 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



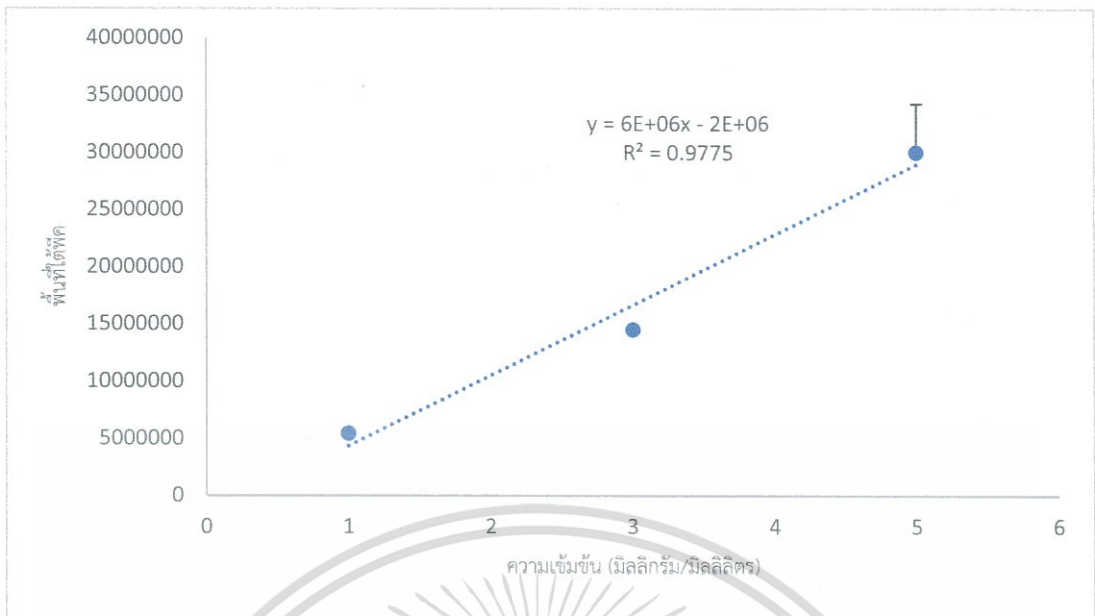
รูปที่ 4.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน พาราเซตามอล (ค่าเฉลี่ย)

ในส่วนของผลการตรวจวัดคลอเฟนิรามีนมาลีเอทนั้น ปรากฏสัญญาณของคลอเฟนิรามีนมาลีเอท แต่สัญญาณที่ได้จากโครมาโทแกรมนั้นมีความไม่ตรงกันในแต่ละความเข้มข้น มีการขยับ (shift) ของสัญญาณในแต่ละความเข้มข้นของสารที่ตรวจวัด (ดังแสดงในรูป 4.7) และได้นำค่าพื้นที่ใต้พีคจากสัญญาณที่ตรวจวัดแต่ละครั้งมาสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคและความเข้มข้นของคลอเฟนิรามีนมาลีเอทเฉลี่ยจากการตรวจวัดสาร 2 ครั้ง (ดังแสดงในรูป 4.8)



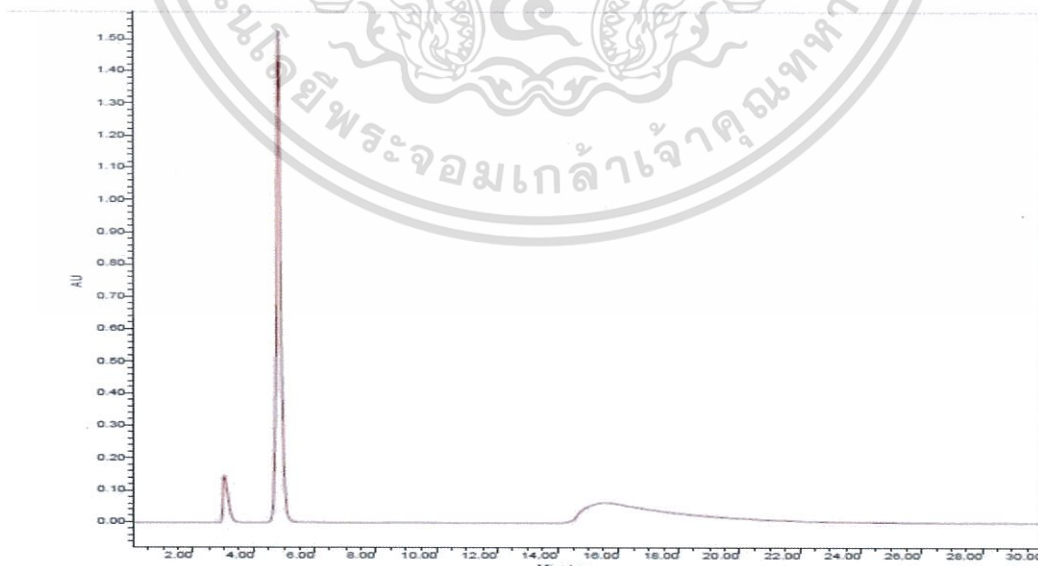
รูปที่ 4.7 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนมาลีเอทที่ความเข้มข้น 1, 3 และ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่เผยแพร่เพื่อการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



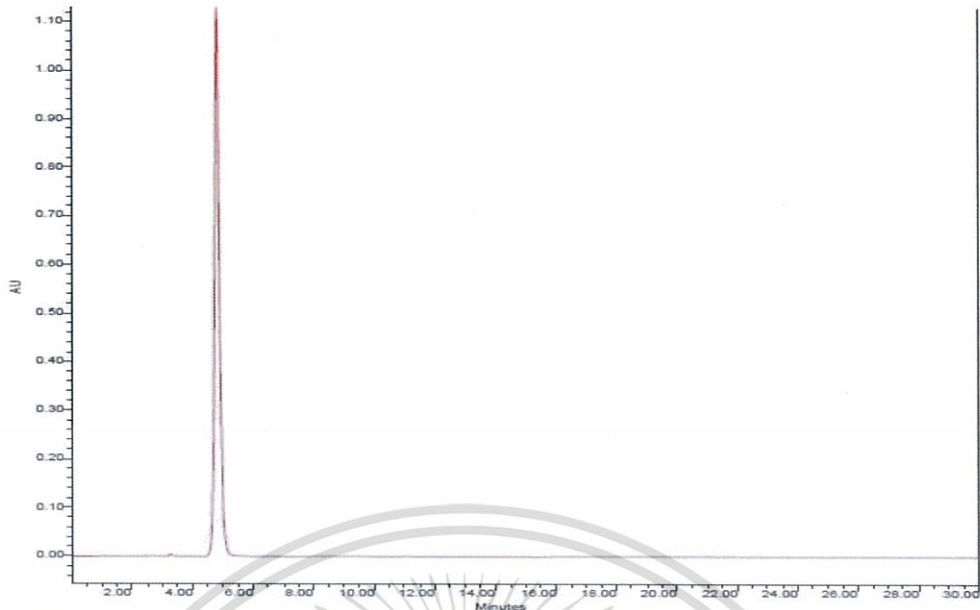
รูปที่ 4.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนมาลิเอท (ค่าเฉลี่ย)

ส่วนผลการตรวจวัดสารมาตรฐานผสมระหว่างพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีนมาลิเอทนั้น ให้สัญญาณของพาราเซตามอลที่ชัดเจน และยังเห็นสัญญาณของคลอเฟนิรามีนมาลิเอทอีกด้วย แต่พีคที่ได้ยังไม่ค่อยชัดเจนนัก (ดังแสดงในรูป 4.9) และเมื่อตรวจวัดสารละลายตัวอย่างยาแก้หวัดพบว่าผลของการตรวจวัดที่ได้พบเพียงสัญญาณของพาราเซตามอลเพียงอย่างเดียวเท่านั้น ไม่ปรากฏพีคของคลอเฟนิรามีน (ดังแสดงในรูป 4.10)



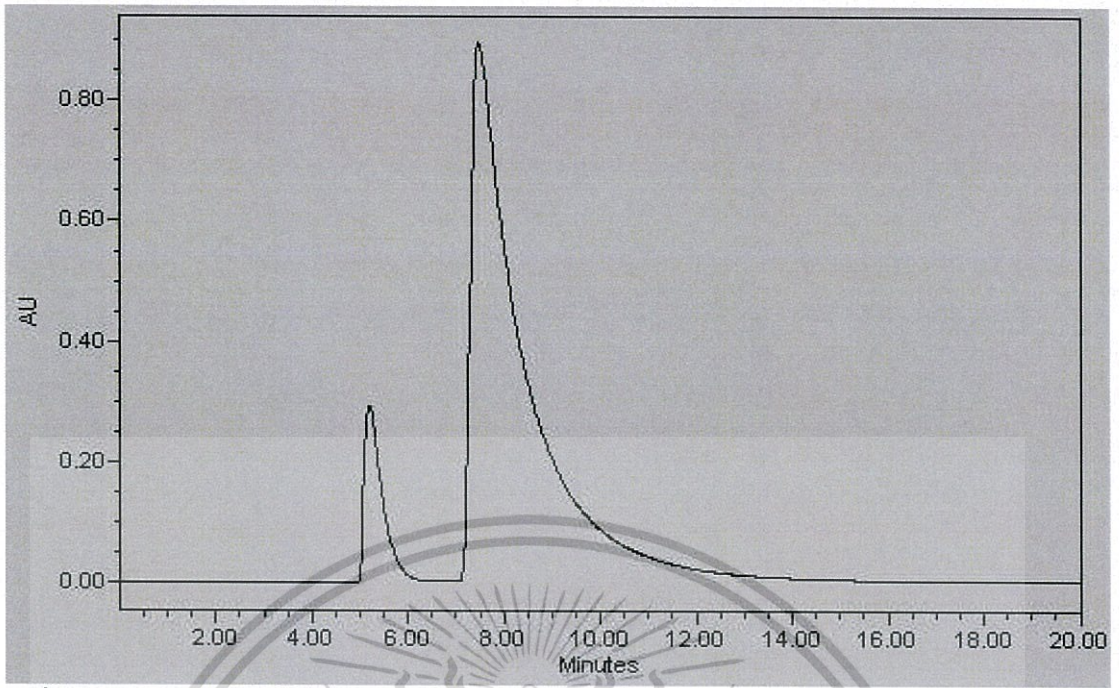
รูปที่ 4.9 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานผสม (ความเข้มข้นของพาราเซตามอล 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และคลอเฟนิรามีนมาลิเอท 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

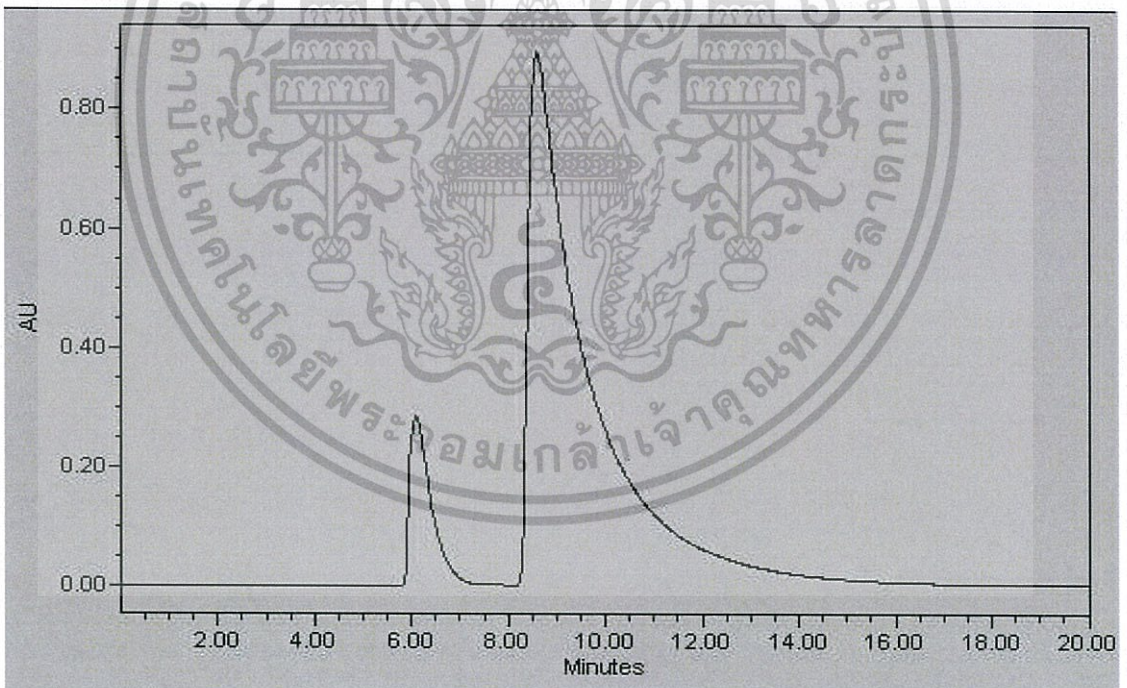


รูปที่ 4.10 โครมาโทแกรมของสารตัวอย่างยาแก้หวัด 1 เม็ด (ความเข้มข้นของพาราเซตามอล 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ คลอเฟนิรามีนมาลิเอท 0.08 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

แต่เมื่อทำการทดลองตรวจวัดคลอเฟนิรามีนมาลิเอทอีกครั้งโดยใช้เฟสเคลื่อนที่ อะซิโตรไน-ไตรล์: เมทานอล: น้ำ ควบคุมให้ pH เท่ากับ 2.5 และใช้สารมาตรฐานความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเช่นเดียวกับการทดลองในครั้งก่อนหน้า เพื่อเปรียบเทียบกับผลการตรวจวัดคลอเฟนิรามีนมาลิเอทที่เกิดการขยับ (shift) ของสัญญาณ พบว่าเมื่อทำการตรวจวัดสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนมาลิเอทที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วนั้น สัญญาณที่ได้เกิดการขยับเช่นเดียวกัน อีกทั้งเมื่อทำการตรวจวัดภายใต้สภาวะการทดลองนี้ในช่วงระยะเวลาหนึ่ง ผลการตรวจวัดที่ได้มีความผิดเพี้ยนไป ดังแสดงในภาพ 4.11 (ก), (ข), (ค), (ง) และ (จ) ตามลำดับ

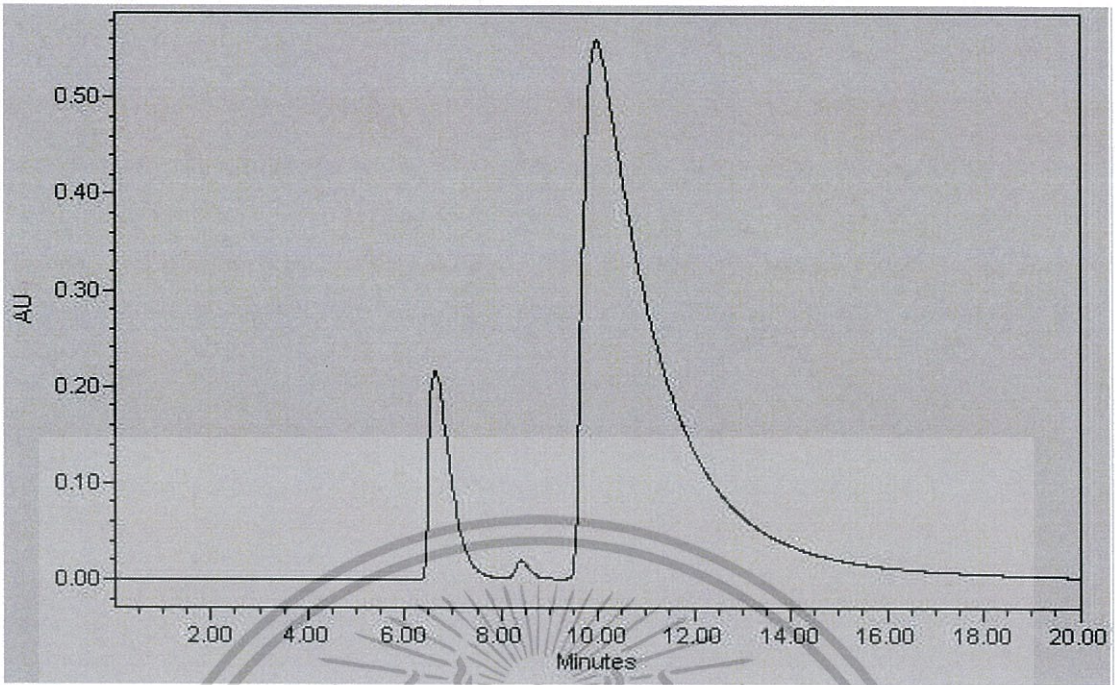


รูปที่ 4.11 (ก) โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ครั้งที่1)

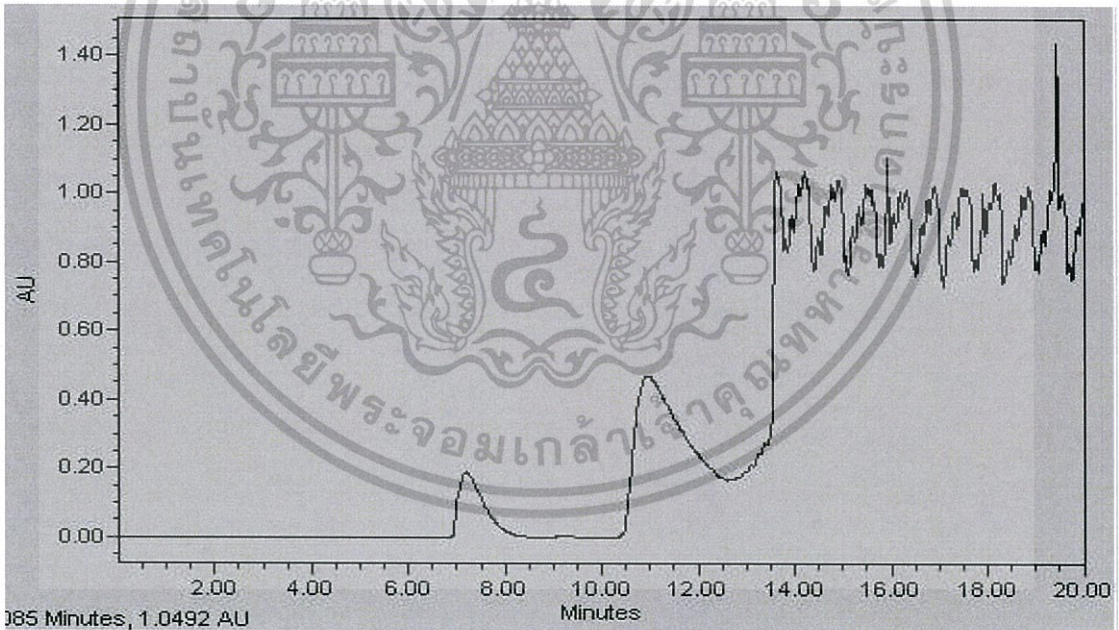


รูปที่ 4.11 (ข) โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนมาลิเอทความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ครั้งที่2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

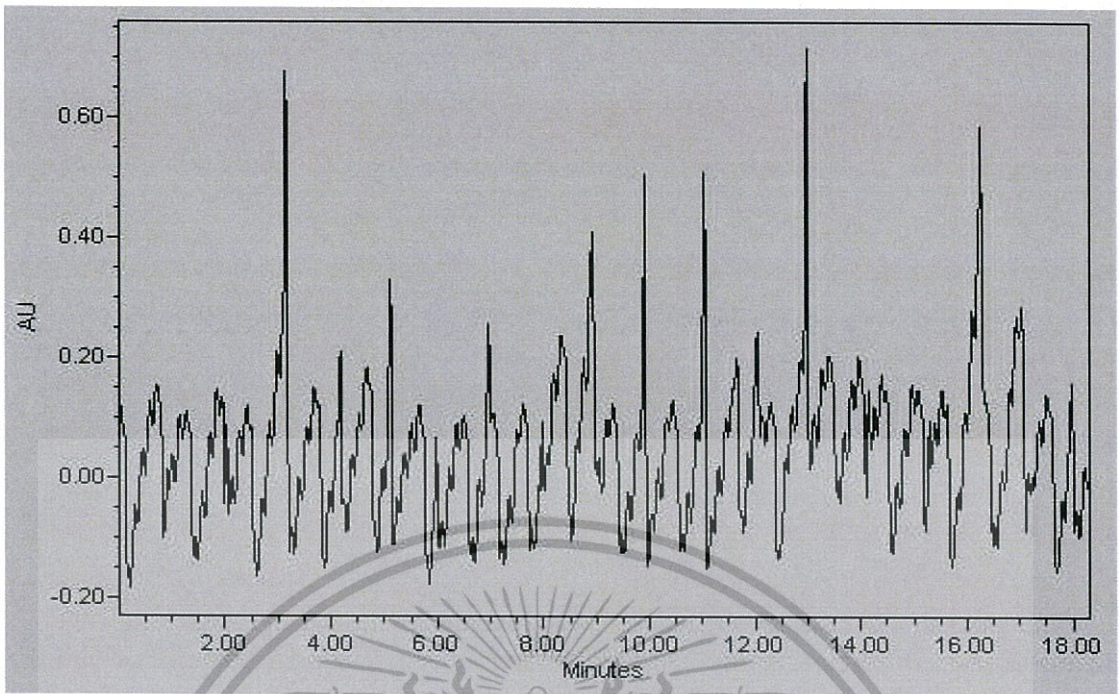


รูปที่ 4.11 (ค) โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนมาลิเอทความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร (ครั้งที่1)



รูปที่ 4.11 (ง) โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนมาลิเอทความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร (ครั้งที่2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.11 (จ) โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนมาลิเอทความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

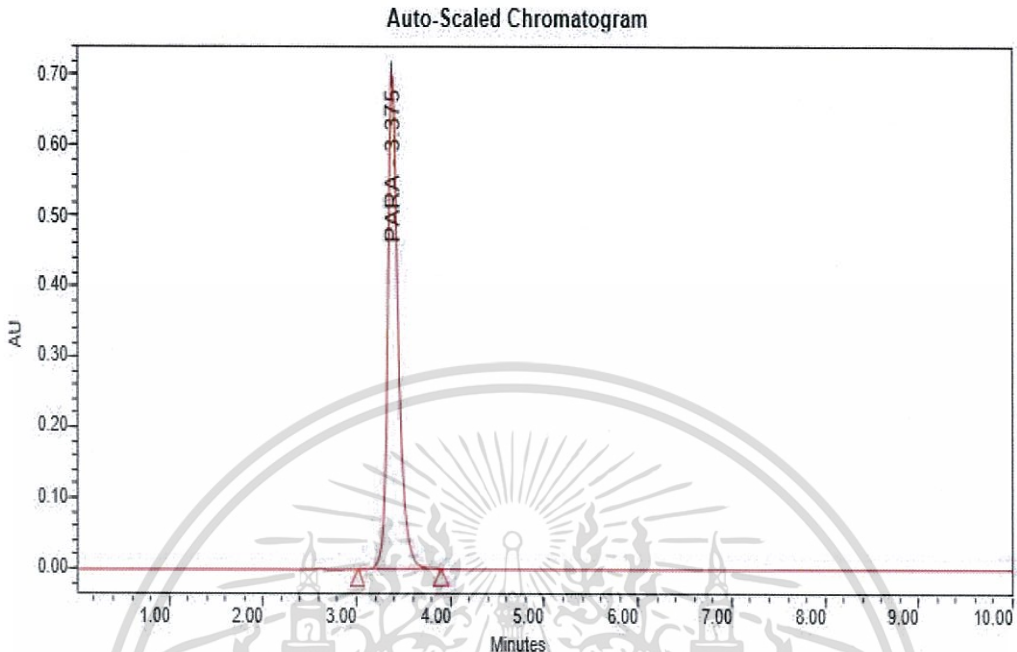
ดังนั้นจึงอาจสรุปได้ว่า การใช้เฟสเคลื่อนที่ อะซิโตรไนไตรล์: เมทานอล: น้ำ ในการตรวจวัดพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีนมาลิเอทนั้นอาจนำมาใช้ได้ แต่การตรวจวัดภายใต้ค่า pH เท่ากับ 2.5 นั้นอาจไม่เหมาะสมในการทดลองเพราะสัญญาณที่ได้จากการตรวจวัดนั้นเกิดการขยับและยังทำให้การตรวจวัดมีผลที่ผิดเพี้ยนไปได้

