



# KHẢO SÁT SƠ BỘ HÀM LƯỢNG CURCUMIN TRONG THÂN RỄ NGHỆ VÀNG (*CURCUMA LONGA* L. ZINGIBERACEAE) Ở CÁC VÙNG TRỒNG TRọt BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO

## PRELIMINARY INVESTIGATION OF CURCUMIN CONTENTS IN THE RHIZOME OF THE YELLOW TURMERIC (*CURCUMA LONGA* L. ZINGIBERACEAE) ACCORDING TO CULTIVATED REGIONS BY HPLC METHOD

Lê Thị Ngọc Ngân, Nguyễn Thị Ngọc Hà, Trần Thị Thu Hiền\*

Khoa Dược, Trường Đại học Lạc Hồng, Đồng Nai, Việt Nam  
hientran2369@gmail.com

**TÓM TẮT.** Cây nghệ vàng ngoài được dùng làm gia vị, chất tạo màu còn là một dược liệu được sử dụng từ lâu với tác dụng chống oxy hóa, chống ung thư, kháng viêm và kháng khuẩn. Bộ phận dùng của nghệ vàng là thân rễ với thành phần chính là curcuminoid. Việt Nam có nguồn nghệ phong phú, tuy nhiên hàm lượng và chất lượng nghệ ở mỗi vùng trồng trọt lại khác nhau. Nghiên cứu này đã xây dựng quy trình định lượng curcumin trong nghệ bằng phương pháp HPLC với điều kiện sắc ký bao gồm: cột Agilent – C<sub>18</sub> (250 x 4,6 mm, 5 μm); đầu dò PDA phát hiện tại bước sóng 420 nm; pha động là hỗn hợp acetonitril – acid acetic 2% (45: 55). Quy trình được thẩm định theo ICH đạt độ đặc hiệu, tính tương thích hệ thống, độ lặp lại (RSD = 0,91%), độ đúng với tỷ lệ thu hồi: 99,9% - 102,0%, phương trình hồi quy có dạng:  $y = 88,765x$  và khoảng tuyến tính của curcumin từ 10 μg/ml - 125 μg/ml, hệ số tương quan  $R^2 = 1$ . Ứng dụng quy trình định lượng để khảo sát hàm lượng curcumin trong thân rễ Nghệ vàng thu hoạch ở 6 địa phương cho thấy hàm lượng curcumin cao nhất ở tỉnh Đồng Nai (47,6 mg/g) và Tây Ninh (46,5 mg/g), thấp nhất là Hậu Giang (3,1 mg/g).

**ABSTRACT.** The yellow turmeric has been used not only as a spice, a colorant but also a medicinal herb with antioxidant, anti-cancer, anti-inflammatory and antibacterial effects for a long time. The rhizome is used in turmeric with curcuminoid is the main ingredient. Vietnam has many sources of turmeric, but the content and quality in each region are different. This study was used to quantify curcumin in turmeric powder by the HPLC method with chromatographic conditions are C<sub>18</sub> column (250 mm x 4.6 mm, 5 μm); detector: PDA (420 nm); isocratic mode with mobile phase: acetonitrile – acetic acid 2% (45 : 55). The proposed method was validated according by ICH showing high selectivity, satisfactory system compatibility, precision (RSD = 0.91%), accuracy has recovery rate from 99.9% to 102.0%, linear concentration of curcumin from 10 μg/ml to 125 μg/ml with linear equation  $y = 88.765x$ ,  $R^2 = 1$ . Applying quantitative processes to survey curcumin content in 6 cultivated regions: The highest curcumin content is the turmeric in Dong Nai province (47.6 mg/g) and Tay Ninh province (46.5 mg/g), the lowest is in Hau Giang province (3.1 mg/g).

**TỪ KHOÁ:** Curcumin, nghệ, sắc ký lỏng hiệu năng cao

**KEYWORDS:** Curcumin, turmeric, HPLC

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thân rễ nghệ vàng (*Rhizoma curcumae longae*) đã được biết đến và sử dụng rộng rãi ở nhiều quốc gia với vai trò làm thuốc, gia vị và làm chất tạo màu trong thực phẩm. Các tác dụng ngăn ngừa bệnh Alzheimer, chống oxy hóa, bảo vệ gan, chống ung thư, tiểu đường, kháng viêm và kháng khuẩn, ... là do sự hiện diện của nhóm curcuminoid với curcumin là thành phần chính trong nghệ. Các nghiên cứu gần đây cho thấy tác động ức chế sự tạo khối u của curcumin đã làm mới sự quan tâm của giới khoa học về khả năng ngăn ngừa và điều trị ung thư của nghệ [1, 2]. Như vậy, hàm lượng curcumin sẽ ảnh hưởng đến tác dụng dược lý của nghệ.