4.2.3 อะซิโตรไนไตรล์: เมทานอล: น้ำ (pH 3.5)

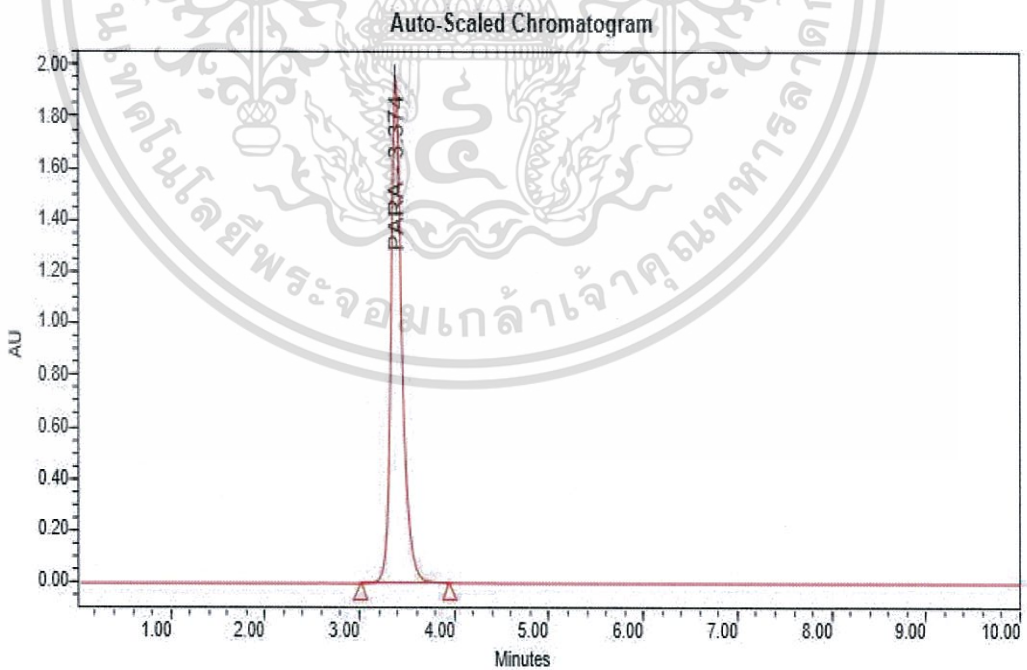
เมื่อนำสารมาตรฐานพาราเซตามอลที่มีความเข้มข้นต่างกัน คือ 0.2, 0.6 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนมาลิเอทที่มีความเข้มข้นของสารละลายเป็น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ สารมาตรฐานผสมระหว่างพาราเซตามอลความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและคลอเฟนิรามีนมาลิเอทความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ สารละลายตัวอย่างยาแก้หวัด ในที่นี้ใช้ยาแก้หวัด 1 เม็ด ให้ความเข้มข้นของพาราเซตามอล 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ คลอเฟนิรามีนมาลิเอท 0.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ตามฉลากระบุความเข้มข้นของพาราเซตามอล 300 มิลลิกรัม และ คลอเฟนิรามีนมาลิเอท 4 มิลลิกรัม ต่อเม็ดยา 1 เม็ด) มาทำการตรวจวัดด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High-performance liquid chromatography : HPLC) พบว่า สารมาตรฐานพาราเซตามอลที่มีความเข้มข้น 0.2, 0.6 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นั้นล้วนให้สัญญาณโครมาโทแกรมที่มีเวลาในการแยกช่วงใกล้เคียงกัน ได้แก่ นาทีที่ 3.375, 3.374 และ 3.376 ตามลำดับ (ดังแสดงในรูปที่ 4.12 (ก), (ข) และ (ค) ตามลำดับ) และนำค่าพื้นที่ใต้พีคที่ได้จากการทดลองมาสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานพาราเซตามอล ได้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเท่ากับ 0.9932 ดังแสดงในรูปที่ 4.13

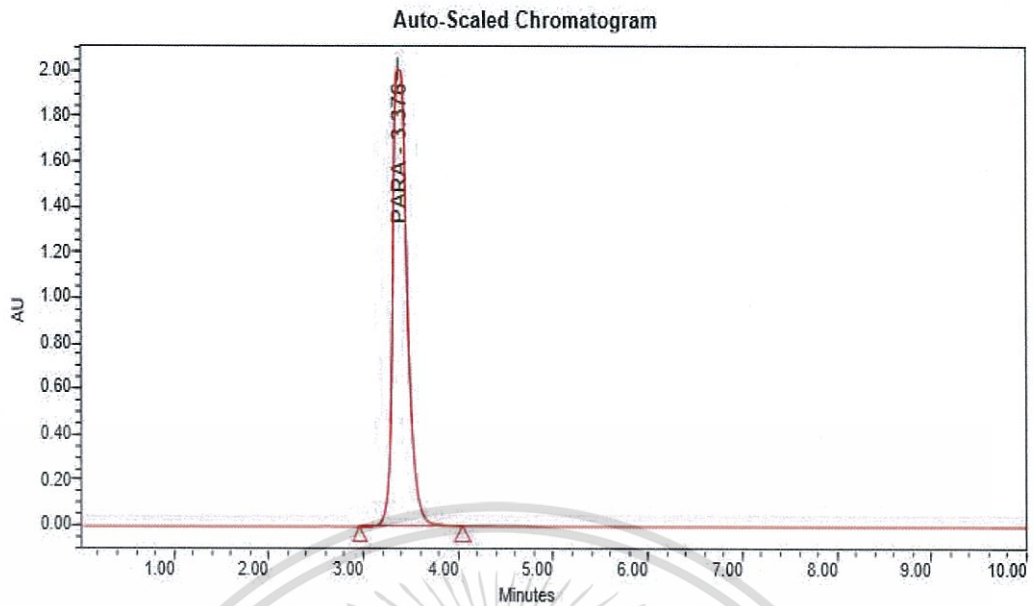


รูปที่ 4.12 (ก) โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานพาราเซตามอลความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร

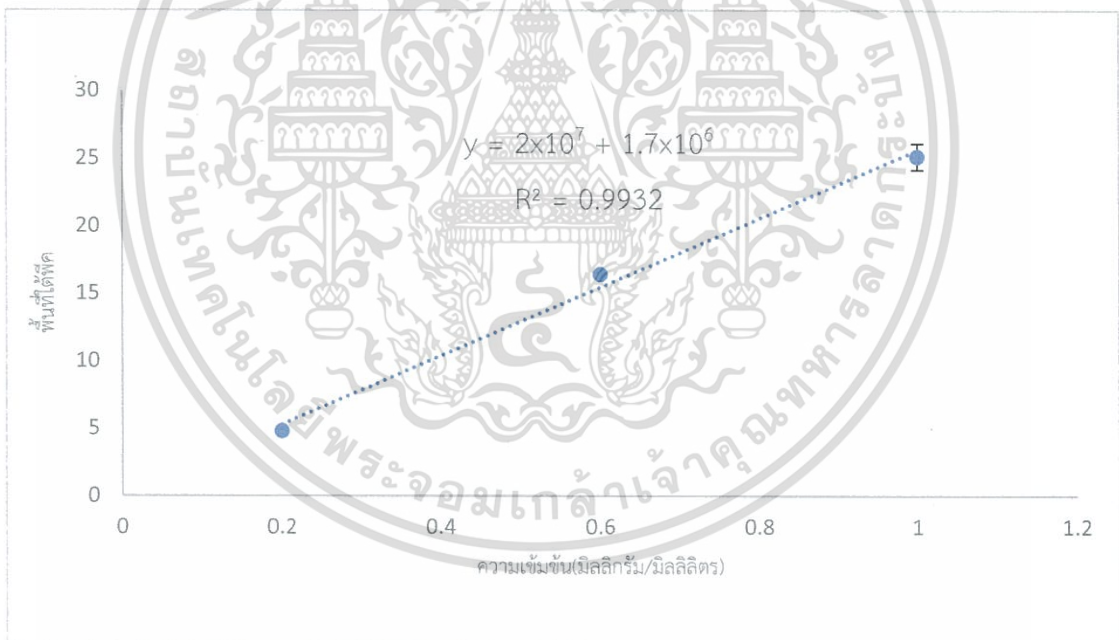


รูปที่ 4.12 (ข) โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานพาราเซตามอลความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



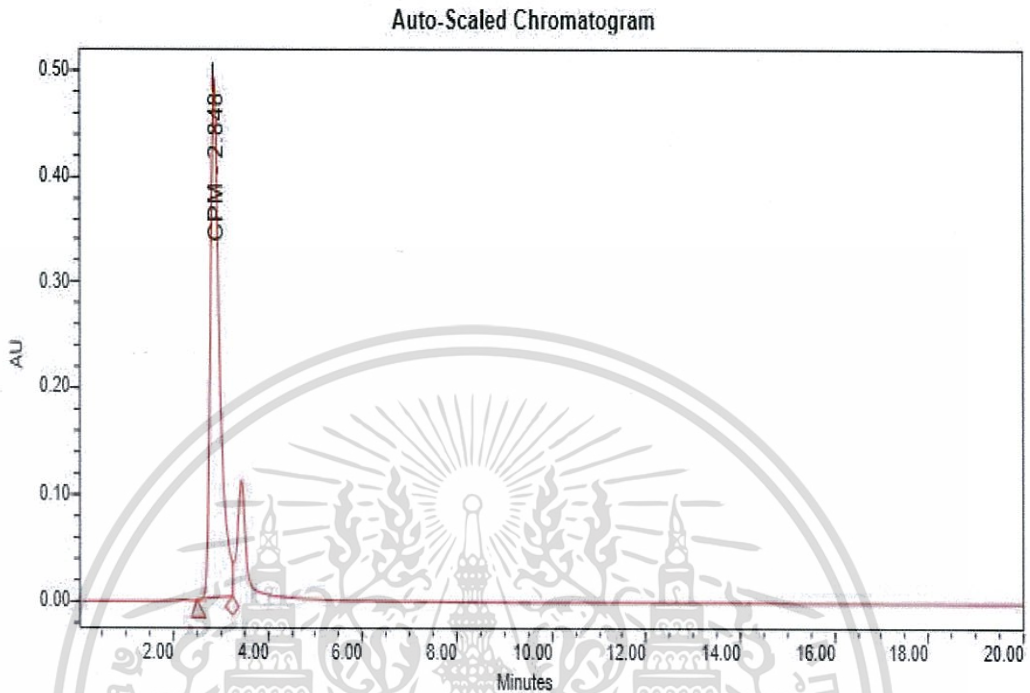
รูปที่ 4.12 (ค) โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานพาราเซตามอลความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร



รูปที่ 4.13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคและความเข้มข้นของสารมาตรฐาน พาราเซตามอลที่ความเข้มข้นต่างๆ (ค่าเฉลี่ย)

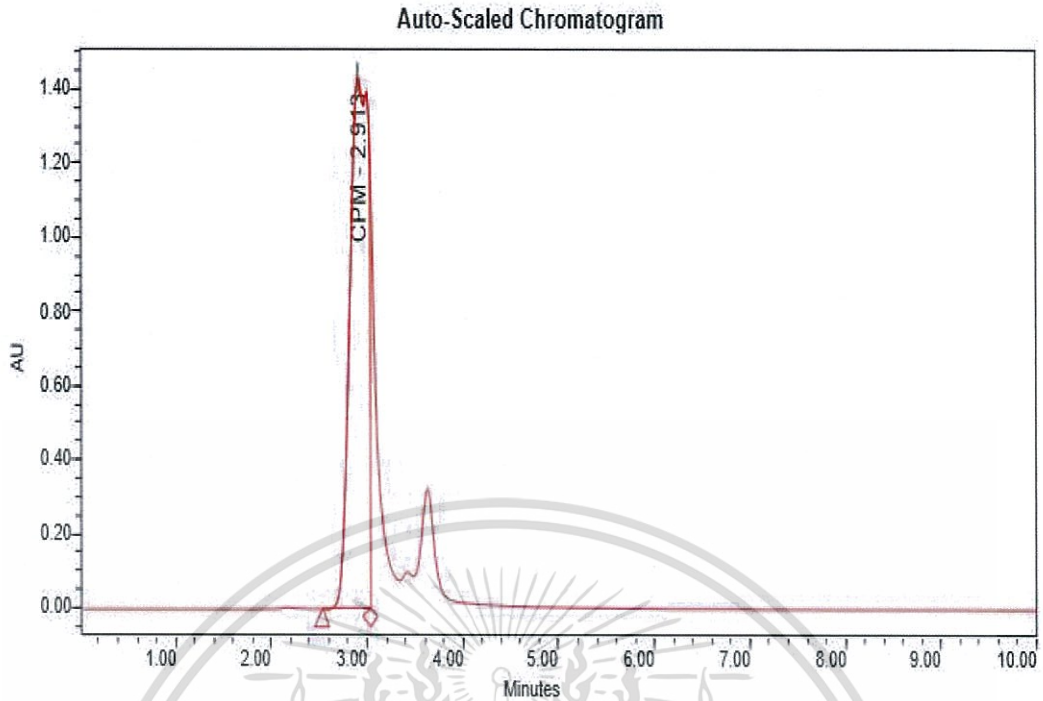
ส่วนการผลของการตรวจวัดสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนมาลิเอทที่ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นั้นก็ให้เวลาในการแยกในช่วงที่ใกล้เคียงกัน และไม่มีการขยับของสัญญาณ เหมือนกับผลการทดลองที่ได้จากครั้งก่อนหน้าอีกด้วย โดยเวลาในการแยกของคลอเฟนิรามีนมาลิเอท นั้น ได้แก่ นาทีที่ 2.848, 2.913 และ 2.967 ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.14 (ก), (ข) และ (ค) เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามลำดับ และนำค่าพื้นที่ใต้พีคที่ได้พีคที่ได้จากการทดลองมาสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคและความเข้มข้นของสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนมาลิเอท ได้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสนใจเท่ากับ 0.9917 ดังแสดงในรูปที่ 4.15

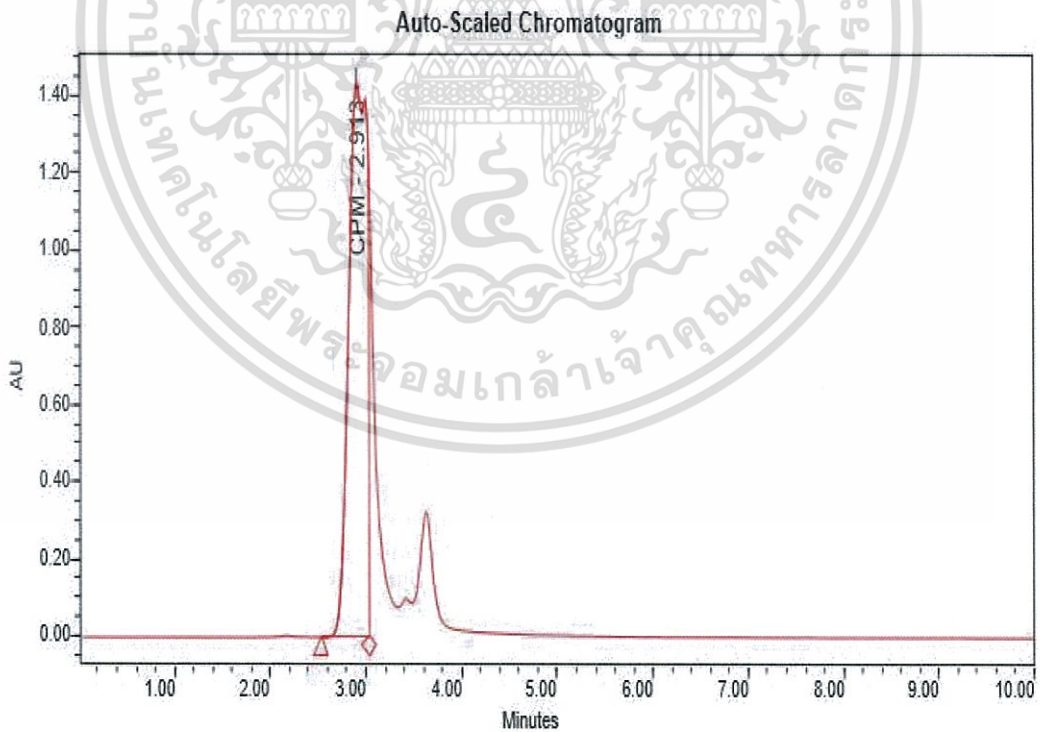


รูปที่ 4.14 (ก) โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนมาลิเอทความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

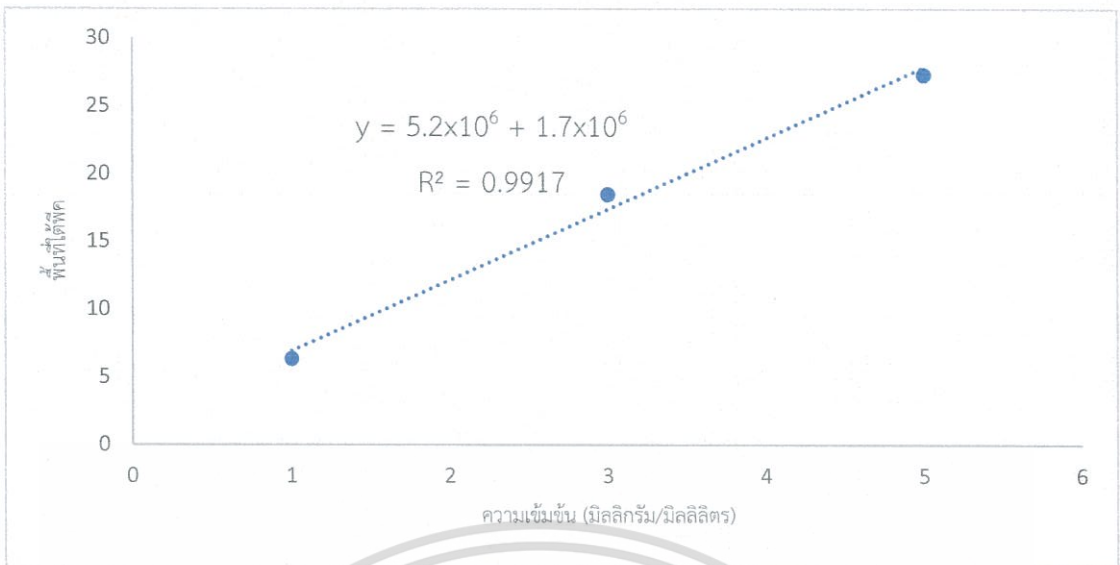


รูปที่ 4.14 (ข) โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนมาลิเอทความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



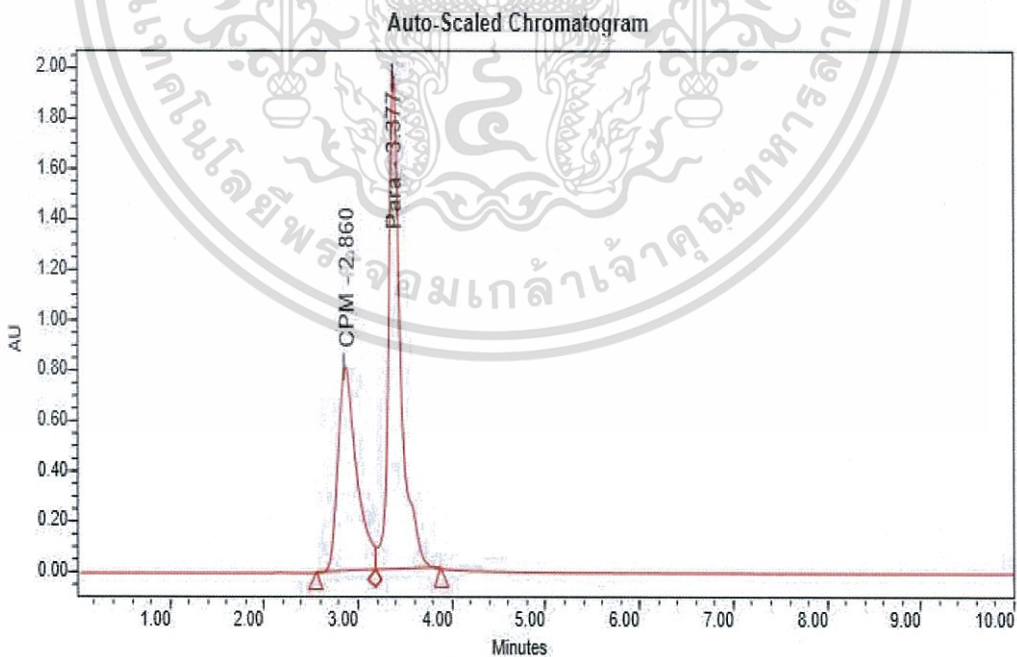
รูปที่ 4.14 (ค) โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนมาลิเอทความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน คลอเฟนิรามีนมาลิเอทที่ความเข้มข้นต่างๆ (ค่าเฉลี่ย)

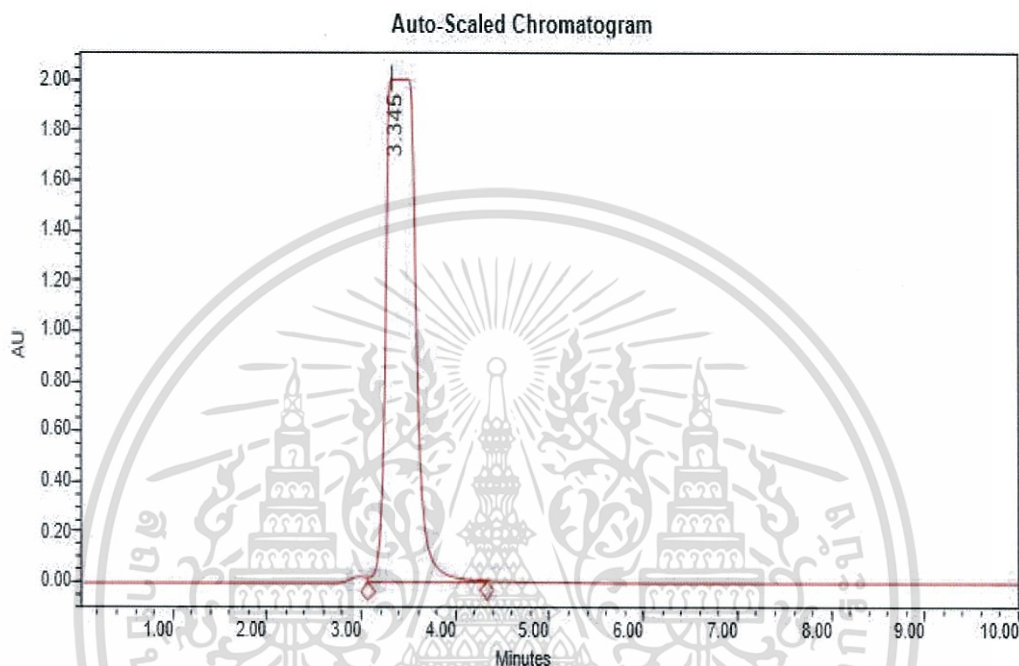
ผลของการตรวจวัดสารมาตรฐานผสมระหว่างพาราเซตามอลความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร และคลอเฟนิรามีนมาลิเอทความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ผลการตรวจวัดที่ดี โครมาโทแกรมของสารนั้นแยกพีคจากกันชัดเจน เวลาในการแยกของคลอเฟนิรามีนและ พาราเซตามอลเป็น 2.860 และ 3.377 นาที ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.16



รูปที่ 4.16 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานผสม (ความเข้มข้นของพาราเซตามอล 0.5 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร และคลอเฟนิรามีนมาลิเอท 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของการตรวจวัดสารตัวอย่างยาแก้หวัด 1 เม็ด (ความเข้มข้นของพาราเซตามอล 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และคลอเฟนิรามีนมาลิเอท 0.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) พบว่าเวลาในการแยกคลอเฟนิรามีนเท่ากับ 2.913 นาที และ พาราเซตามอล 3.345 นาที แต่สัญญาณจากการตรวจวัดที่ได้ นั้นพีคของคลอเฟนิรามีนมาลิเอทและพาราเซตามอลนั้นกลับรวมกันอยู่ พีคที่ได้ไม่แยกออกจากกัน (ดังแสดงในรูปที่ 4.17)



รูปที่ 4.17 โครมาโทแกรมของสารตัวอย่างยาแก้หวัด 1 เม็ด (ความเข้มข้นของพาราเซตามอล 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ คลอเฟนิรามีนมาลิเอท 0.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

นำค่าพื้นที่ใต้พีคของพาราเซตามอลจากโครมาโทแกรมของตัวอย่างยา 1 เม็ด มาคำนวณหาความเข้มข้นของพาราเซตามอลเพื่อเทียบกับปริมาณที่ฉลากยาระบุ โดยแทนค่าในสมการเส้นตรงจากกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคและความเข้มข้นของพาราเซตามอล ซึ่งได้สมการเป็น $y = (5.1375 \times 10^6)X + 1.6451 \times 10^6$ จะได้ความเข้มข้นของพาราเซตามอลในตัวอย่างยา 1 เม็ด เท่ากับ 202.2725 มิลลิกรัม

และจากผลการทดลองโดยใช้เฟสเคลื่อนที่ผสมที่ pH 2.5 และ 3.5 จะพบว่าลำดับการถูกชะของสารที่แตกต่างกัน โดยที่ pH 2.5 พาราเซตามอลจะถูกชะออกมาเป็นลำดับแรก และคลอเฟนิรามีนเป็นลำดับที่สอง แต่เมื่อทดลองด้วยเฟสเคลื่อนที่ผสม pH 3.5 คลอเฟนิรามีนกลับถูกชะออกจากคอลัมน์มาเป็นลำดับแรก และพาราเซตามอลในลำดับที่สอง เป็นผลมาจากค่า pH ของเฟสเคลื่อนที่และค่า pKa ของสารทั้ง 2 ชนิด สำหรับสารที่สามารถแตกตัวเป็นไอออนได้นั้น เมื่อทำการปรับค่า pH ของเฟสเคลื่อนที่ขณะทำการทดลองด้วยเทคนิค HPLC ให้ค่า pH ของเฟสเคลื่อนที่มีค่าใกล้เคียงกับค่า pKa ของสาร ในกรณีที่ค่า pH ของเฟสเคลื่อนที่มีค่าต่ำกว่าค่า pKa ของสารจะทำให้

สารแตกตัวเป็นไอออนได้ และเมื่อปรับให้ค่า pH เข้าใกล้ค่า pKa ของสารมากขึ้นก็จะทำให้สารสามารถแตกตัวเป็นไอออนได้ดีขึ้น และสารที่แตกตัวเป็นไอออนจะมีความเป็นขั้วที่เพิ่มมากขึ้น ทำให้ลำดับและเวลาที่สารถูกชะออกจากคอลัมน์เปลี่ยนแปลงไป ในทางกลับกัน หากเฟสเคลื่อนที่มีค่า pH มากกว่าค่า pKa ของสาร สารจะไม่สารแตกตัวเป็นไอออนได้ และยังทำให้สารอยู่ในสภาวะไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) ซึ่งจะมีความเป็นขั้วที่ลดลง และจะใช้เวลาการแยกอยู่ในคอลัมน์นานขึ้น โดยพาราเซตามอลมีค่า pKa เท่ากับ 9.5 และคลอเฟนิรามีน เท่ากับ 9.1 ดังนั้นจากผลการทดลอง เมื่อเพิ่ม pH ของเฟสเคลื่อนที่ให้ใกล้เคียงกับค่า pKa ของสารมากขึ้น สารจึงสามารถแตกตัวเป็นไอออนได้ดีขึ้น มีความเป็นขั้วมากขึ้น จึงถูกชะออกจากคอลัมน์ได้เร็วขึ้น และค่า pKa ของคลอเฟนิรามีนมีค่าต่ำกว่าพาราเซตามอล เมื่อเพิ่มค่า pH ของเฟสเคลื่อนที่ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับค่า pKa ของคลอเฟนิรามีนมากกว่า ดังนั้น คลอเฟนิรามีนจึงสามารถแตกตัวได้ดี มีความเป็นขั้วเพิ่มมากขึ้นและถูกชะออกจากคอลัมน์เป็นลำดับแรกก่อนพาราเซตามอล แต่พาราเซตามอลก็แตกตัวเป็นไอออนเช่นเดียวกัน มีความเป็นขั้วเพิ่มขึ้น เวลาในการถูกชะของสารก็ลดลงด้วย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในงานวิจัยนี้ได้ใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High performance liquid chromatography :HPLC) ในการตรวจหาปริมาณพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีนในตัวอย่างยาแก้ปวดที่สภาวะการทดลองเป็นดังนี้คือ ความยาวคอลัมน์ 150 มิลลิเมตร, ชนิดคอลัมน์ C18, อัตราการไหล 0.7 มิลลิลิตรต่อนาที และความยาวคลื่นที่ใช้ตรวจวัด 254 นาโนเมตร โดยในการทดลองได้ใช้เฟสเคลื่อนที่ชนิดเมทานอล 100 % และอะซิโตไนไตรล์ : เมทานอล : น้ำ ในอัตราส่วน 16 : 22 : 62 ตามลำดับที่ค่า pH 2.5 และ pH 3.5 พบว่าเฟสเคลื่อนที่ชนิดเมทานอลสามารถเกิดการแยกได้เฉพาะพาราเซตามอล ไม่สามารถแยกพีคของคลอเฟนิรามีนได้ ส่วนเฟสเคลื่อนที่ชนิด อะซิโตไนไตรล์ : เมทานอล : น้ำ ที่ค่า pH 2.5 สามารถแยกพีคพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีนได้ แต่พีคของคลอเฟนิรามีนมีรีเทนชันไทม์คลาดเคลื่อน เนื่องจาก ค่า pH ที่ไม่เหมาะสมกับคอลัมน์จึงทำการปรับเปลี่ยนค่า pH เป็น 3.5 พบว่าสามารถเกิดการแยกของพีคของคลอเฟนิรามีน และพาราเซตามอลได้ ซึ่งพีคของคลอเฟนิรามีนจะปรากฏที่นาที่ที่ 2.913 และพีคของพาราเซตามอลจะปรากฏที่นาที่ที่ 3.345 ตามลำดับ กล่าวได้ว่าที่สภาวะการทดลองนี้มีแนวโน้มที่จะสามารถวิเคราะห์หาปริมาณพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีนในตัวอย่างยาแก้ปวดได้ โดยสามารถคำนวณหาความเข้มข้นของพาราเซตามอลในตัวอย่างยาแก้ปวดได้เท่ากับ 202.27 มิลลิกรัม อย่างไรก็ตาม ยังไม่สามารถคำนวณความเข้มข้นสำหรับการหาปริมาณคลอเฟนิรามีนได้ เนื่องจากลักษณะของโครมาโทแกรมที่ได้ไม่สามารถหาพื้นที่ใต้พีคของคลอเฟนิรามีนได้ ซึ่งจะทำให้การศึกษาเพิ่มเติมในลำดับต่อไป

ค่า pH ของเฟสเคลื่อนที่และค่า pKa ของสารมีผลต่อการแยก ซึ่งค่า pH ของเฟสเคลื่อนที่คือ 3.5 และค่า pKa ของคลอเฟนิรามีนคือ 9.1 ดังนั้นจากผลการทดลอง เมื่อเพิ่ม pH ของเฟสเคลื่อนที่ให้ใกล้เคียงกับค่า pKa ของสารมากขึ้น สารจึงสามารถแตกตัวเป็นไอออนได้ดีขึ้น มีความเป็นขั้วมากขึ้น จึงถูกชะออกจากคอลัมน์ได้เร็วขึ้น และค่า pKa ของคลอเฟนิรามีนมีค่าต่ำกว่าพาราเซตามอล เมื่อเพิ่มค่า pH ของเฟสเคลื่อนที่จึงมีค่าใกล้เคียงกับค่า pKa ของคลอเฟนิรามีนมากกว่า ดังนั้น คลอเฟนิรามีนจึงสามารถแตกตัวได้ดี มีความเป็นขั้วเพิ่มมากขึ้นและถูกชะออกจากคอลัมน์เป็นลำดับแรกก่อนพาราเซตามอล แต่พาราเซตามอลก็แตกตัวเป็นไอออนเช่นเดียวกัน มีความเป็นขั้วเพิ่มขึ้น เวลาในการถูกชะของสารก็ลดลงด้วย

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในยาแก้หวัดมีปริมาณของพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีนที่แตกต่างกันมากทำให้ในการทดลองจะได้ผลที่ไม่ค่อยดีนัก ดังนั้นควรปรับสภาวะการทดลองที่เหมาะสมในการทดลอง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- [1] รศ.ดร.สุวรรณ ไชยสิทธิ์. วิชา05106731 ปฏิบัติการเทคนิคการแยกและเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า
- [2] รวีวรรณ ช่วยบำรุงและคณะ. หลักการเตรียมยาทั่วไป (สำหรับเจ้าพนักงานเภสัชกรรม).
- [3] <https://th.wikipedia.org/wiki/โครมาโทกราฟี4>
- [4] http://www.chemistry.sc.chula.ac.th/course_info/2302275/chapter9.pdf
- [5] www.science.mju.ac.th/chemistry/download/s_sangsrichan/04Ch210%2520Chromatography2557_2.pdf&gws_rd=cr&ei=3mEwV5qTKKW1mwXBm7qYBg
- [6] <http://e-book.ram.edu/e-book/c/CM334/CM334-4.pdf>
- [7] <http://laboratoryinfo.com/hplc/>
- [8] R. Chandra, K. Dutt Sharma . 2013. Quantitative Determination of Paracetamol and Caffeine from formulated tablets by Reversed Phase-HPLC separation technique. *International Journal of Chromatographic Science*. 3(2): 31-34.
- [9] M. Levent Altun. 2002. HPLC Method for the Analysis of Paracetamol, Caffeine and Dipyrone. *Turk J Chem*. 521-528.
- [10] V. Maslarska, J. Tencheva. 2013. Simultaneous Determination and Validation of Paracetamol and Codeine phosphate in pharmaceutical preparation by RP - HPLC. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Vol 5, Issue 2: 417-419.
- [11] T. Takagaki, M. Matsuda, Y. Mizuki, Y. Terauchi. 2002. Simple and Sensitive Method for the Determination of Chlorpheniramine maleate in human plasma using Liquid Chromatography – Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography B*. 776: 169-176.
- [12] M.R. Louhaichi, S. Jebali, M.H. Loueslati, N. Adhoum, L. Monser. 2009. Simultaneous Determination of Pseudoephedrine, Pheniramine, Guaifenesin, Pyrilamine, Chlorpheniramine and Dextromethorphan in cough and cold medicines by High Performance Liquid Chromatography. *Talanta*. 78: 991-997.
- [13] M. Maithani, R. Raturi, V. Guatam, D. Kumar, A. K. Chaudhary, A. Guarav and R. Singh. 2010. Development and Validation of RP-HPLC method for the determination of Chlorpheniramine maleate and Phenylephrine in pharmaceutical dosage form. *Pharmacie Globale International Journal of Comprehensive Pharmacy*. Vol.1, Issue5.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [14] A. Marín, E. García, C. Barbas. 2002. Validation of a HPLC quantification of Acetaminophen, Phenylephrine and Chlorpheniramine in pharmaceutical formulations; capsules and sachets. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 29: 701-714.
- [15] A.J. Vyas, N.A. Aggarwal, B.P. Nagori, J.K. Patel, C.R. Jobanpra, D.S. Viramgama. 2010. Simultaneous estimation of Nabumetone and Paracetamol by Vierodt's method in combined tablet dosage form. *International Journal of ChemTech Research*. 2: 543-547.
- [16] A.R. Khaskheli, J. Fischer, J. Barek, V. Vyskočil, Sirajuddin, M. Iqbal Bhangar. 2013. Differential pulse voltametric determination of Paracetamol in tablet and urine samples at a micro-crystalline natural graphite-polystyrene composite film modified electrode. *Electrochimica Acta*. 101:238-242.
- [17] B. C. Lourenção, R. A. Medeiros, R. C. Rocha-Filho, L. Henrique Mazo, O. Fatibello-Filho. 2009. Simultaneous voltammetric determination of Paracetamol and Caffeine in pharmaceutical formulations using a boron-doped diamond electrode. *Talanta*. 78:748-752.
- [18] S. Chitravathi, N. Munichandraiah. 2016. Voltammetric determination of Paracetamol, Tramadol and Caffeine using poly (Nile blue) modified glassy carbon electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 764:93-103.
- [19] M. Kazemipour and M. Ansari. 2005. Derivative Spectrophotometry for Simultaneous Analysis of Chlorpheniramine Maleate, Phenylephrine HCl, and Phenylpropanolamine HCl in Ternary Mixtures and Pharmaceutical Dosage forms. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 3:147-153.
- [20] Y. Dong, X. Chen, Y. Chen, X. Chen, Z. Hu. 2005. Separation and determination of pseudoephedrine, dextromethorphan, diphenhydramine and chlorpheniramine in cold medicines by nonaqueous capillary electrophoresis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 39: 285-289.
- [21] R. Sawant, R. Joshi, P. Lanke, AND L. Bhangle. 2011. Simultaneous Estimation and Validation of Paracetamol, Phenylephrine hydrochloride and Chlorpheniramine maleate in tablets by Spectrophotometric method. *Journal of Pharmaceutical Research and Health Care (JPRHC)*. volume3, Issue2: 23- 28.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [22] S. Rajurkar. 2001. Simultaneous Determination of Chlorpheniramine maleate, Paracetamol and Pseudoephedrine hydrochloride in pharmaceutical preparation by HPLC. *International Journal of Life science & Pharma Research*. 94-100.
- [23] A.P. Dewani, B.B. Barik, V.D. Chipade, R.L. Bakal, A.V. Chandewar, S.K. Kanungo. 2014. RP-HPLC-DAD method for the determination of phenylephrine, paracetamol, caffeine and chlorpheniramine in bulk and marketed formulation. *Arabian Journal of Chemistry*. 7: 811-816.
- [24] A. García, F.J. Rupérez, A. Marín, A. de la Maza, C. Barbas. 2003. Poly (ethyleneglycol) column for the determination of acetaminophen, phenylephrine and chlorpheniramine in pharmaceutical formulations. *Journal of Chromatography B*. 785: 237-243.
- [25] Hong-gang Lou, Hong Yuan, Zou-rong Ruan, Bo Jiang. 2010. Simultaneous determination of paracetamol, pseudoephedrine, dextrophan and chlorpheniramine in human plasma by liquid chromatography – tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*. 878: 682-688.
- [26] H. S. Appasaheb, K. P. Subhash, D. V. Atmaram, D. P. Shankar. 2013. Simultaneous Estimation and Validation of Paracetamol, Chlorpheniramine maleate and Phenylephrine hydrochloride in bulk and tablet dosage form by using Different Spectrophotometric method. *International Research Journal of Pharmacy*. 4(10):39-43



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ตารางที่ ก.1 ตารางแสดงผลการตรวจวัดสารมาตรฐานพาราเซตามอลและคลอเฟนิรามีนมาลิเอท ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นเมทานอลบริสุทธิ์

ชื่อสาร	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร)	พื้นที่ใต้พีค	รีเทนชันไทม์ (นาที)
สารมาตรฐาน พาราเซตามอล	1	5387823	3.71
	0.4	10241893	3.71
	0.2	27801498	3.71
สารตัวอย่าง คลอเฟนิรามีนมาลิเอท (ใช้แทนสารมาตรฐาน)	66.4676	-	-
	33.1514	-	-
	16.5519	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.2 ตารางแสดงผลการตรวจวัดสารมาตรฐานพาราเซตามอล, คลอเฟนิรามีนมาลิเอท, สารมาตรฐานผสม และตัวอย่างยาแก้หวัด 1 โดยใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นอะซิโตไนโตรล์ต่อเมทานอลต่อน้ำที่ pH 2.5

ชื่อสาร	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร)	พื้นที่ใต้พีค	รีเทนชันไทม์ (นาที)
สารมาตรฐานพาราเซ- ตามอล	1	28793414.5	4.795
	0.6	16465202	4.805
	0.2	4783963.5	4.799
สารมาตรฐานคลอเฟ- นิรามีนมาลิเอท	5	5421171	13.928
	3	14482789	15.380
	1	30009396	17.584
สารมาตรฐานผสม พาราเซตามอล และ คลอเฟนิรามีนมาลิเอท	0.5	14834079.5	4.950
	2.5	6718578.5	15.561
สารตัวอย่าง ยาแก้หวัด 1 เม็ด (พาราเซตามอล และ คลอเฟนิรามีน)	20	58003224	4.721
	0.08	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

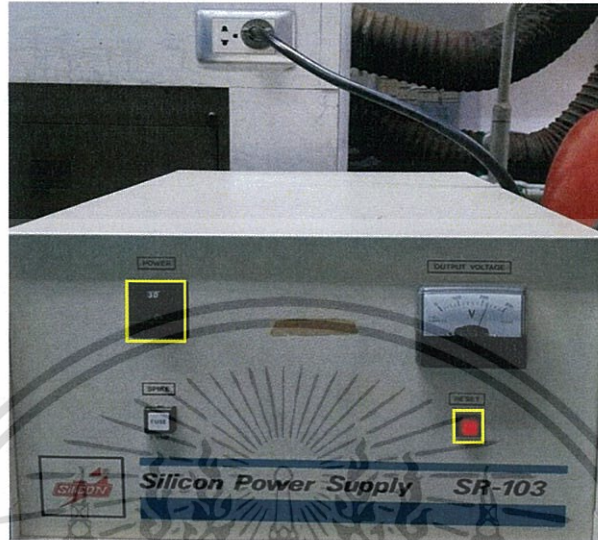
ตารางที่ ก.3 ตารางแสดงผลการตรวจวัดสารมาตรฐานพาราเซตามอล, คลอเฟนิรามีนมาลิเอท, สารมาตรฐานผสม และตัวอย่างยาแก้หวัด 1 โดยใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นอะซิโตนไทรลอร์ต่อเมทานอลต่อน้ำ ที่ pH 3.5

ชื่อสาร	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร)	พื้นที่ใต้พีค	รีเทนชันไทม์ (นาที)
สารมาตรฐานพาราเซตามอล	1	21462476	3.375
	0.6	15628344	3.374
	0.2	5086979	3.375
สารมาตรฐานคลอเฟนิรามีนมาลิเอท	5	27153485	2.967
	3	17416002	2.913
	1	6603398	2.848
สารมาตรฐานผสม พาราเซตามอล และ คลอเฟนิรามีนมาลิเอท	0.5	17707523	3.377
	2.5	11372973	2.860
สารตัวอย่าง ยาแก้หวัด 1 เม็ด (พาราเซตามอล และ คลอเฟนิรามีน)	20	43211985	3.345
	0.08	-	2.913

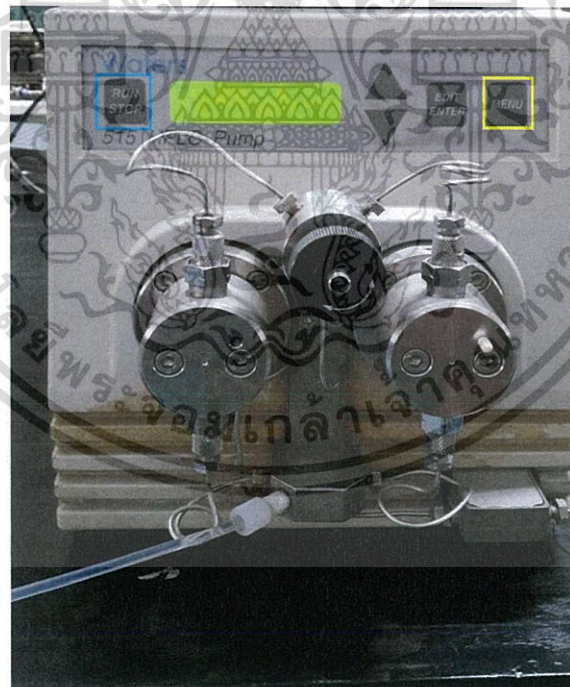
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

วิธีการใช้เครื่อง HPLC



รูปที่ ข.1 เสียบปลั๊ก => เปิดสวิตช์(ON) => กดปุ่ม RESET

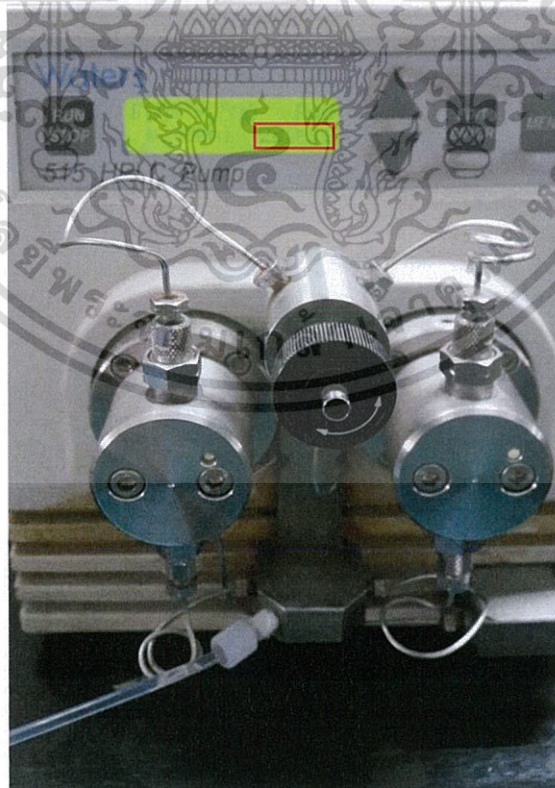


รูปที่ ข.2 เปิดสวิตช์ HPLC Pump (ด้านข้าง) => กดปุ่ม RUN

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

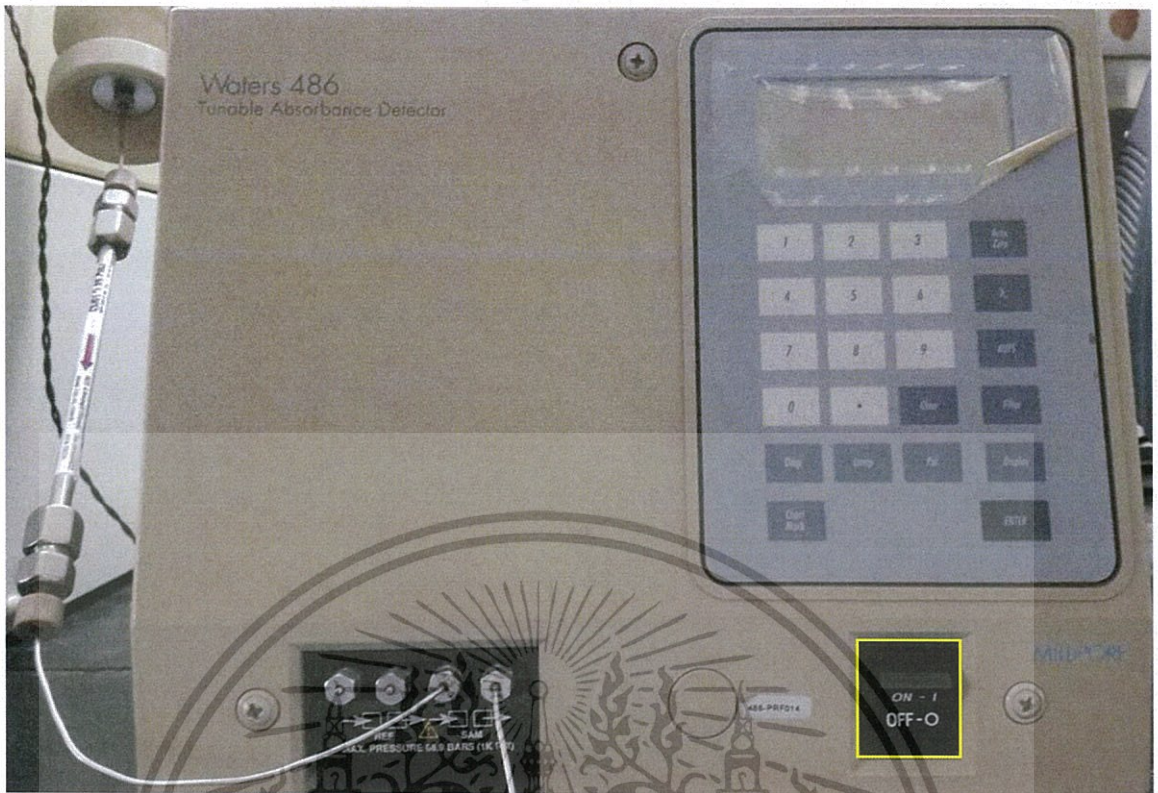


รูปที่ ข.3 ปรับอัตราการ FLOW => กด Edit => เพิ่มค่า FLOW กด => กดปุ่ม Menu



รูปที่ ข.4 ปรับอัตราการ FLOW ถึงค่าที่ต้องการ => รอค่าความดันคงที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.5 เปิดสวิตซ์ Tunable Absorbance Detector (ON)