Việt Nam có nguồn nghệ phong phú, được trồng khắp cả nước, tuy nhiên chưa có nhiều nghiên cứu đánh giá hàm lượng curcumin trong nghệ được thu hoạch ở các địa phương khác nhau. Các nghiên cứu trên thế giới cho thấy rằng hàm lượng curcumin trong nghệ cũng như thành phần hóa học hầu hết các loại dược liệu thay đổi theo vùng địa lý, có thể do ảnh hưởng bởi điều kiện khí hậu và thổ nhưỡng [3, 4].

Do đó, đề tài được thực hiện với mục tiêu: xây dựng và thẩm định quy trình định lượng curcumin trong nghệ bằng phương pháp HPLC, từ đó ứng dụng vào khảo sát sơ bộ hàm lượng curcumin của các mẫu được thu hoạch từ các vùng trồng trọt khác nhau của Việt Nam.

### 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1 Đối tượng, chất đối chiếu, dung môi và trang thiết bị

##### Đối tượng nghiên cứu

Thân rễ nghệ vàng (*Rhizoma curcumae longae*) được thu hoạch sau 8 - 9 tháng tại 6 tỉnh: Thanh Hóa, Gia Lai, Tây Ninh, Đồng Nai, Bà Rịa Vũng Tàu và Hậu Giang. Thân rễ nghệ được rửa sạch, cắt lát, sấy khô, sau đó xay thành bột mịn. Bột nghệ được xác định độ ẩm theo phương pháp mất khối lượng do làm khô [5]. Bột nghệ Thanh Hóa được dùng

Received: September, 8<sup>th</sup>, 2020

Accepted: November, 27<sup>th</sup>, 2020

\*Corresponding Author

Email: hientran2369@gmail.com

trong khảo sát và thẩm định quy trình định lượng curcumin (Hàm ẩm bột nghệ Thanh Hóa = 9,6%).

### Chất đối chiếu

Curcumin (hàm lượng nguyên trạng: 94,9%), số lô QT209 050317 do Viện Kiểm Nghiệm Thuốc TPHCM cung cấp.

### Dung môi

Acetonitril, acid acetic đạt tiêu chuẩn dùng cho sắc ký (Merck); aceton, ethanol, methanol đạt tiêu chuẩn phân tích.

### Trang thiết bị

Hệ thống HPLC – Agilent 1260 (Mỹ), máy siêu âm Elmasonic S100H (Đức), cân phân tích Sartorius Practum 224 – 1S độ chính xác 0,1 mg (Đức), một số dụng cụ thủy tinh thông dụng dùng trong phòng thí nghiệm.

## 2.2 Phương pháp nghiên cứu

### Điều kiện sắc ký

Pha động: acetonitril – acid acetic 2% (45: 55); cột sắc ký: Cột Agilent – C<sub>18</sub> (250 x 4,6 mm, 5 μm); tốc độ dòng: 1,0 ml/phút; nhiệt độ cột: 25 °C; thể tích tiêm: 20 μl; đầu dò PDA, phát hiện ở bước sóng 420 nm [6, 7].

### Chuẩn bị mẫu

Mẫu chuẩn: dung dịch curcumin chuẩn nồng độ 0,05 mg/ml trong ethanol, lọc qua màng lọc 0,45 μm.

Mẫu thử: dung dịch thử được chiết từ bột nghệ. Cân 0,7 g bột nghệ cho vào bình định mức 50 ml, thêm dung môi pha mẫu đến vạch, siêu âm không gia nhiệt. Để nguội, lọc qua giấy lọc, bỏ 10 đến 20 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác 5 ml dịch lọc sau vào bình định mức 25 ml, thêm dung môi pha mẫu đến vạch. Lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 μm. Dung dịch thu được sau khi lọc là mẫu thử.

Hàm lượng curcumin X (mg) trong 1 g bột nghệ khô được tính theo công thức:

$$X \text{ (mg/g)} = \frac{S_t}{S_c} \times \frac{\text{ĐPL}}{m_{\text{cân}}} \times C_c \times \frac{100}{(100 - H)}$$

Trong đó: S<sub>t</sub>: Diện tích pic của curcumin trong mẫu thử (mAU\*s); S<sub>c</sub>: Diện tích pic của curcumin trong mẫu chuẩn (mAU\*s); C<sub>c</sub>: Nồng độ chất chuẩn curcumin (mg/ml); m<sub>cân</sub>: Khối lượng cân bột nghệ thực tế (g); ĐPL: Độ pha loãng của mẫu; H: Hàm ẩm (%).

### Tiến hành

Khảo sát dung môi pha mẫu và thời gian siêu âm để chọn lựa quy trình xử lý mẫu.

Sau đó thẩm định quy trình định lượng curcumin trong nghệ theo hướng dẫn của ICH [8].