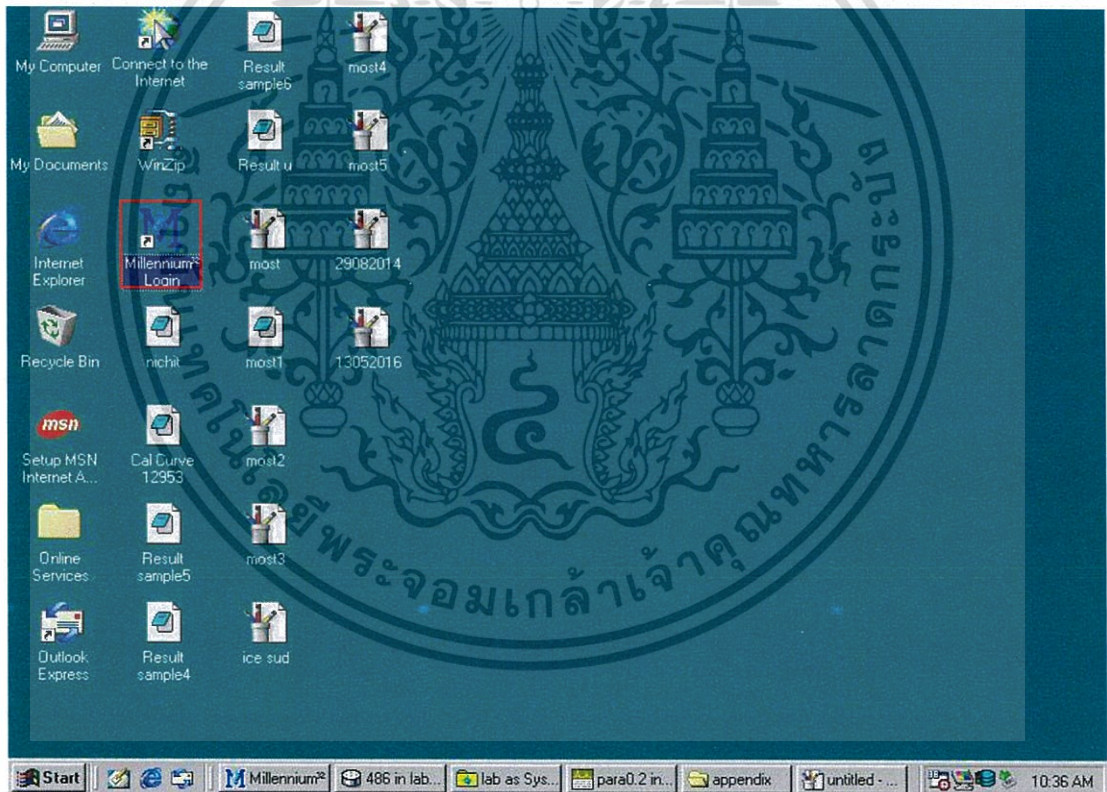


รูปที่ ข.6 รอ Tunable Absorbance Detector จนแสดงค่าดังรูป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

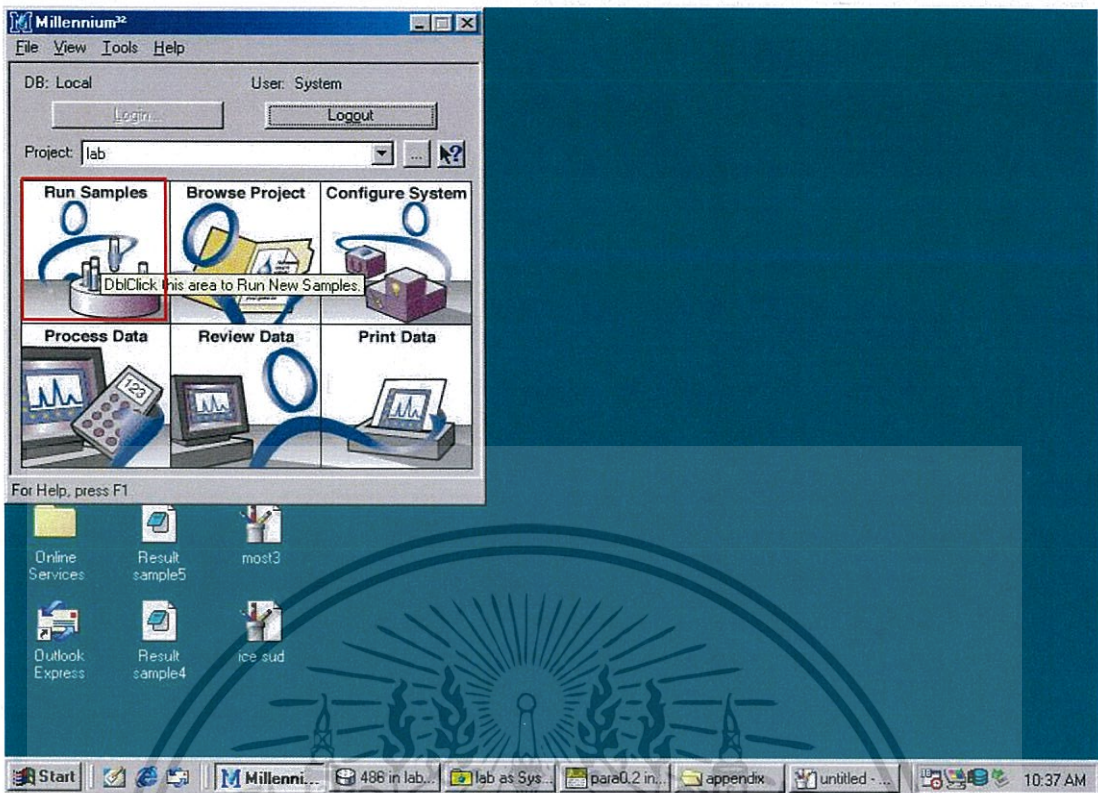


รูปที่ ข.7 เปิดเครื่องคอมพิวเตอร์

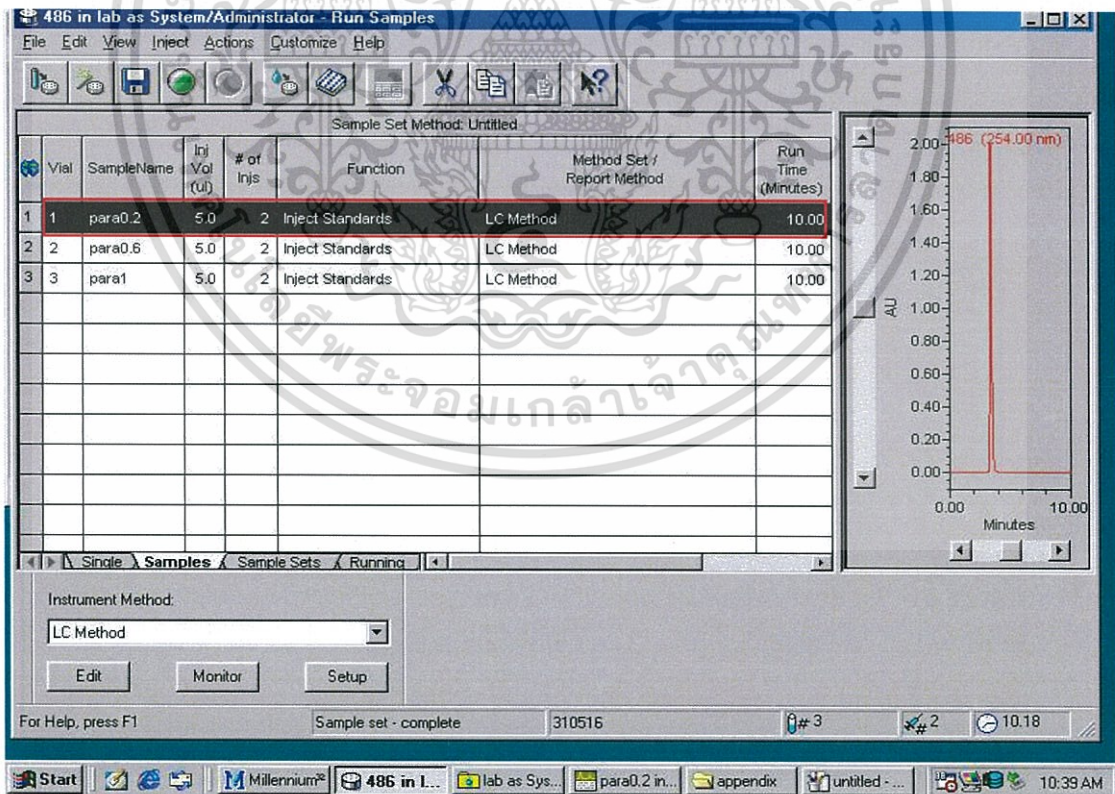


รูปที่ ข.8 เปิดโปรแกรม Millennium³² Login

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

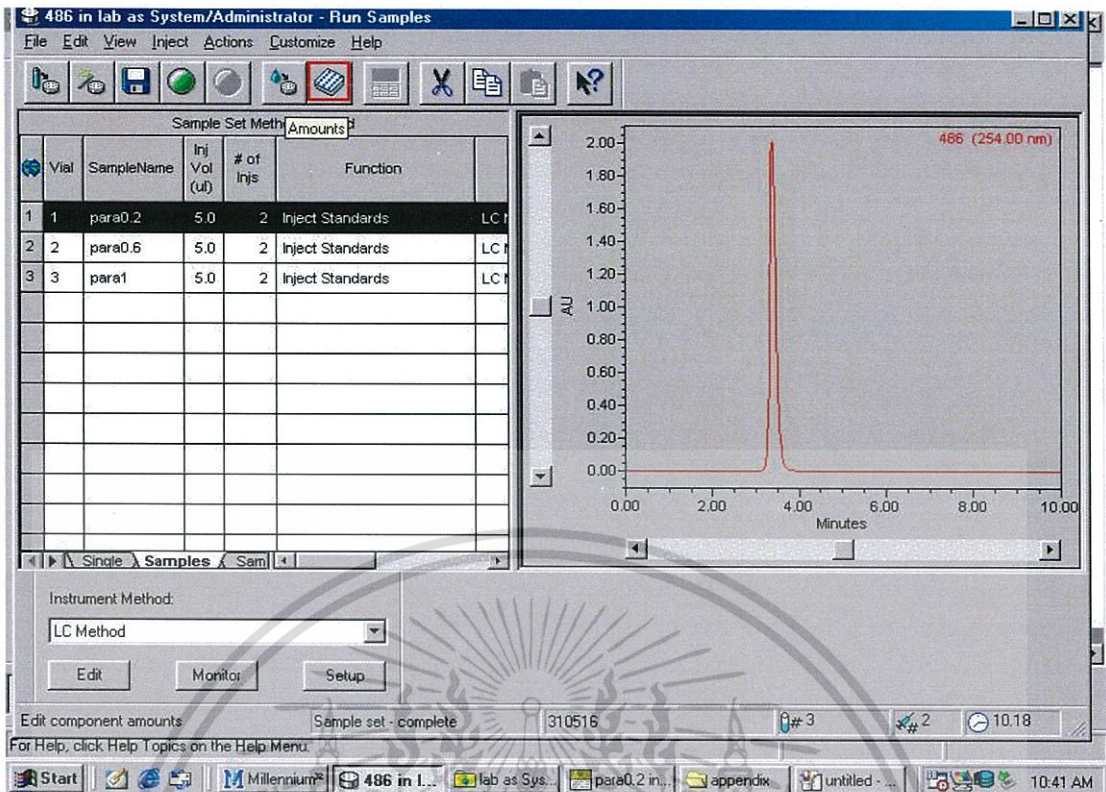


รูปที่ ข.9 กดดับเบิลคลิก เมนู Run Samples

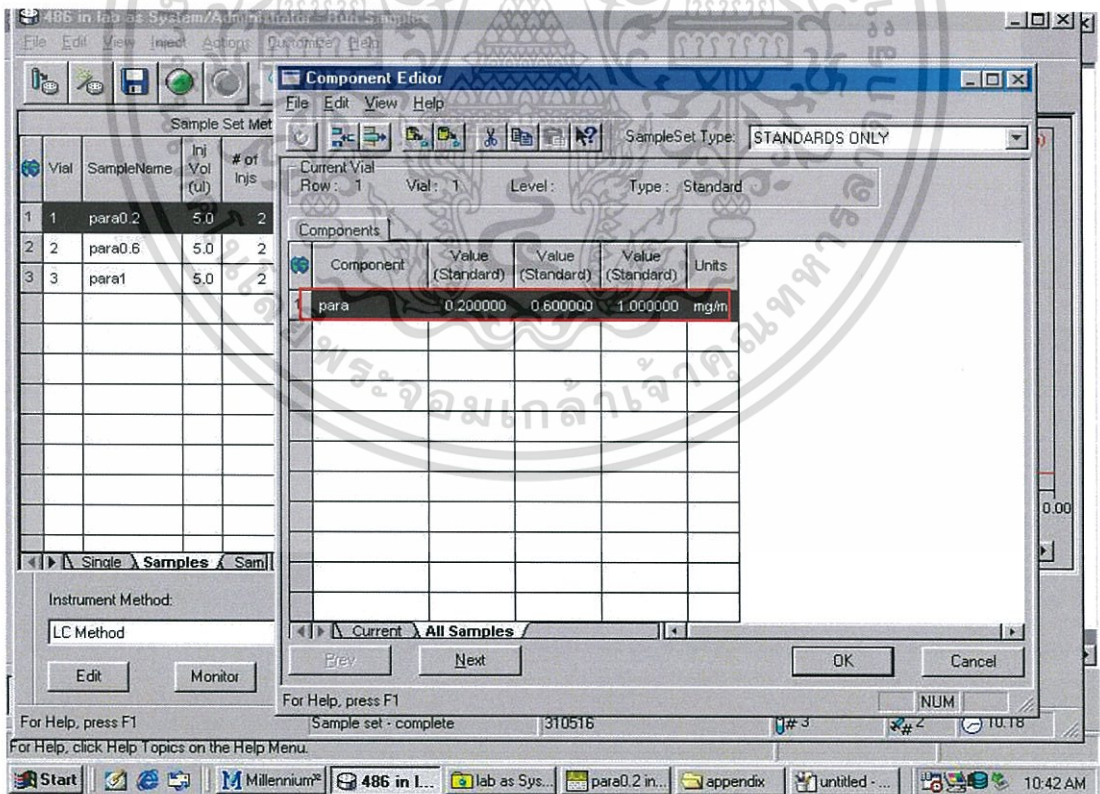


รูปที่ ข.10 ตั้งค่า ชื่อสาร จำนวนสารที่ฉีด ทำการฉีดกี่ครั้ง ฟังก์ชันที่ใช้ วิธีที่ใช้ เวลาในการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

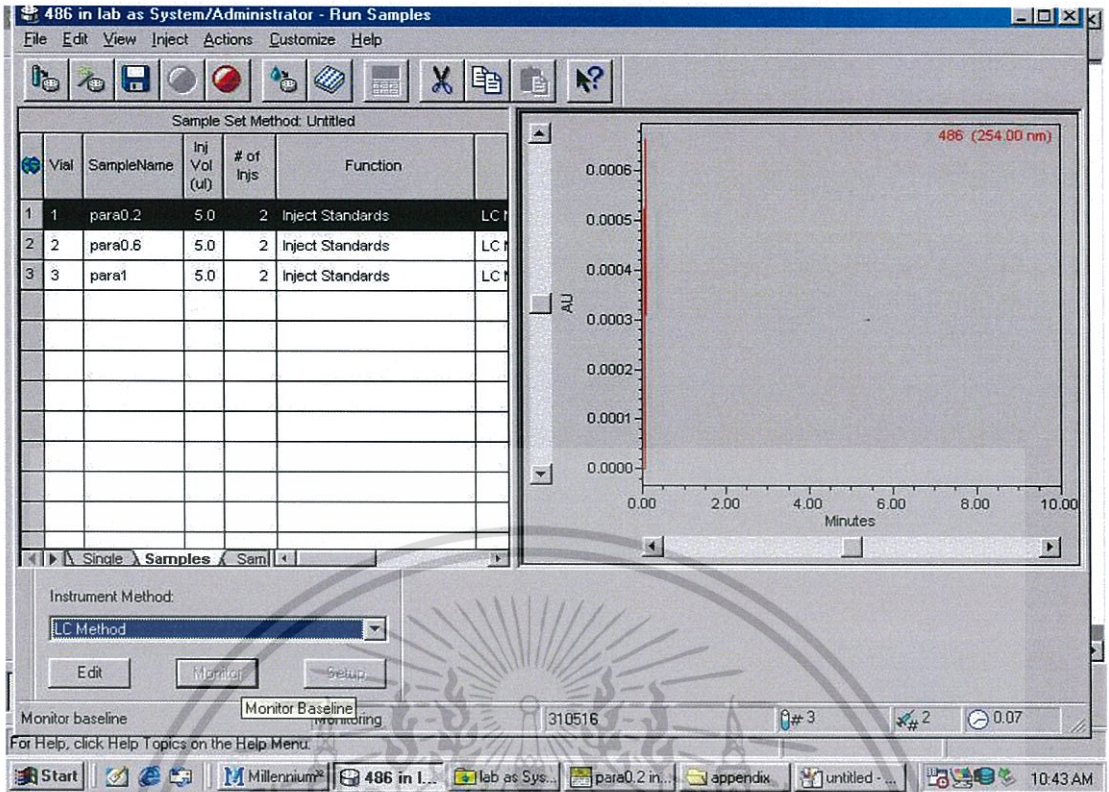


รูปที่ ข.11 กดเมนู Amounts

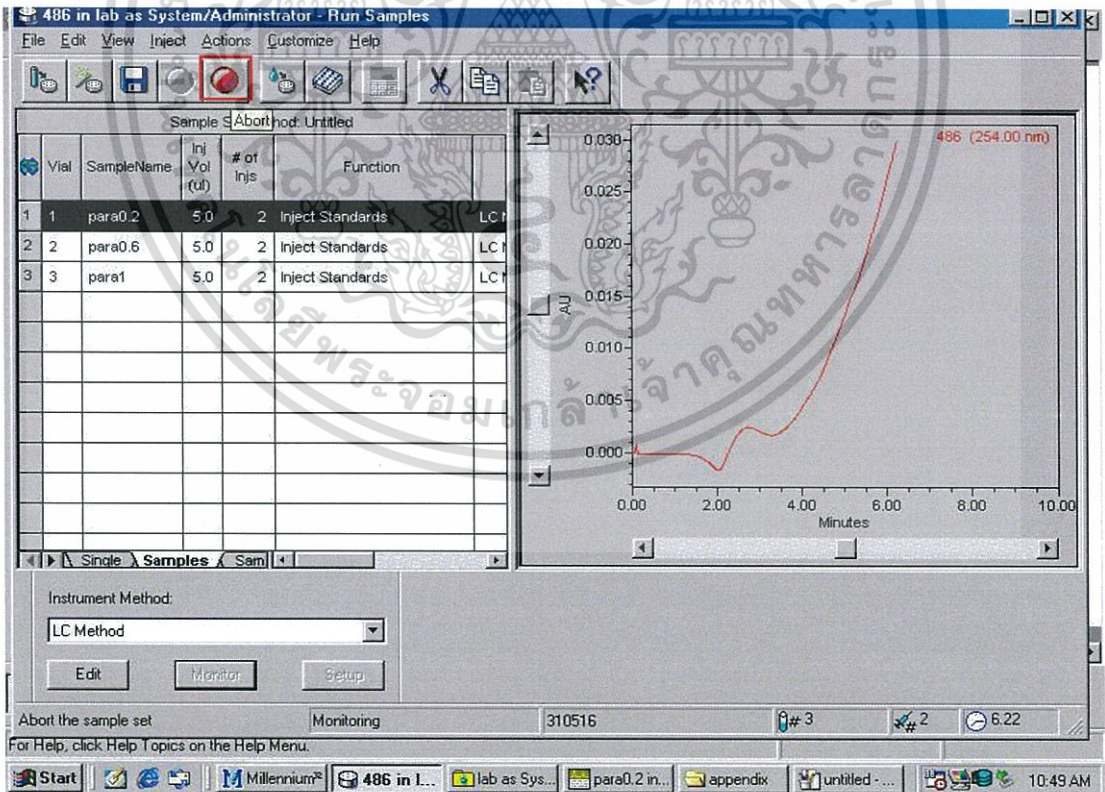


รูปที่ ข.12 ตั้งค่าความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานที่ทำการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

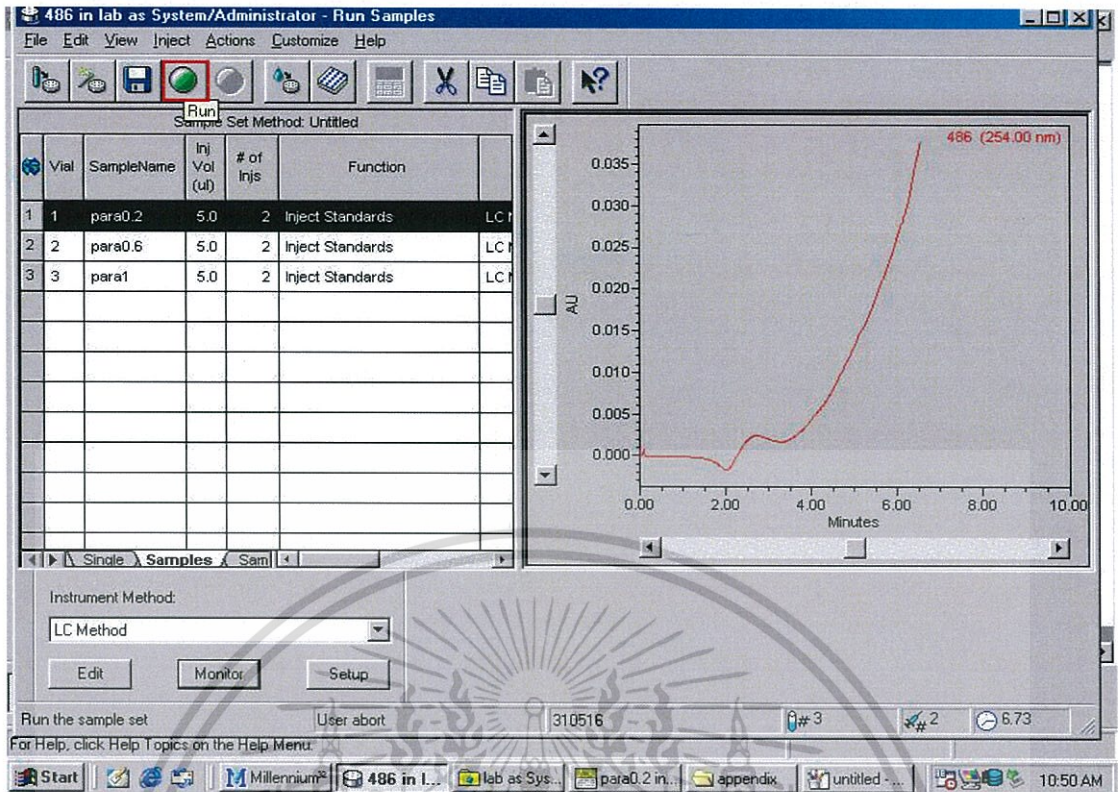


รูปที่ ข.13 Instrument Method => เลือก LC Method => กด Monitor Baseline

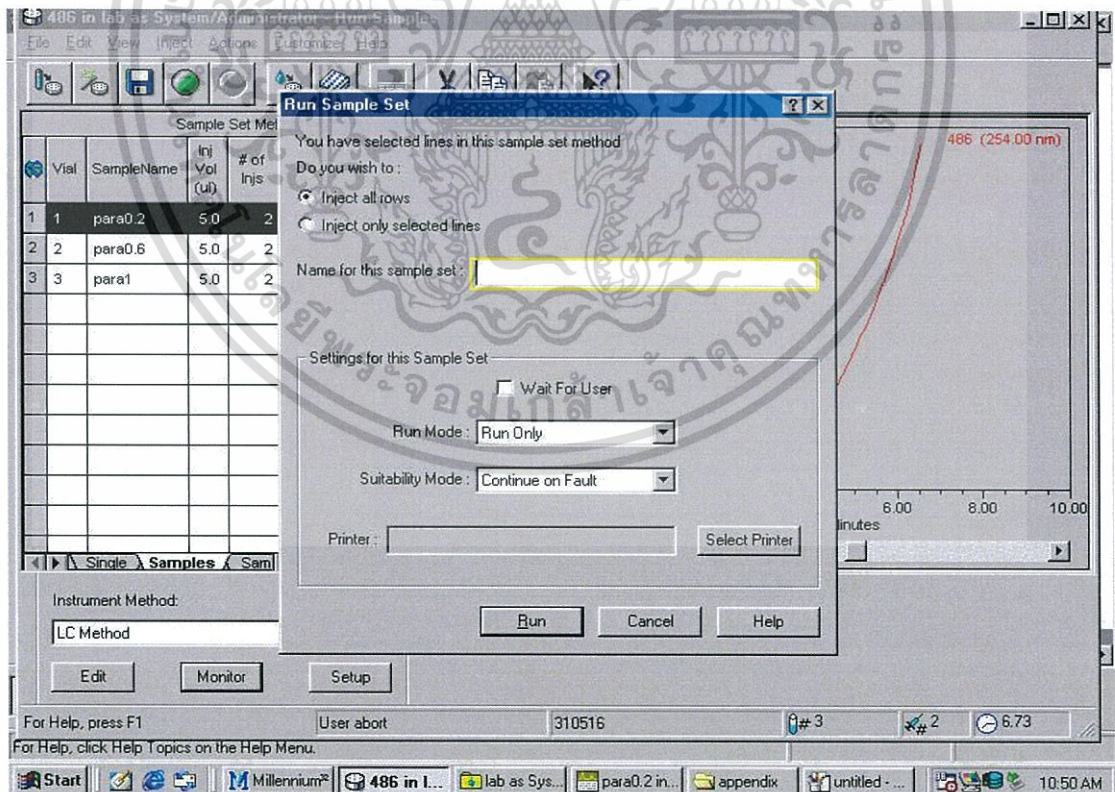


รูปที่ ข.14 รอนพีคของเฟสเคลื่อนที่คงที่ กดเมนู Abort

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

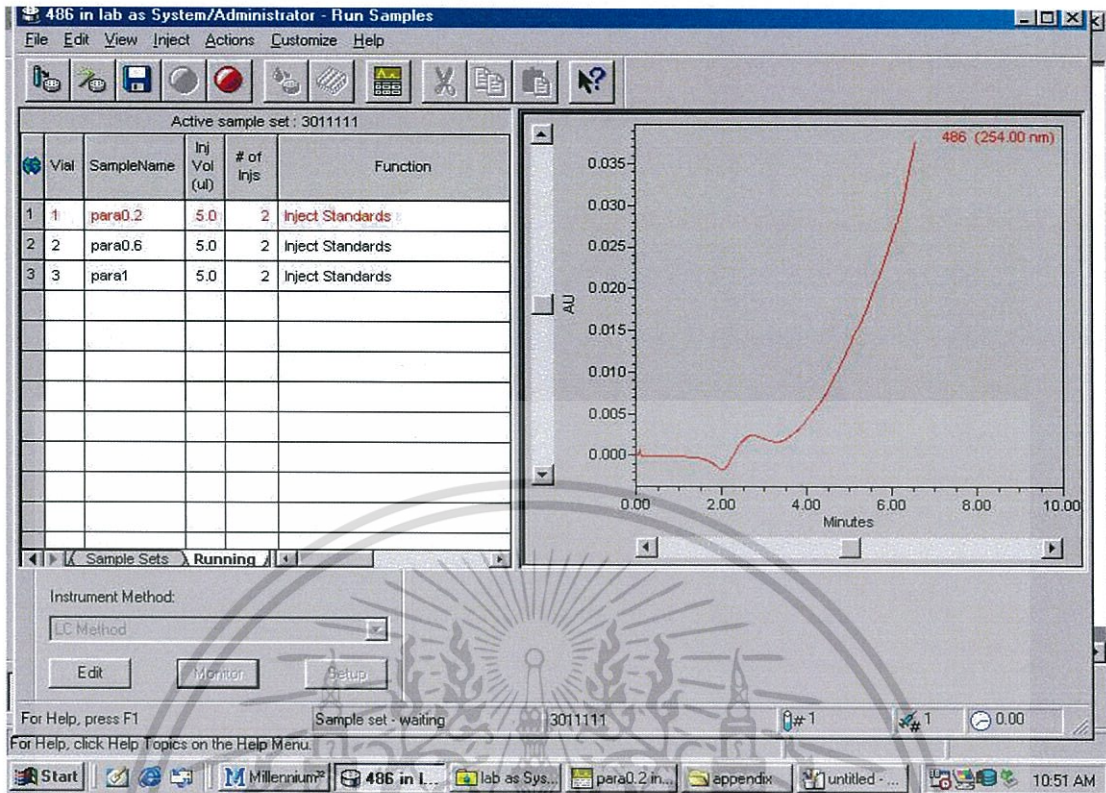


รูปที่ ข.15 กดเมนู Run



รูปที่ ข.16 ตั้งชื่อ สารตัวอย่าง เสร็จแล้ว กดเมนู Run

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

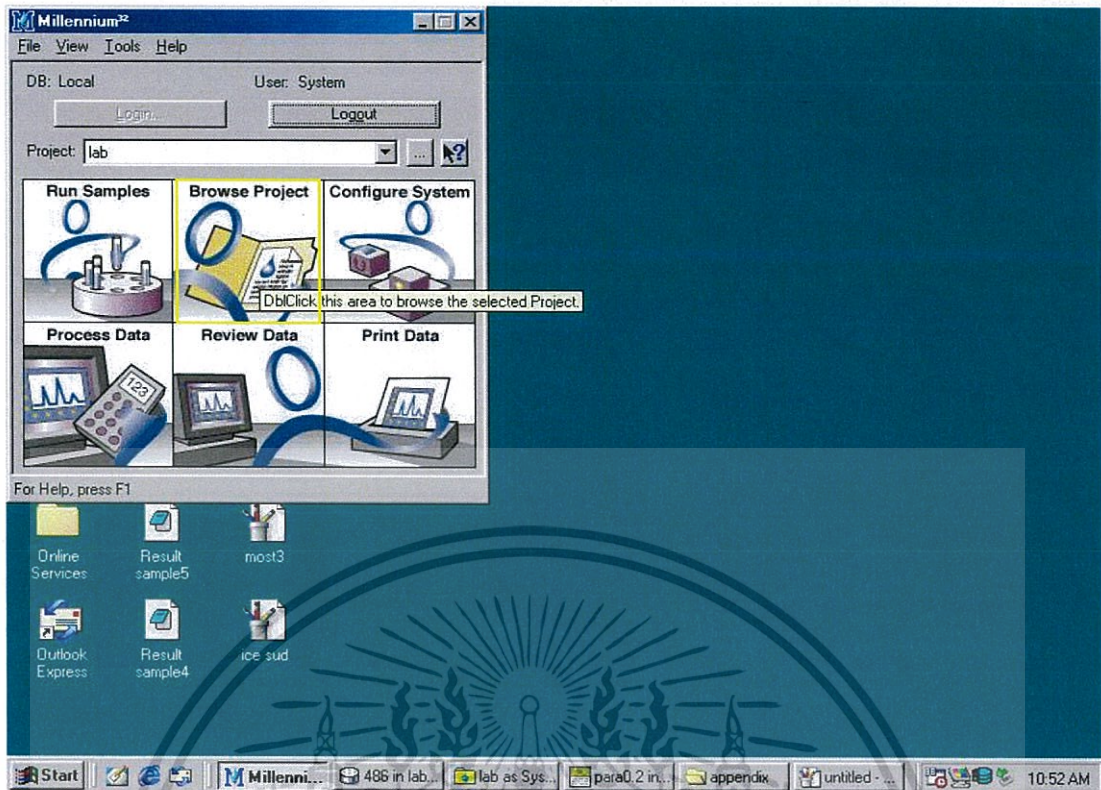


รูปที่ ข.17 ทำการฉีดสารที่ต้องการวิเคราะห์

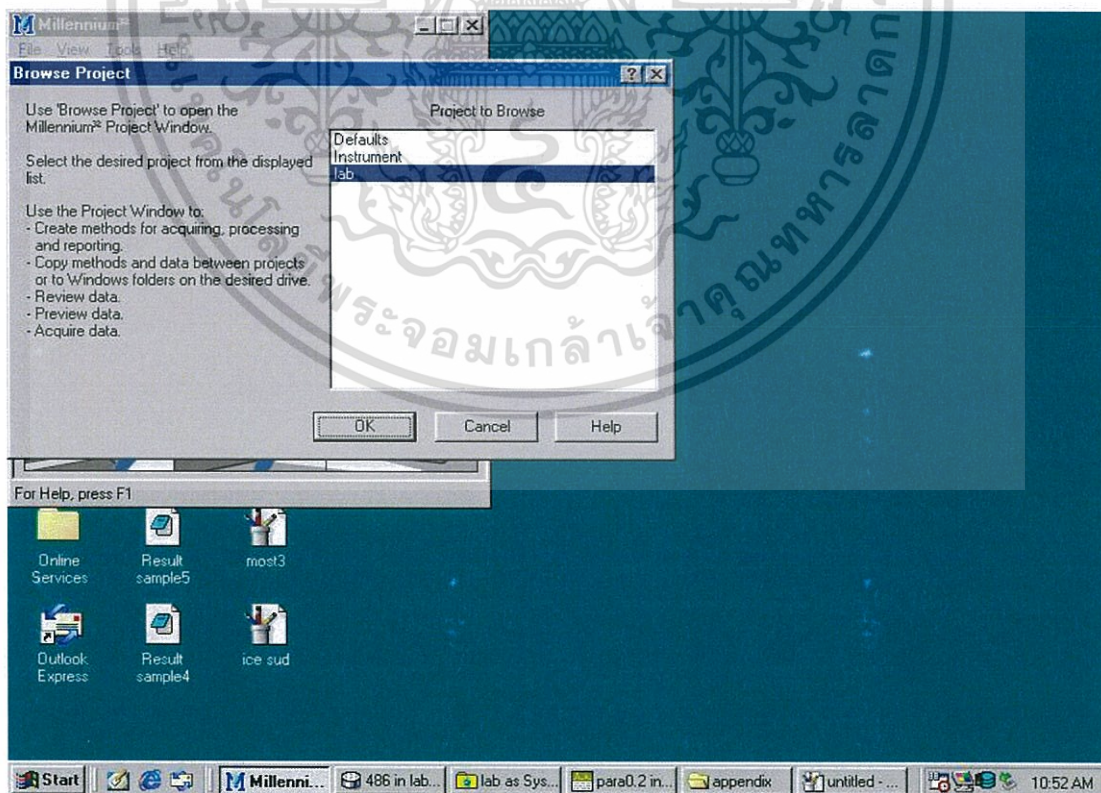


รูปที่ ข.18 ปรับขึ้นฉีดสาร (LOAD) => ปรับลงดึง Syringes ออก (INJECT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.19 เมื่อทำการวิเคราะห์จนครบแล้ว กลับมาหน้าต่างเริ่มต้นใช้งานโปรแกรม กดเมนู Browse Project



รูปที่ ข.20 คลิก Lab แล้วกดเมนู OK

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

lab as System/Administrator - Project

File Edit View Tools Database Help

Filter By: Today Edit View Update

Sample Sets Injections Channels Methods Result Sets Results Peaks Curves View Filters Custom Fields

SampleName	Vial	Injection	Sample Type	Channel	Channel Description	Date Acquired	Sample Set Name	Acq Method Set	Acquired By	S
1 para0.2	1	1	Standard	486		5/31/16 10:51:14 AM	3011111	LC Method	System	4
2 para1	3	2	Standard	486		5/31/16 10:15:16 AM	310516	LC Method	System	4
3 para1	3	1	Standard	486		5/31/16 10:04:31 AM	310516	LC Method	System	4
4 para0.6	2	2	Standard	486		5/31/16 9:53:48 AM	310516	LC Method	System	4
5 para0.6	2	1	Standard	486		5/31/16 9:43:04 AM	310516	LC Method	System	4
6 para0.2	1	2	Standard	486		5/31/16 9:32:27 AM	310516	LC Method	System	4
7 para0.2	1	1	Standard	486		5/31/16 9:20:07 AM	310516	LC Method	System	4

For Help, press F1 7 Selected

Start Mill... 486... la... par... app... unit... Mes... 10:54 AM

รูปที่ ข.21 เลือกช่อง Channels คอลัมน์คำข้อมูลตัวอย่างที่วิเคราะห์

lab as System/Administrator - Project

File Edit View Tools Database Help

Filter By: Today Edit View Update

Sample Sets Injections Channels Methods Result Sets Results Peaks Curves View Filters Custom Fields

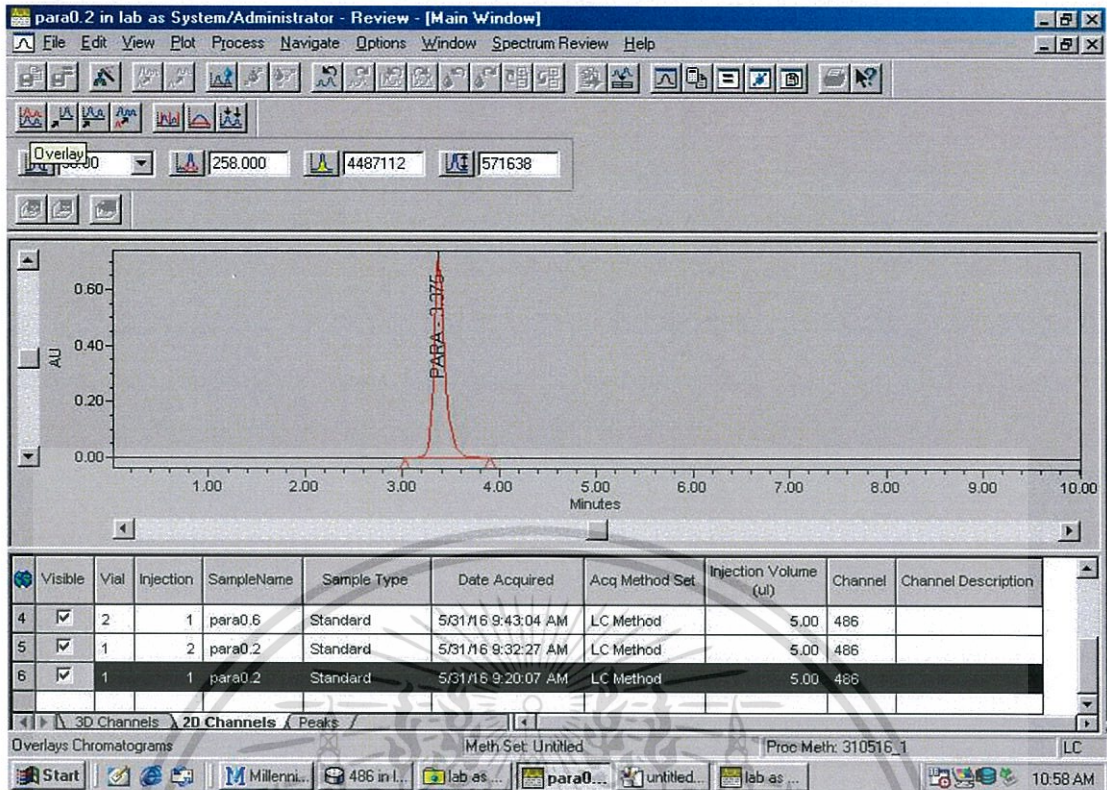
SampleName	Vial	Injection	Sample Type	Channel	Channel Description	Date Acquired	Sample Set Name	Acq Method Set	Acquired By	S
1 para0.2	1	1	Standard	486		5/31/16 10:51:14 AM	3011111	LC Method	System	4
2 para1	3	2	Standard	486		5/31/16 10:15:16 AM	310516	LC Method	System	4
3 para1	3	1	Standard	486		5/31/16 10:04:31 AM	310516	LC Method	System	4
4 para0.6	2	2	Standard	486		5/31/16 9:53:48 AM	310516	LC Method	System	4
5 para0.6	2	1	Standard	486		5/31/16 9:43:04 AM	310516	LC Method	System	4
6 para0.2	1	2	Standard	486		5/31/16 9:32:27 AM	310516	LC Method	System	4
7 para0.2	1	1	Standard	486		5/31/16 9:20:07 AM	310516	LC Method	System	4

For Help, press F1 7 Selected

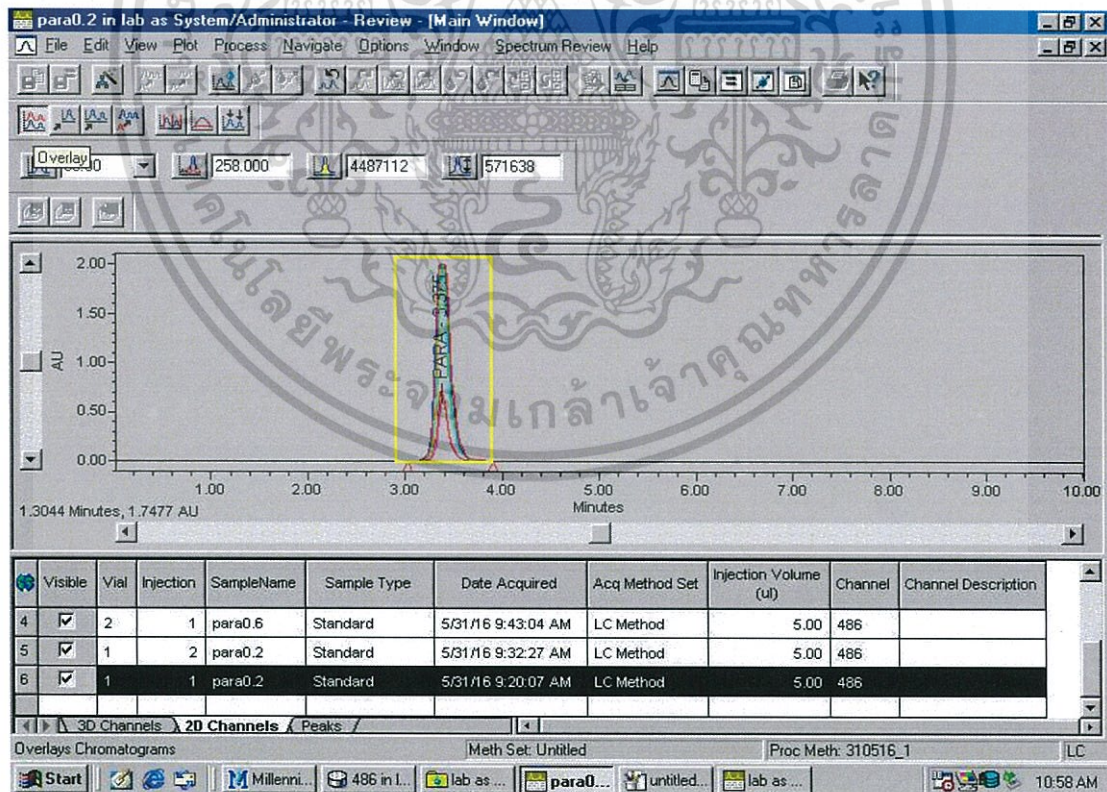
Start Mill... 486... la... par... app... unit... Mes... 10:55 AM

รูปที่ ข.22 คลิกเมาส์ขวา เลือกคำสั่ง Review

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

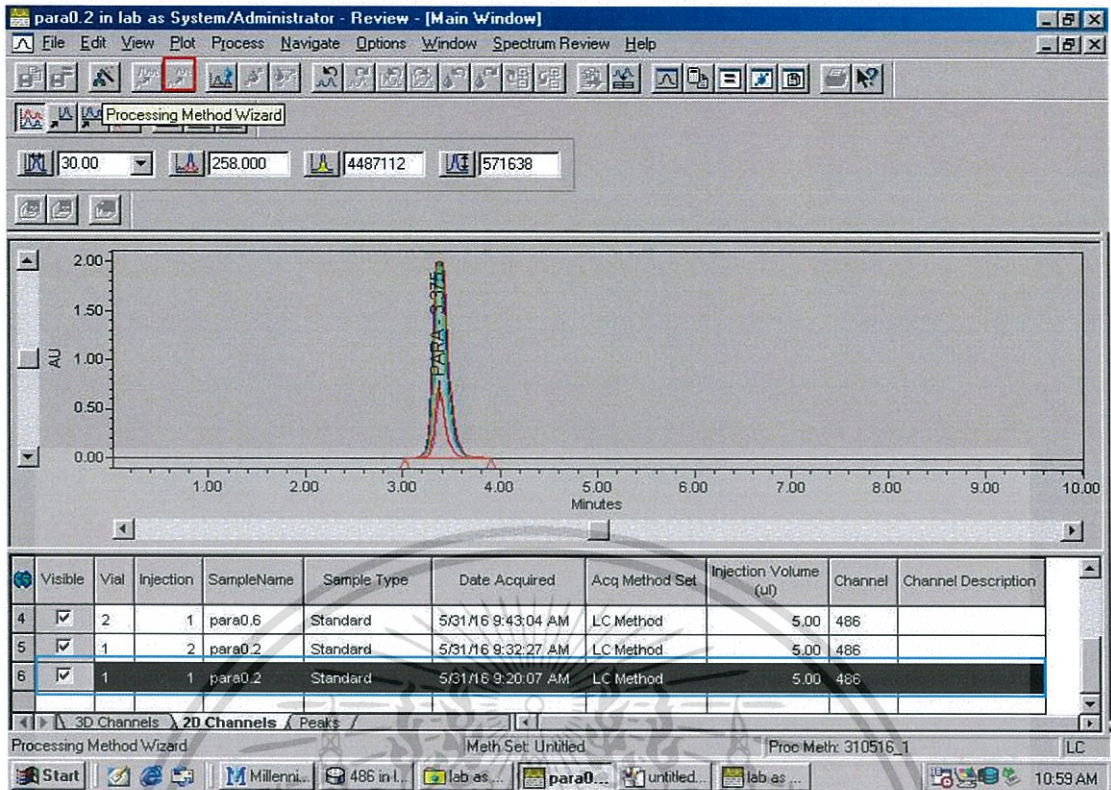


รูปที่ ข.23 กดคำสั่ง Overlay

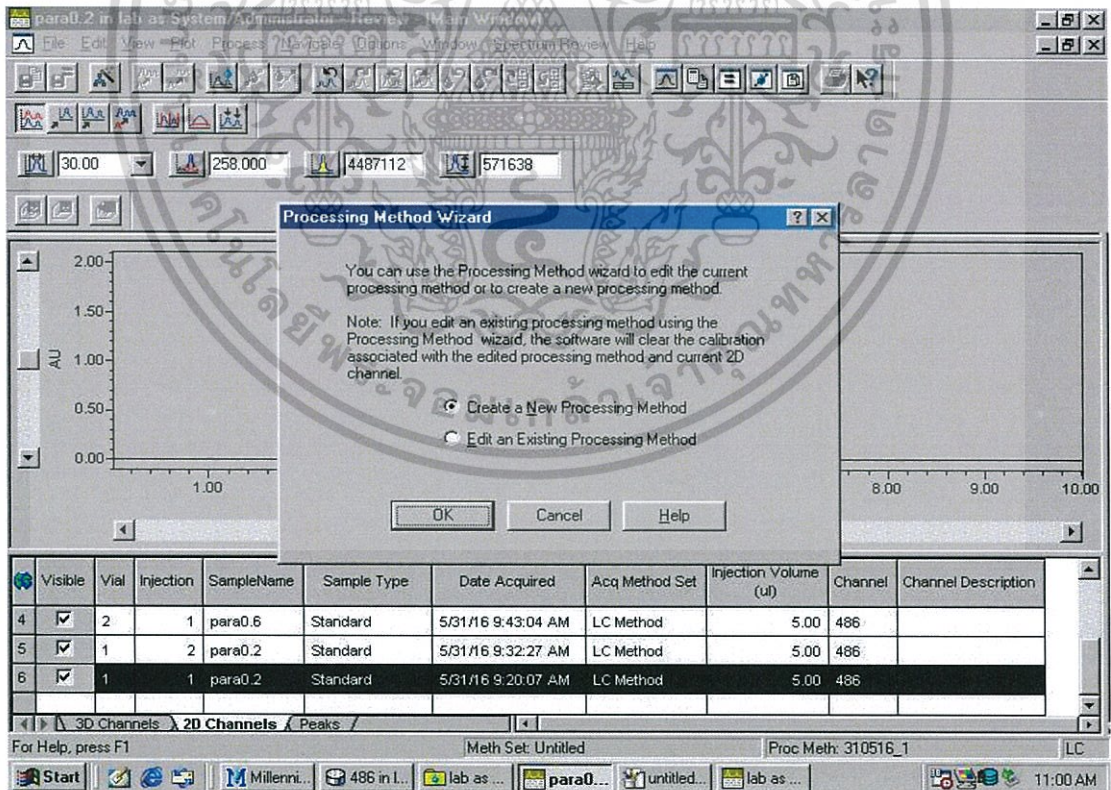


รูปที่ ข.24 จะได้ Chromatogram ดังรูป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.25 เลือกสารที่มีความเข้มข้นน้อยที่สุด กด คำสั่ง Processing Method Wizard



รูปที่ ข.26 กดปุ่ม OK

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

para0.2 in lab as System/Administrator - Review - [Main Window]

File Edit View Plot Process Navigate Options Window Spectrum Review Help

30.00 258.000 4487112 571638

2.00
1.50
1.00
0.50
0.00

1.00 2.00 3.00 4.00 5.00 6.00 7.00 8.00 9.00 10.00

Minutes

Visible Vial Injection SampleName Sample Type Date Acquired Acq Method Set Injection Volume (ul) Channel Channel Description

4	✓	2	1	para0.6	Standard	5/31/16 9:43:04 AM	LC Method	5.00	486	
5	✓	1	2	para0.2	Standard	5/31/16 9:32:27 AM	LC Method	5.00	486	
6	✓	1	1	para0.2	Standard	5/31/16 9:20:07 AM	LC Method	5.00	486	

3D Channels 2D Channels Peaks

For Help, press F1 Meth Set: Untitled Proc Meth: 310516_1 LC

Start Millennium 486 in L... lab as ... para0... untitled... lab as ... 11:00 AM

รูปที่ ข.27 กดปุ่ม OK

para0.2 in lab as System/Administrator - Review - [Main Window]

File Edit View Plot Process Navigate Options Window Spectrum Review Help

30.00

Integration - Peak Detection 1

To set the peak width, zoom in on the narrowest peak of interest from peak start to peak end. Peak width will be set according to the width of the x-axis in the zoom region.

2.2271 Minutes, 1.9201 AU

0.60
0.40
0.20
0.00

2.00 4.00 6.00 8.00 10.00

Minutes

Peak Width 30.00

Visible Vial Injection SampleName Sample Type Date Acquired Acq Method Set Injection Volume (ul) Channel Channel Description

4	✓	2	1	para0.6	Standard	5/31/16 9:43:04 AM	LC Method	5.00	486	
5	✓	1	2	para0.2	Standard	5/31/16 9:32:27 AM	LC Method	5.00	486	
6	✓	1	1	para0.2	Standard	5/31/16 9:20:07 AM	LC Method	5.00	486	

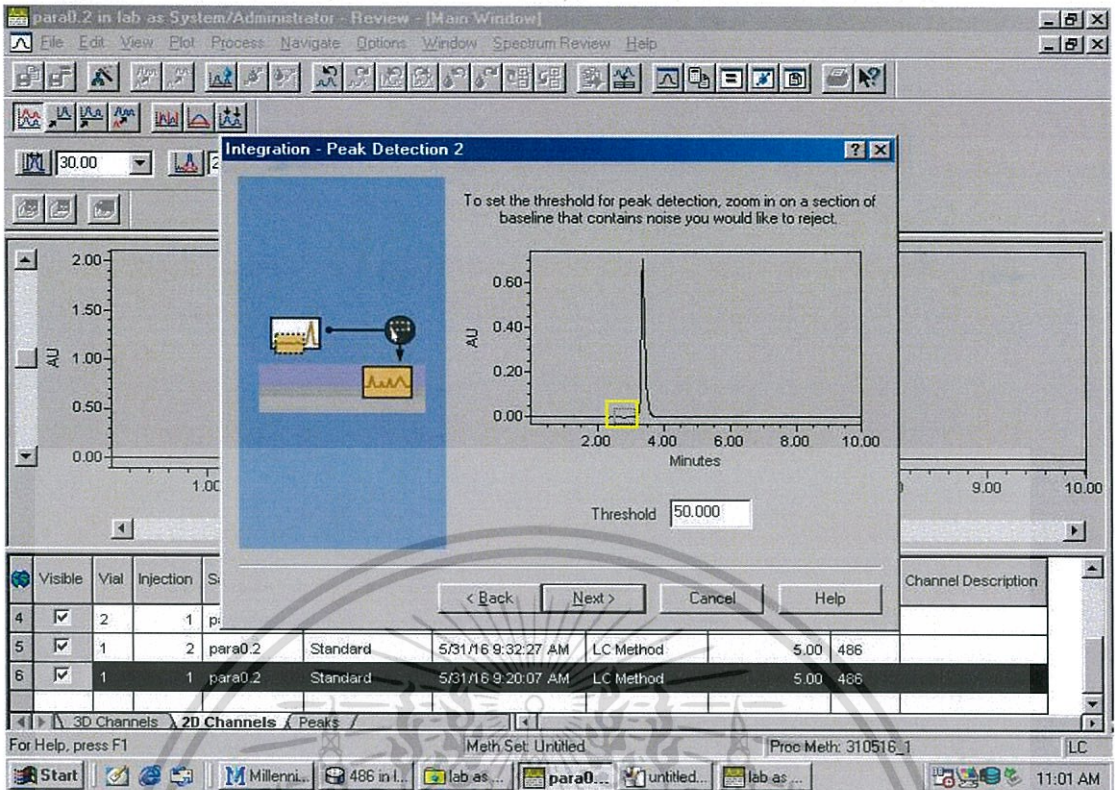
3D Channels 2D Channels Peaks

For Help, press F1 Meth Set: Untitled Proc Meth: 310516_1 LC

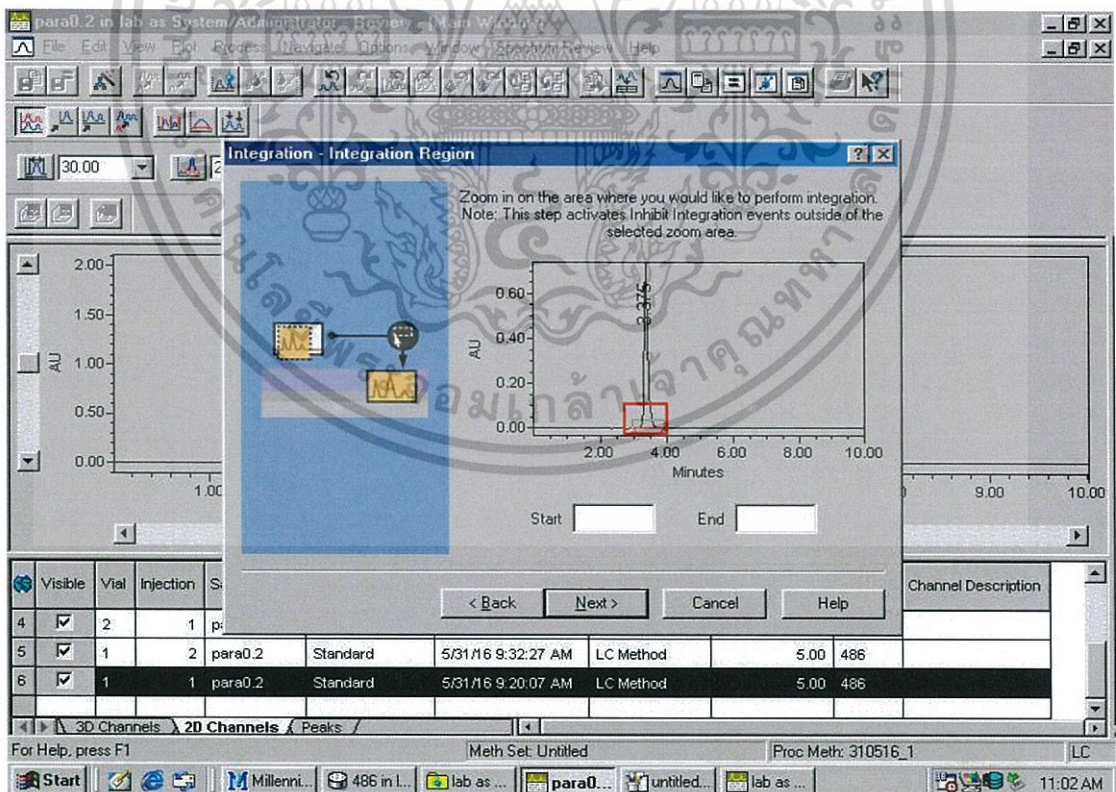
Start Millennium 486 in L... lab as ... para0... untitled... lab as ... 11:01 AM

รูปที่ ข.28 ใช้เมาส์ลากคลุมความยาวของฐานพีค กดปุ่ม Next

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.29 ใช้เมาส์ลากคลุมส่วนของพีคที่ไม่เป็นเส้นตรง กดปุ่ม Next



รูปที่ ข.30 ใช้เมาส์ลากคลุมระหว่างฐานของพีคทั้งสองข้าง กดปุ่ม Next

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Integration - Peak Rejection

If the integration is not correct, press the Back button to readjust the chromatogram zoom level to a different region and try again. To reject peaks based on area or height, select the smallest peak of interest and click the Minimum Area or Minimum Height box.

3.375

Minimum Area: 5178148

Minimum Height: 673615

< Back Next > Cancel Help

Visible	Vial	Injection	S
<input checked="" type="checkbox"/>	2	1	para0.2
<input checked="" type="checkbox"/>	1	2	para0.2
<input checked="" type="checkbox"/>	1	1	para0.2

รูปที่ ข.31 คลิกเครื่องหมายถูกทั้งสองช่อง คลิกที่พีค จะปรากฏค่าพื้นที่ขึ้น กดปุ่ม Next

Calibration - General

Select the method of quantitation: Area

Specify whether component information is entered as amounts (not affected by the injection volume) or concentration (must be compensated by the injection volume): Amount

Select the calibration curve fit type: Linear thru Zero

- Linear thru Zero
- Quadratic thru Zero
- Cubic thru Zero
- Fourth thru Zero
- Fifth thru Zero
- Inverse Linear
- Log-Log Linear
- Response Factor

< Back Next > Cancel

Visible	Vial	Injection	S
<input checked="" type="checkbox"/>	2	1	para0.2
<input checked="" type="checkbox"/>	1	2	para0.2
<input checked="" type="checkbox"/>	1	1	para0.2

รูปที่ ข.32 Calibration curve เลือกชนิด Linear thru Zero กดปุ่ม Next

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Calibration - Names and Retention Times

Enter desired component names for the peaks listed in the table. Peaks can be removed by deleting the appropriate row.

Name	Retention Time
1 Peak1	3.375

Visible Vial Injection S

4	✓	2	1	para0.2	Standard	5/31/16 9:32:27 AM	LC Method	5.00	486
5	✓	1	2	para0.2	Standard	5/31/16 9:20:07 AM	LC Method	5.00	486

Meth Set: Untitled Proc Meth: 310516_1 LC

รูปที่ ข.33 ตั้งชื่อพีคของสารที่วิเคราะห์

Calibration - Names and Retention Times

Enter desired component names for the peaks listed in the table. Peaks can be removed by deleting the appropriate row.

Name	Retention Time
1 PARA	3.375

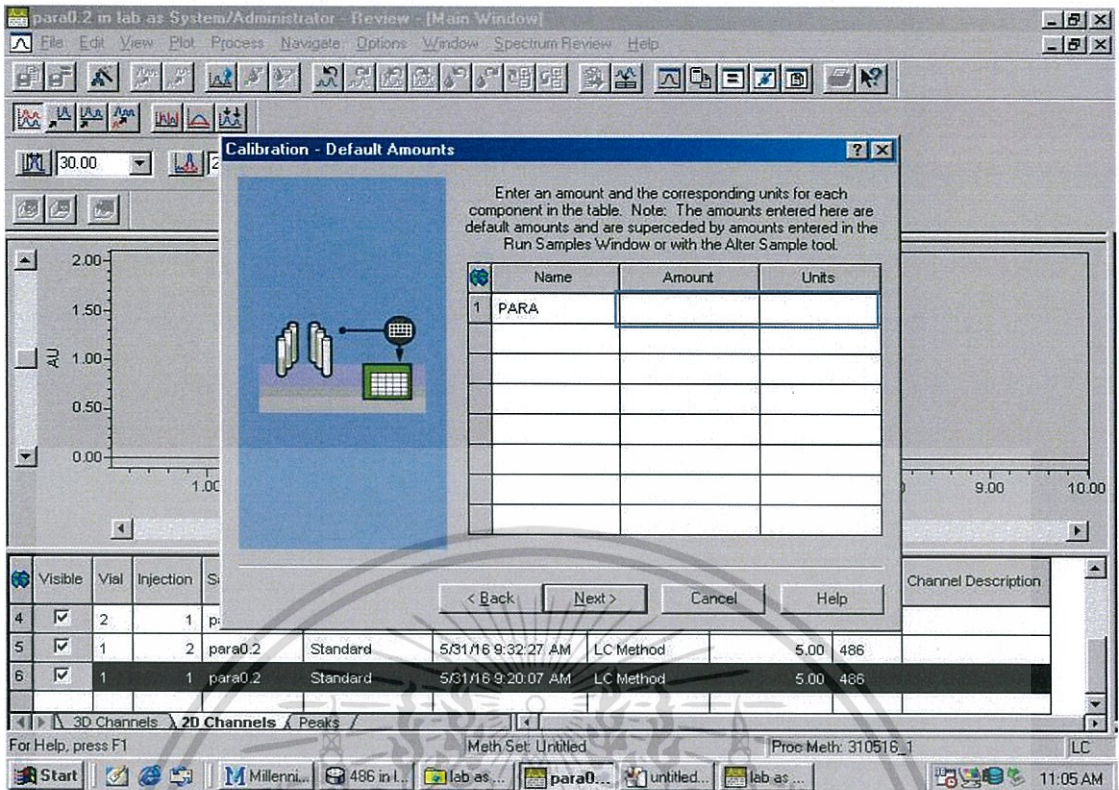
Visible Vial Injection S

4	✓	2	1	para0.2	Standard	5/31/16 9:32:27 AM	LC Method	5.00	486
5	✓	1	2	para0.2	Standard	5/31/16 9:20:07 AM	LC Method	5.00	486

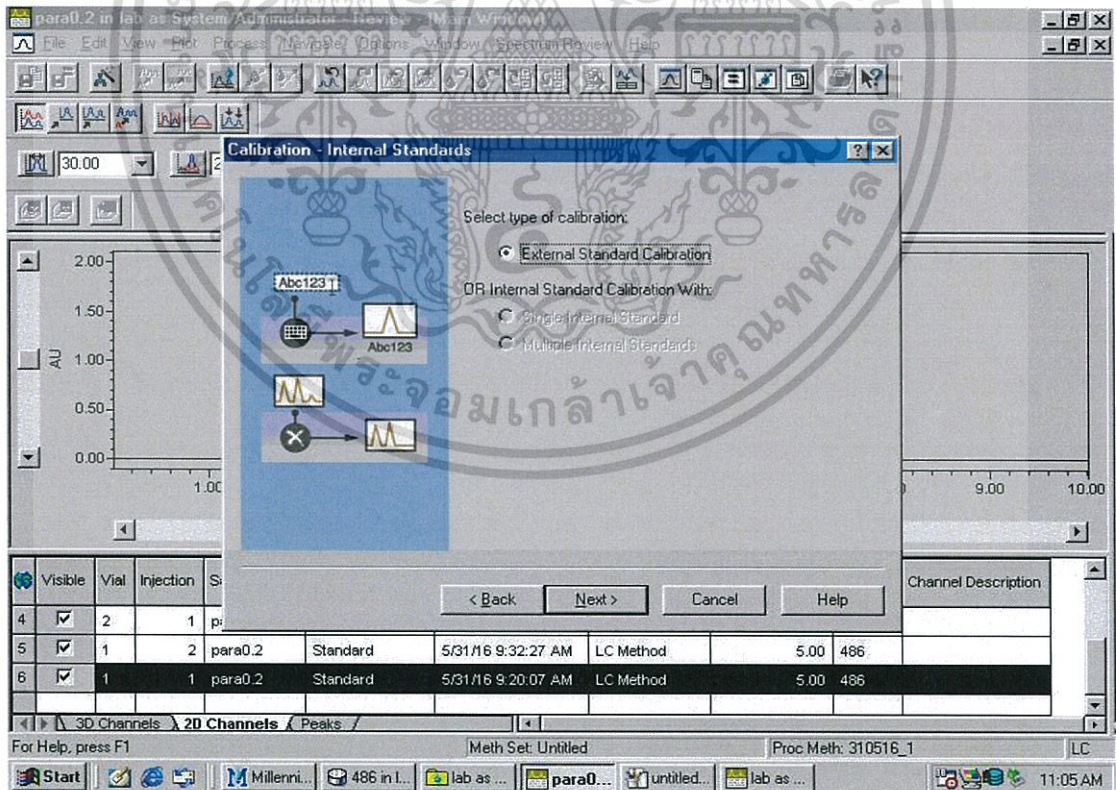
Meth Set: Untitled Proc Meth: 310516_1 LC

รูปที่ ข.34 กดปุ่ม Next

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

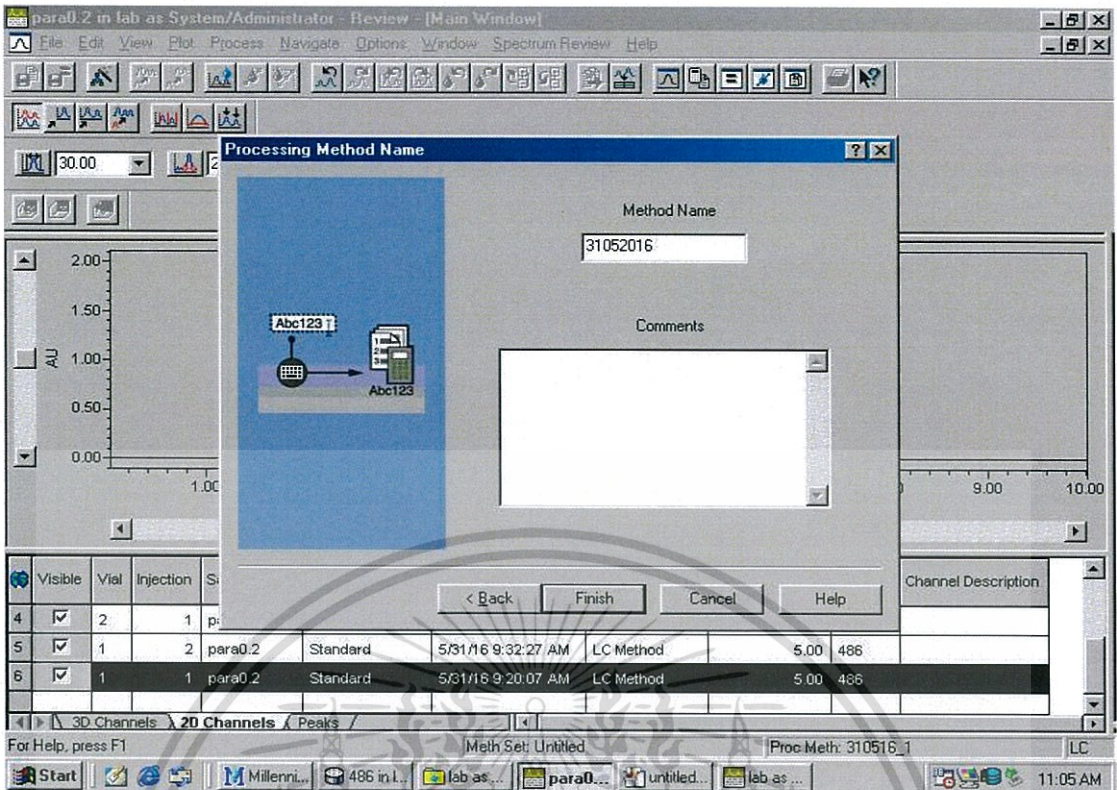


รูปที่ ข.35 ใส่ค่าความเข้มข้นและหน่วยของสาร กดปุ่ม Next

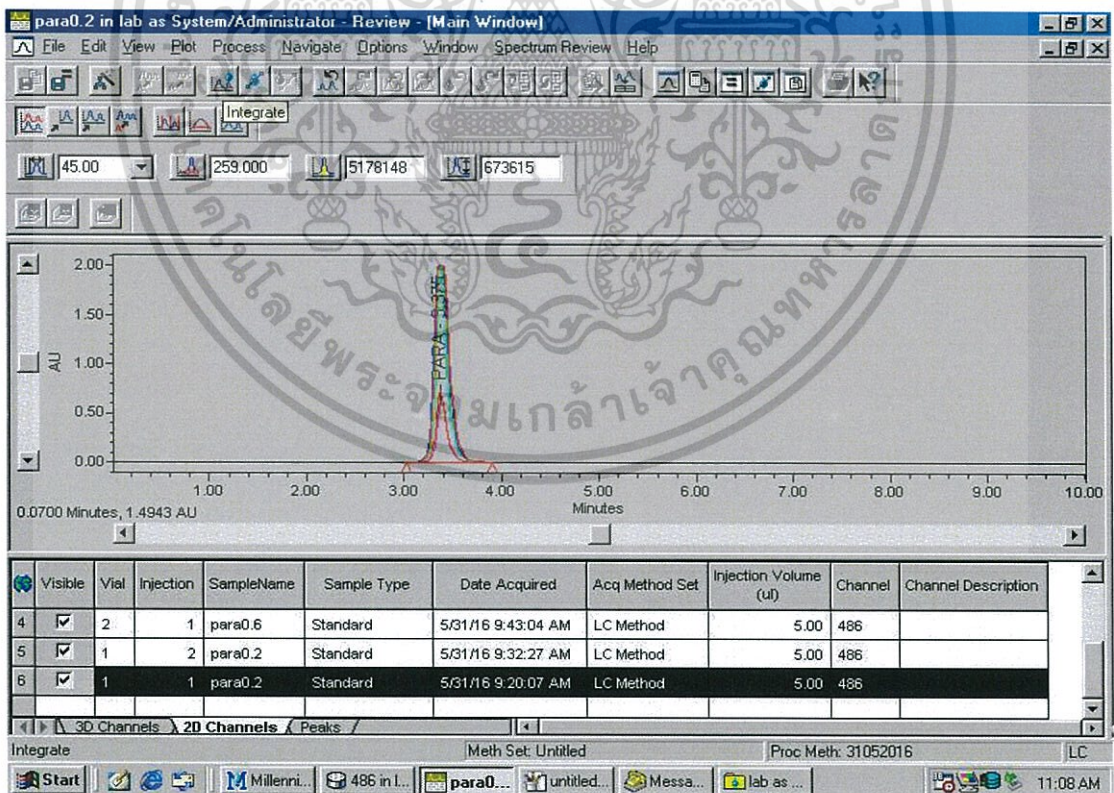


รูปที่ ข.36 กดปุ่ม Next

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

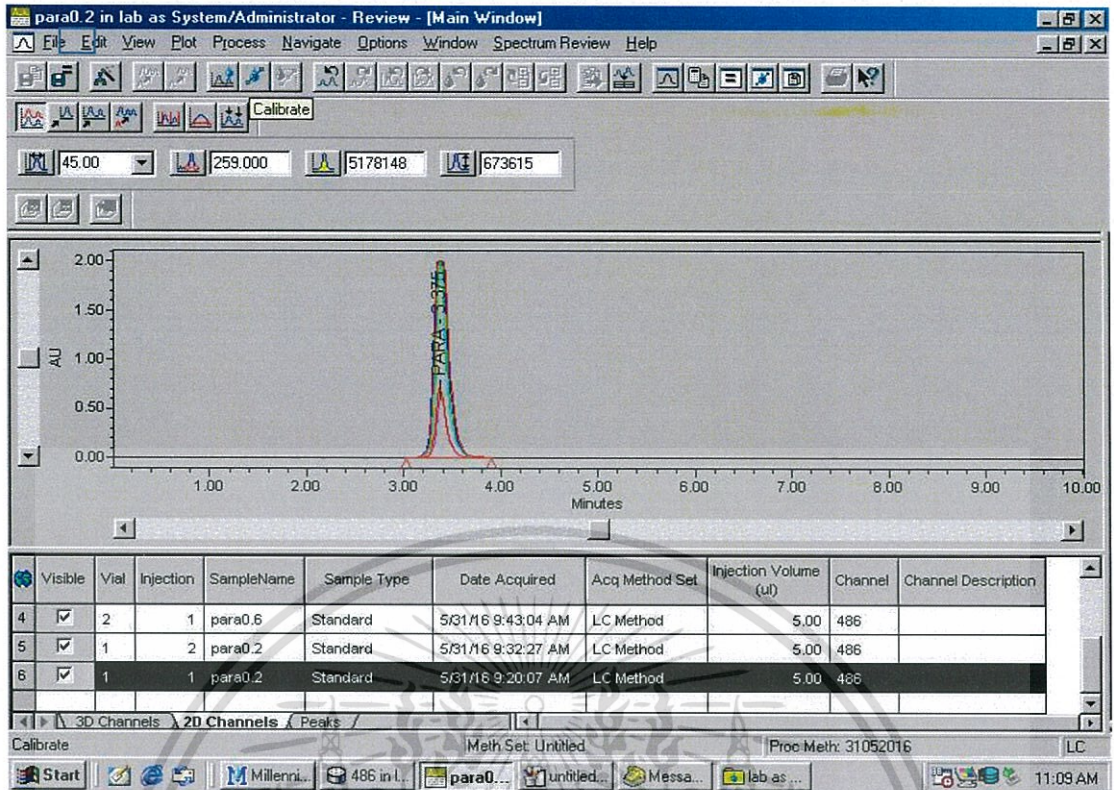


รูปที่ ข.37 ตั้งชื่อวิธีการทดลอง

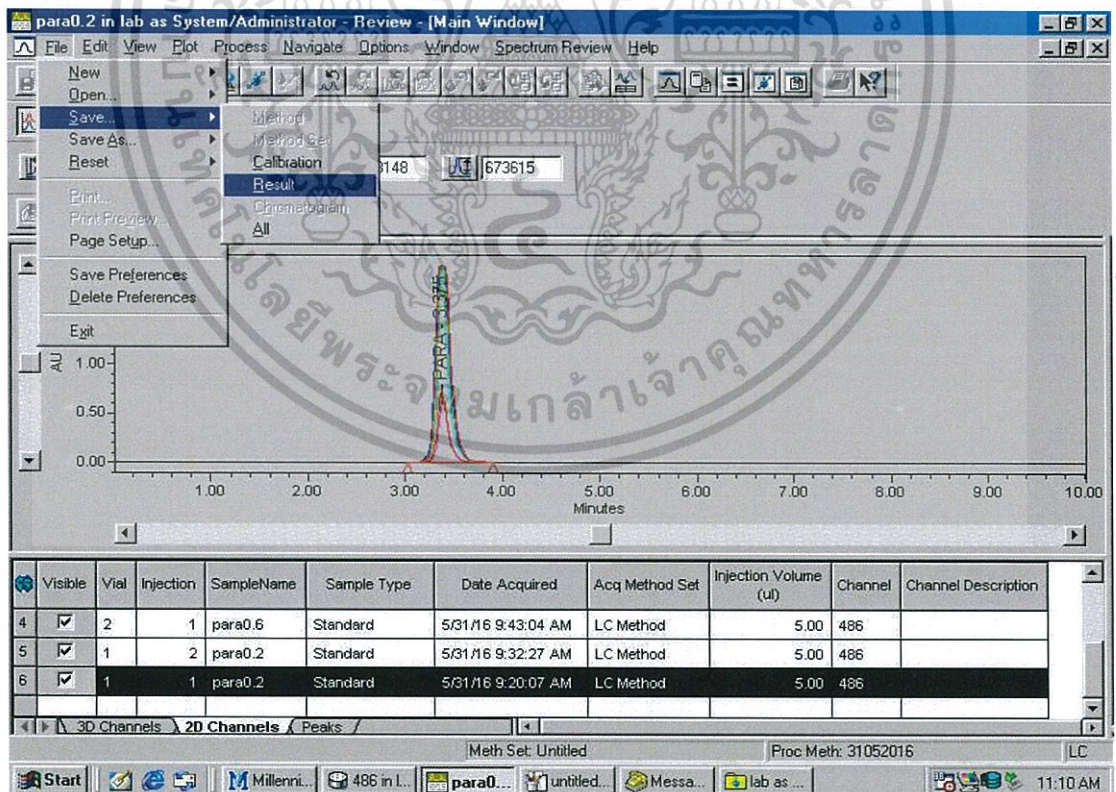


รูปที่ ข.38 กดคำสั่ง Integrate และ Calibrate จนครบทุกสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.39 ไปที่คำสั่ง File



รูปที่ ข.50 File => Save => Result จนครบทุกสารตัวอย่างที่วิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

lab as System/Administrator - Project

File Edit View Tools Database Help

Filter By: All by Date Proc. (Detailed) Edit View Update

Sample Sets Injections Channels Methods Result Sets Results Peaks Curves View Filters Custom Fields

	SampleName	Vial	Injection	Sample Type	Channel	Processed Channel Descr.	Date Acquired	Date Processed
1	para0.2	1	2	Standard	486		5/31/16 9:32:27 AM	5/31/16 10:31:25 A
2	para0.2	1	2	Standard	486		5/31/16 9:32:27 AM	5/31/16 10:29:34 A
3	para0.6	2	1	Standard	486		5/31/16 9:43:04 AM	5/31/16 10:29:25 A
4	para0.6	2	2	Standard	486		5/31/16 9:53:48 AM	5/31/16 10:29:20 A
5	para1	3	1	Standard	486		5/31/16 10:04:31 AM	5/31/16 10:29:14 A
6	para1	3	2	Standard	486		5/31/16 10:15:16 AM	5/31/16 10:29:09 A
7	para0.2	1	1	Standard	486		5/31/16 9:20:07 AM	5/31/16 10:29:53 A
8	Mixed para0.5cpm2.5	1	1	Unknown	486		5/30/16 8:43:13 PM	5/30/16 9:07:36 PM
9	Mixed para0.5cpm2.5	1	2	Unknown	486		5/30/16 8:54:06 PM	5/30/16 9:07:31 PM
10	Kugo1tablet	2	2	Unknown	486		5/30/16 8:17:22 PM	5/30/16 8:36:17 PM
11	Kugo1tablet	2	1	Unknown	486		5/30/16 8:05:43 PM	5/30/16 8:36:08 PM
12	CPM3	1	2	Standard	486		5/30/16 7:54:28 PM	5/30/16 8:34:40 PM
13	CPM3	1	1	Standard	486		5/30/16 7:42:53 PM	5/30/16 8:34:21 PM
14	CPM5	3	2	Standard	486		5/30/16 7:06:11 PM	5/30/16 7:34:02 PM
15	CPM5	3	1	Standard	486		5/30/16 6:44:24 PM	5/30/16 7:33:54 PM

For Help, press F1 1477 Selected

Start Millennium 486 in lab as ... para0.2 in lab ... untitle - Paint lab as Sys... 11:11 AM

รูปที่ ข.41 คลิกหน้าต่างต่าง lab as System กดเมนู Results

lab as System/Administrator - Project

File Edit View Tools Database Help

Filter By: All by Date Proc. (Detailed) Edit View Update

Sample Sets Injections Channels Methods Result Sets Results Peaks Curves View Filters Custom Fields

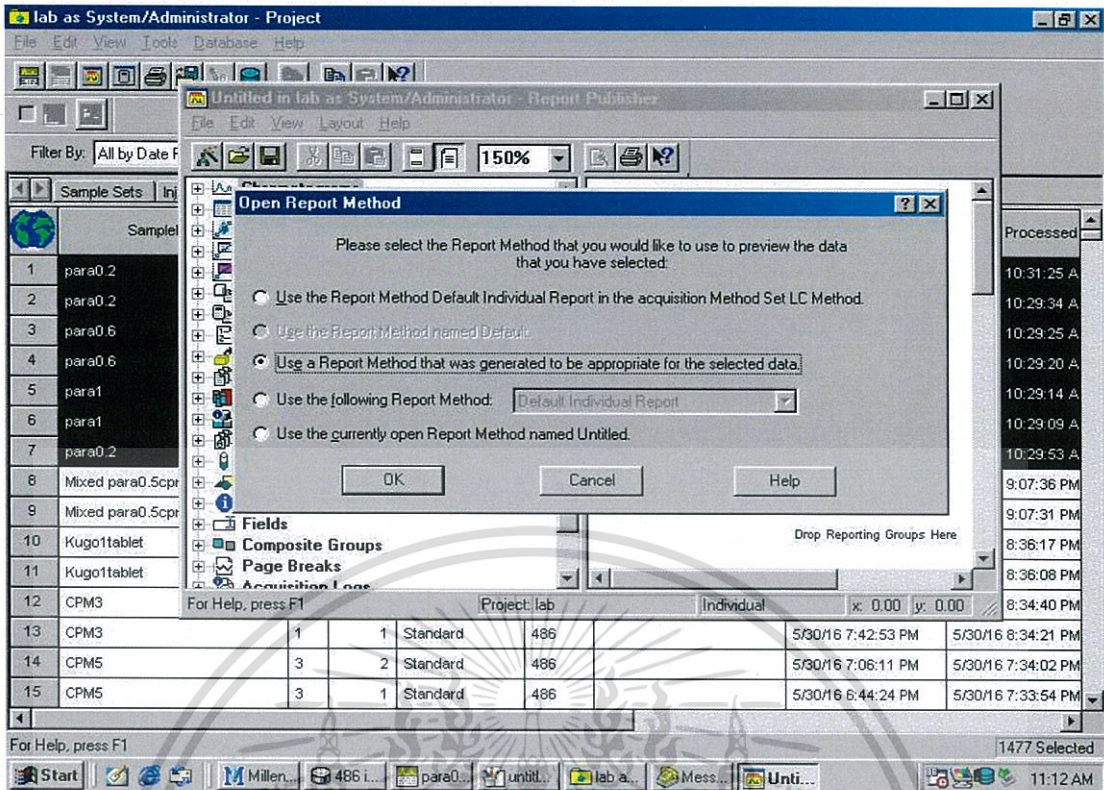
	SampleName	Vial	Injection	Sample Type	Channel	Processed Channel Descr.	Date Acquired	Date Processed
1	para0.2	1	2	Standard	486		5/31/16 9:32:27 AM	5/31/16 10:31:25 A
2	para0.2	1	2	Standard	486		5/31/16 9:32:27 AM	5/31/16 10:29:34 A
3	para0.6	2	1	Standard	486		5/31/16 9:43:04 AM	5/31/16 10:29:25 A
4	para0.6	2	2	Standard	486		5/31/16 9:53:48 AM	5/31/16 10:29:20 A
5	para1	3	1	Standard	486		5/31/16 10:04:31 AM	5/31/16 10:29:14 A
6	para1	3	2	Standard	486		5/31/16 10:15:16 AM	5/31/16 10:29:09 A
7	para0.2	1	1	Standard	486		5/31/16 9:20:07 AM	5/31/16 10:29:53 A
8	Mixed para0.5cpm	1	1	Unknown	486		5/30/16 8:43:13 PM	5/30/16 9:07:36 PM
9	Mixed para0.5cpm	2	2	Unknown	486		5/30/16 8:54:06 PM	5/30/16 9:07:31 PM
10	Kugo1tablet	2	2	Unknown	486		5/30/16 8:17:22 PM	5/30/16 8:36:17 PM
11	Kugo1tablet	2	1	Unknown	486		5/30/16 8:05:43 PM	5/30/16 8:36:08 PM
12	CPM3	1	2	Standard	486		5/30/16 7:54:28 PM	5/30/16 8:34:40 PM
13	CPM3	1	1	Standard	486		5/30/16 7:42:53 PM	5/30/16 8:34:21 PM
14	CPM5	3	2	Standard	486		5/30/16 7:06:11 PM	5/30/16 7:34:02 PM
15	CPM5	3	1	Standard	486		5/30/16 6:44:24 PM	5/30/16 7:33:54 PM

For Help, press F1 1477 Selected

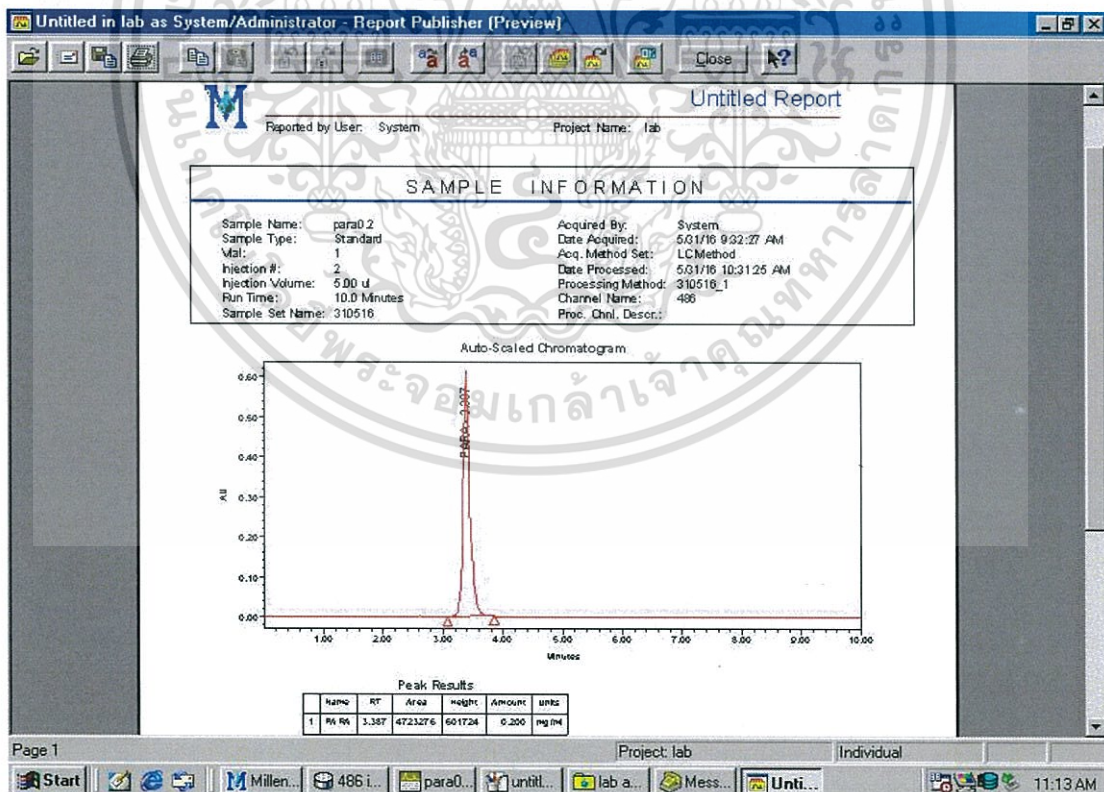
Start Millennium 486 in lab as ... para0.2 in lab ... untitle - Paint lab as Sys... 11:12 AM

รูปที่ ข.42 เลือกคลุมดำผลวิเคราะห์ที่ได้ คลิกเมาส์ขวา เลือกคำสั่ง Preview

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

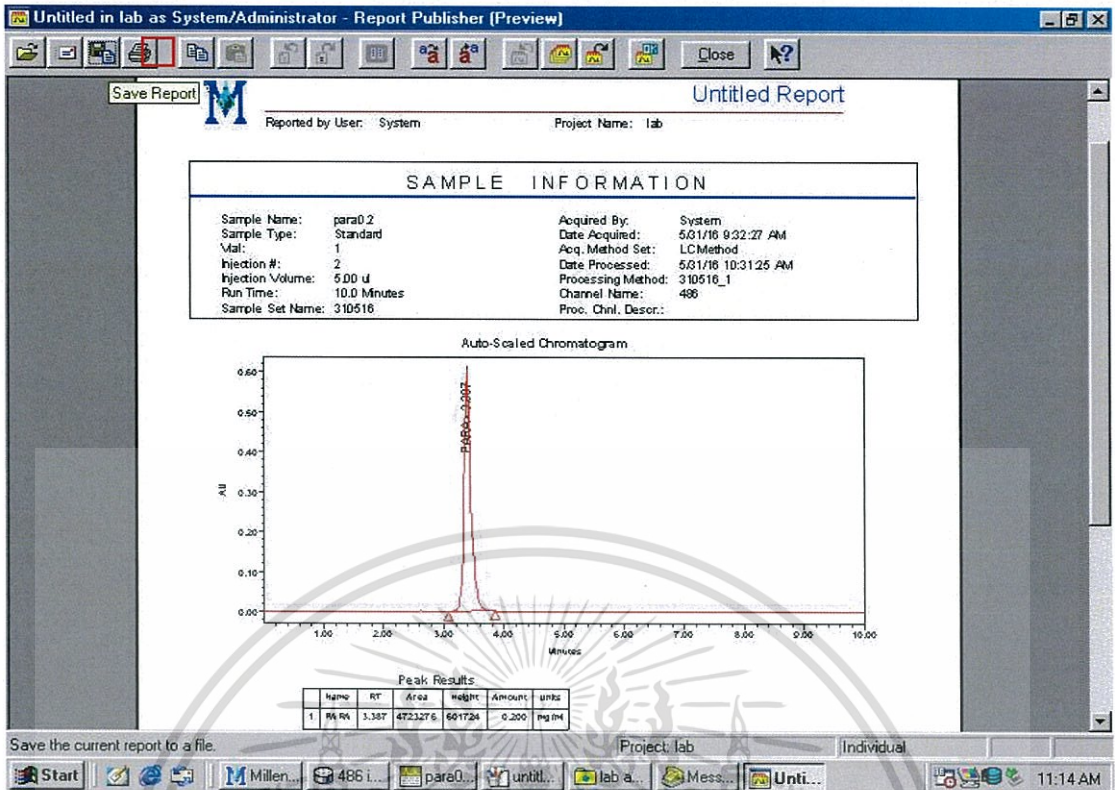


รูปที่ ข.43 กดปุ่ม OK

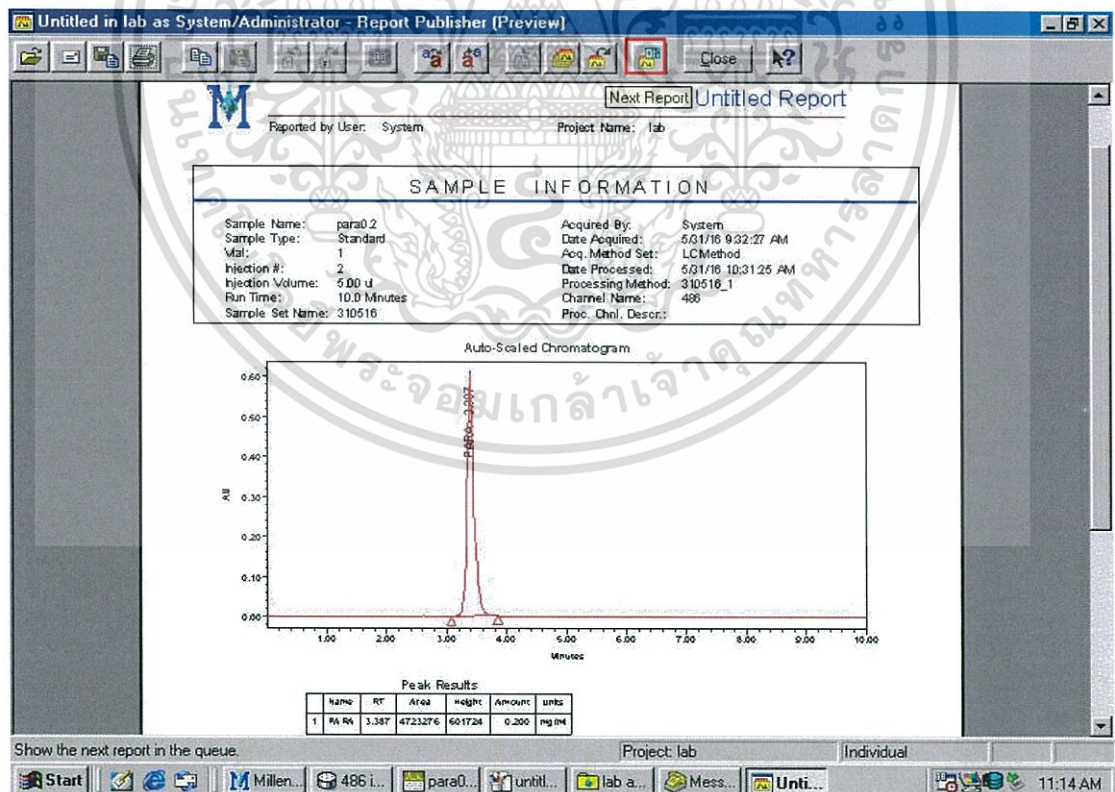


รูปที่ ข.44 Chromatogram ที่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

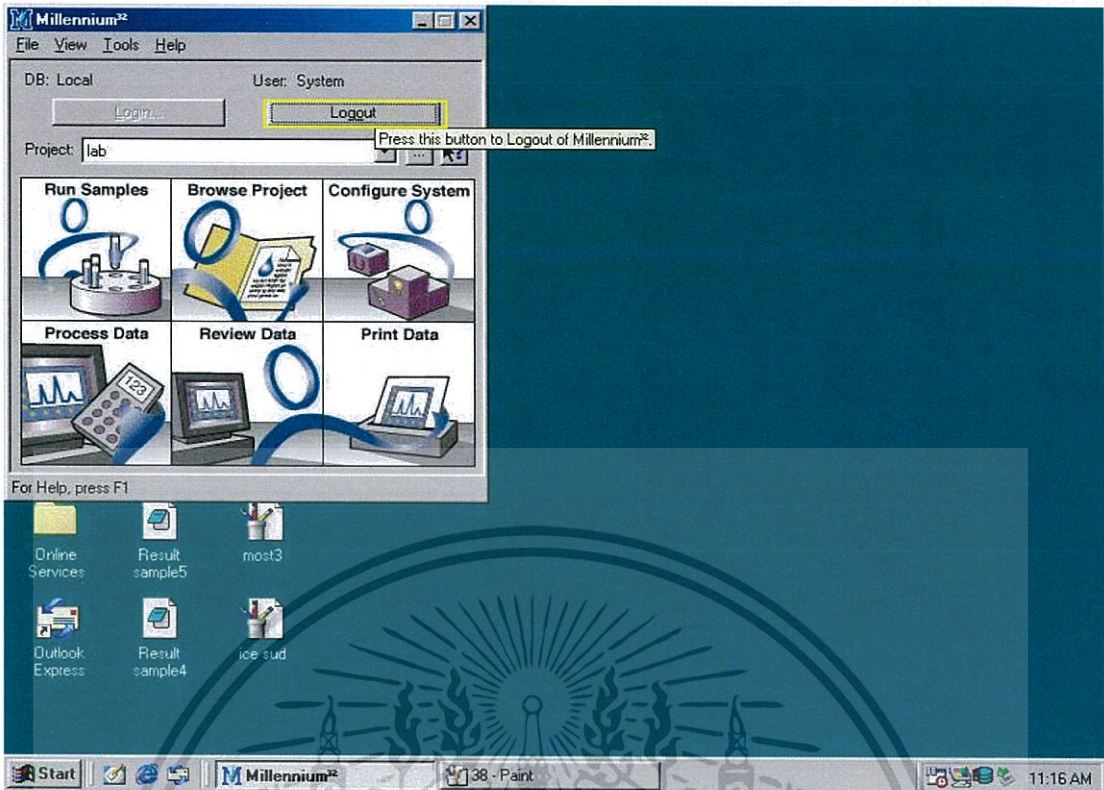


รูปที่ ข.45 กดคำสั่ง Save Report

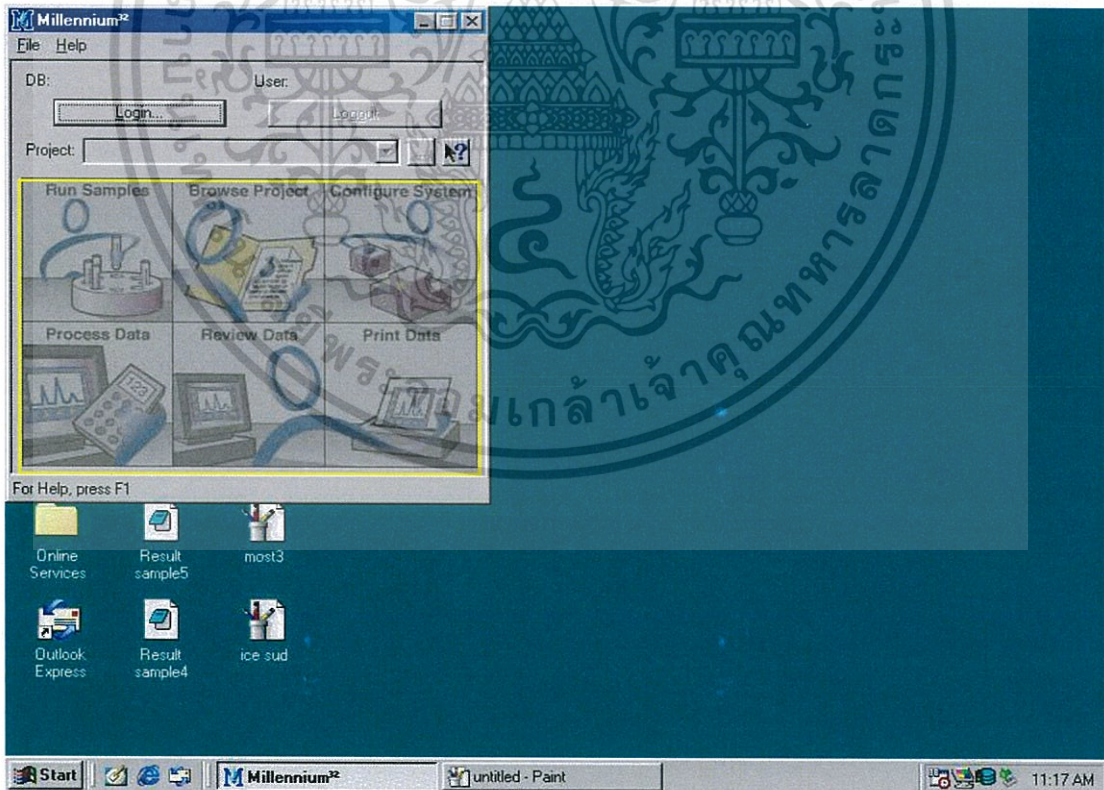


รูปที่ ข.46 กดคำสั่ง Next Report ทำการ Save Report จนครบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

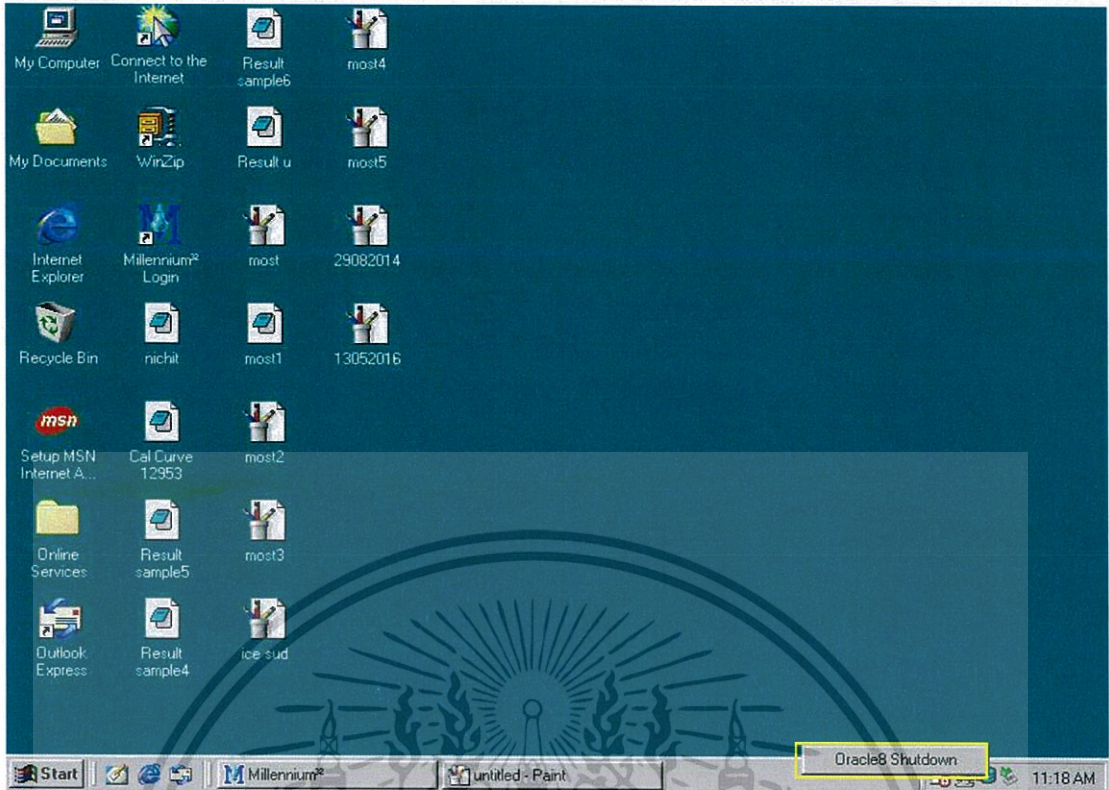


รูปที่ ข.47 คลิกหน้าต่างเริ่มต้นใช้งาน คลิกคำสั่ง Logout

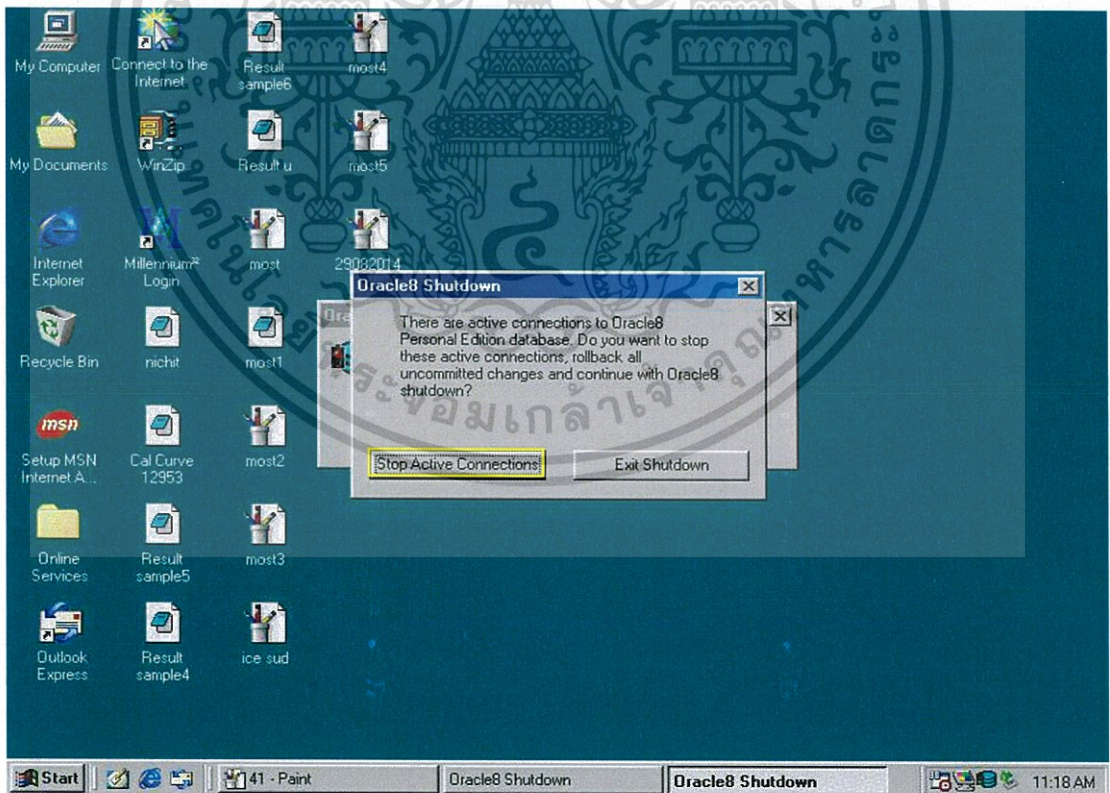


รูปที่ ข.48 หน้าต่างของโปรแกรมจะเป็นสีเทา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

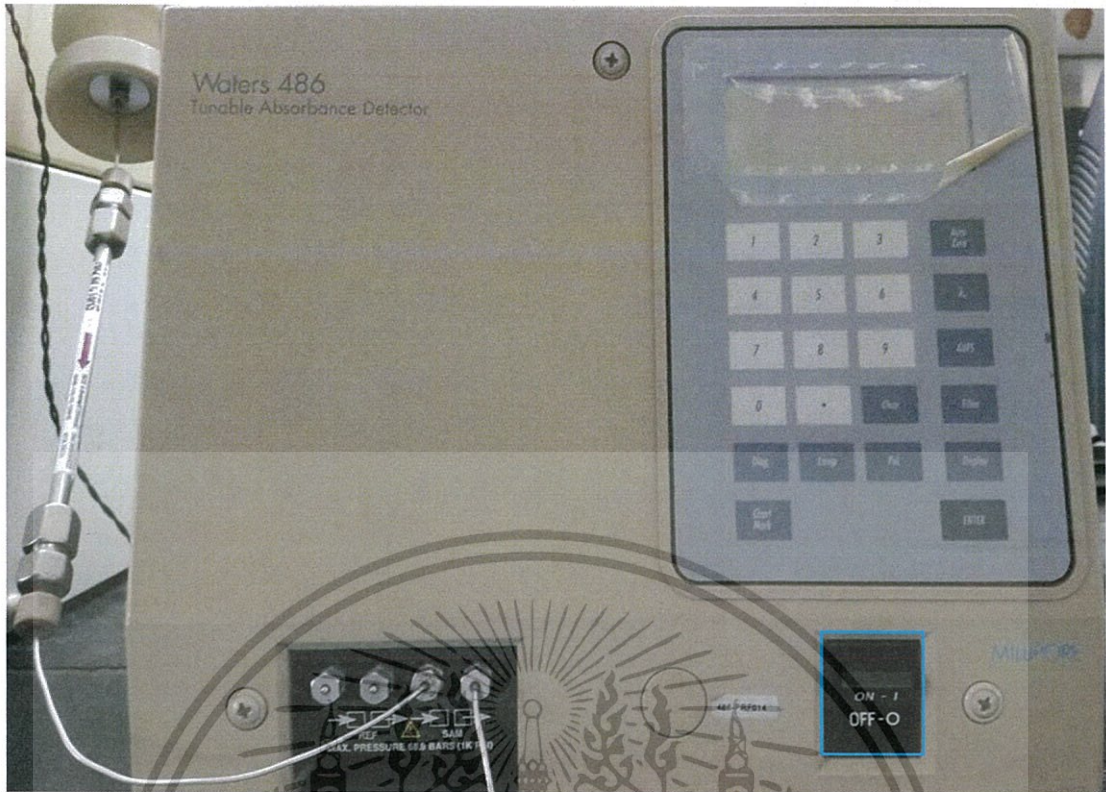


รูปที่ ข.49 คลิกเมาส์ขวาที่ปุ่มล่างขวาของหน้าจอ กดคำสั่ง Oracle8 Shutdown

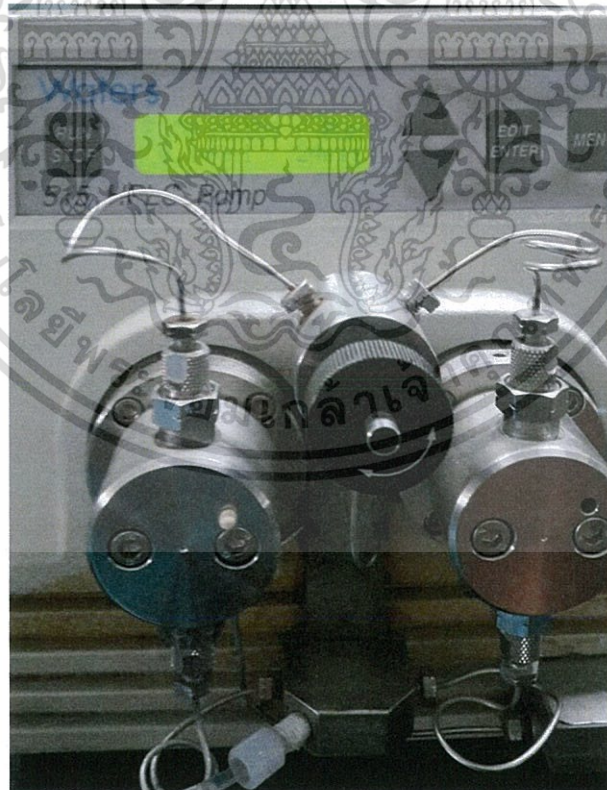


รูปที่ ข.50 กดคำสั่ง Stop Active Connections ทำการ Shut down คอมพิวเตอร์ได้เลย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

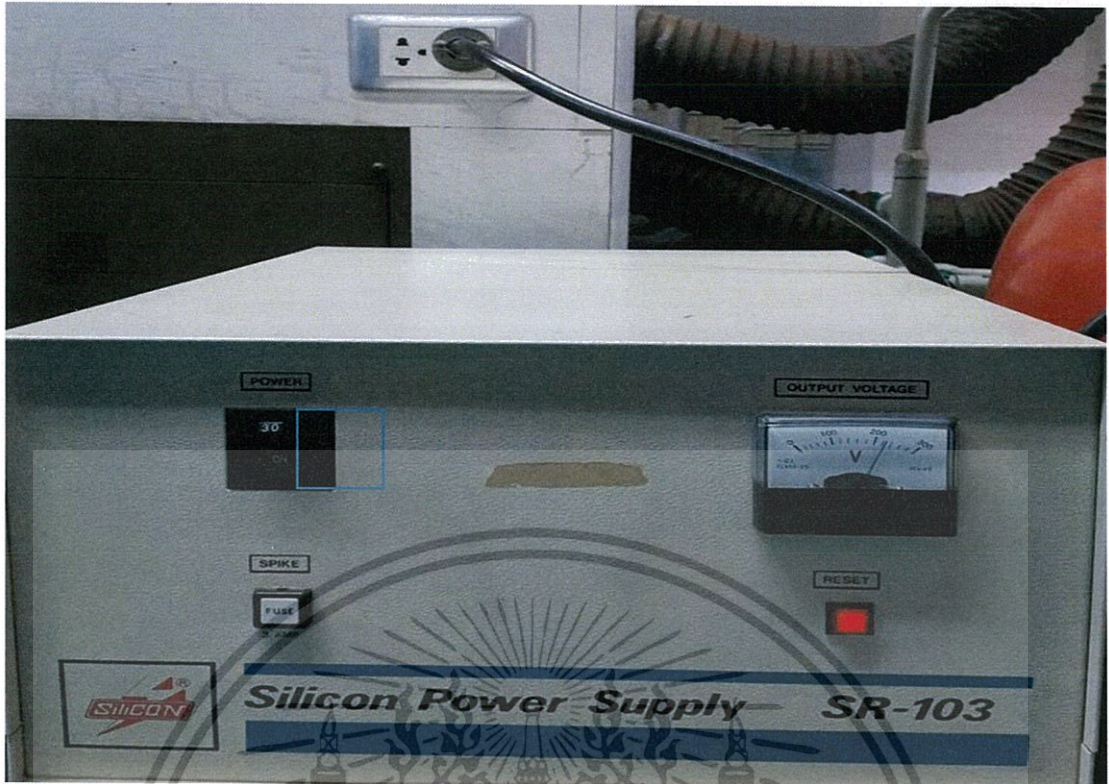


รูปที่ ข.51 ปิดสวิตช์ Tunable Absorbance Detector



รูปที่ ข.52 ปรับอัตราการ FLOW เป็น 0 => ปิดสวิตช์ HPLC Pump

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.53 ปิดสวิตซ์ (OFF) => ถอดปลั๊ก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การคำนวณ

1. การคำนวณหาความเข้มข้น

1.1 ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานพาราเซตามอล

ซึ่งสารมาตรฐานพาราเซตามอล 25 มิลลิกรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร

จะได้สารละลายมาตรฐานพาราเซตามอลความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

1.2 ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานคลอเฟนิรามีน มาลิเอท

ซึ่งสารมาตรฐานคลอเฟนิรามีน มาลิเอท 250 มิลลิกรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร

จะได้สารละลายมาตรฐานพาราเซตามอลความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2. การคำนวณหาปริมาณของสารละลายมาตรฐานพาราเซตามอล

2.1 ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

โดย C_1 คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานพาราเซตามอล 0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

V_1 คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานพาราเซตามอล 0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

C_2 คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานพาราเซตามอล 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

V_2 คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานพาราเซตามอล 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

$$(0.6) (25) = (1) (V_2)$$

$$V_2 = 15$$

สรุปได้ว่าการเตรียมสารละลายมาตรฐานพาราเซตามอลที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะต้องใช้สารละลายมาตรฐานพาราเซตามอลความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 15 มิลลิลิตร

2.2 ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

โดย C_1 คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานพาราเซตามอล 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

V_1 คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานพาราเซตามอล 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

C_2 คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานพาราเซตามอล 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

V_2 คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานพาราเซตามอล 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

$$(0.2) (25) = (1) (V_2)$$

$$V_2 = 5$$

สรุปได้ว่าการเตรียมสารละลายมาตรฐานพาราเซตามอลที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะต้องใช้สารละลายมาตรฐานพาราเซตามอลความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 5 มิลลิลิตร

3. การคำนวณหาปริมาณของสารละลายมาตรฐานคลอเฟนิรามีน มาลิเอท

3.1 ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

$$\text{จากสูตร } C_1V_1 = C_2V_2$$

โดย C_1 คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานคลอเฟนิรามีน มาลิเอท 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

V_1 คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานคลอเฟนิรามีน มาลิเอท 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

C_2 คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานคลอเฟนิรามีน มาลิเอท 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

V_2 คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานคลอเฟนิรามีน มาลิเอท 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

$$(3) (25) = (5) (V_2)$$

$$V_2 = 15$$

สรุปได้ว่าการเตรียมสารละลายมาตรฐานคลอเฟนิรามีน มาลิเอทที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะต้องใช้สารละลายมาตรฐานคลอเฟนิรามีน มาลิเอทความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 15 มิลลิลิตร

3.2 ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

$$\text{จากสูตร } C_1V_1 = C_2V_2$$

โดย C_1 คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานคลอเฟนิรามีน มาลิเอท 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

V_1 คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานคลอเฟนิรามีน มาลิเอท 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

C_2 คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานคลอเฟนิรามีน มาลิเอท 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

V_2 คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานคลอเฟนิรามีน มาลิเอท 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

$$(1) (25) = (5) (V_2)$$

$$V_2 = 5$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปได้ว่าการเตรียมสารละลายมาตรฐานคลอเฟนิรามีน มาริเอทที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะต้องใช้สารละลายมาตรฐานคลอเฟนิรามีน มาลิเอทความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 5 มิลลิลิตร

4. คำนวณหาปริมาณพาราเซตามอลในตัวอย่างยาแก้หวัด

จากสมการเส้นตรงจะได้ $y = 5137521.75X + 1645063.0833$

โดย y คือ พื้นที่ใต้พีคของพาราเซตามอลในตัวอย่างยาแก้หวัด

x คือ ความเข้มข้นของพาราเซตามอลในตัวอย่างยาแก้หวัด

แทนค่า $y = 43211985$

$43211985 = 5137521.75X + 1645063.0833$

$x = 8.09$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ดังนั้น ในสารละลาย 1 มิลลิกรัม จะมีพาราเซตามอล 8.09 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารละลาย 25 มิลลิกรัม จะมีพาราเซตามอล 202.27 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สรุปได้ว่าในยาแก้หวัด 1 เม็ดหนัก 451.20 มิลลิกรัม จะมีปริมาณพาราเซตามอล 202.27 มิลลิกรัม