Quy trình sau khi thẩm định sẽ được ứng dụng để khảo sát hàm lượng curcumin trong các mẫu thân rễ nghệ thu hái từ 6 tỉnh thành thuộc các vùng khí hậu và thổ nhưỡng khác nhau của Việt Nam.

## 3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

### 3.1. Khảo sát quy trình xử lý mẫu

Cố định thời gian siêu âm là 15 phút, khảo sát 3 dung môi pha mẫu là methanol, ethanol và aceton.

Cố định dung môi pha mẫu là ethanol, khảo sát 4 thời gian siêu âm là 5, 15, 30 và 45 phút.

Tiến hành sắc ký các mẫu thử, mỗi điều kiện chuẩn bị 3 mẫu độc lập. Kết quả được trình bày ở bảng 1.

**Bảng 1.** Kết quả xử lý mẫu lựa chọn dung môi chiết và thời gian siêu âm.

Đối tượng	Dung môi			Thời gian siêu âm (phút)			
	MeOH	EtOH	Aceton	5	15	30	45
HLTB (mg/g)	20,3	20,2	19,5	19,9	20,2	20,2	20,1
RSD (%)	0,26	1,73	1,30	1,31	1,73	1,68	1,45

### Nhận xét:

**Dung môi:** Kết quả cho thấy chiết với methanol cho hàm lượng curcumin cao nhất, tiếp theo là ethanol và thấp nhất là aceton. Tuy nhiên, kết quả phân tích ANOVA cho thấy hàm lượng curcumin chiết bằng methanol và ethanol khác nhau không có ý nghĩa. Do đó, chọn ethanol làm dung môi pha mẫu vì ethanol có giá thành thấp và ít độc hơn so với methanol.

**Thời gian siêu âm:** hàm lượng curcumin sau khi siêu âm 5 phút là thấp nhất có thể do thời gian chiết quá ngắn sẽ không chiết hết được hoạt chất. Siêu âm 15 phút và 30 phút cho hàm lượng curcumin lớn hơn, tuy nhiên khác nhau không có ý nghĩa thống kê. Siêu âm 45 phút hàm lượng curcumin giảm, có thể là do nhiệt độ tăng lên trong quá trình siêu âm lâu làm ảnh hưởng tới hàm lượng curcumin trong mẫu. Vì vậy, thời gian chiết phù hợp là 15 phút.

### Từ kết quả khảo sát, quy trình xử lý mẫu như sau:

Cân 0,7 g bột nghệ cho vào bình định mức 50 ml, thêm ethanol đến vạch, siêu âm 15 phút. Để nguội, lọc qua giấy lọc, bỏ từ 10 ml đến 20 ml dịch lọc. Lấy chính xác 5 ml dịch lọc sau vào bình định mức 25 ml, thêm ethanol đến vạch. Lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 μm. Dung dịch sau khi lọc thu được là mẫu thử.

Quy trình xử lý mẫu được ứng dụng vào trong thẩm định và khảo sát hàm lượng curcumin trong nghệ ở các tỉnh.

### 3.2. Thẩm định quy trình

#### Tính tương thích hệ thống

Tiến hành sắc ký 6 lần mẫu chuẩn 100%, ghi nhận sắc ký đồ và các thông số sắc ký tương ứng. Kết quả cho thấy giá trị RSD của các thông số sắc ký đều < 2%, hệ số đối xứng 0,8 ≤ A<sub>s</sub> ≤ 1,2, hệ số dung lượng 1 < k' < 8, số đĩa lý thuyết N > 2000 nên quy trình đạt tính tương thích hệ thống.

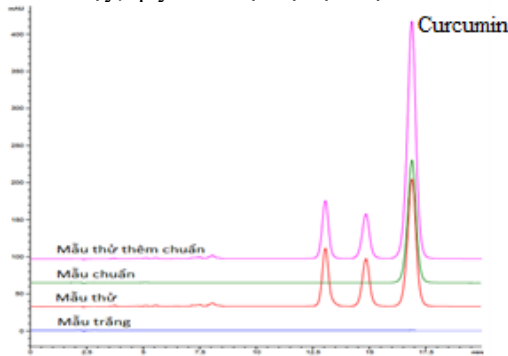
**Bảng 2.** Kết quả tính tương thích hệ thống

Thông số	Thời gian lưu (phút)	Diện tích pic (mAu*s)	A <sub>s</sub>	k'	N
1	17,3	4402,5	0,93	5,8	8763
2	17,4	4517,0	0,93	5,8	8896
3	17,3	4442,0	0,92	5,8	8798
4	17,3	4420,9	0,93	5,8	8770
5	17,3	4432,0	0,92	5,8	8893
6	17,3	4490,4	0,95	5,8	9216
<b>Trung bình</b>	<b>17,3</b>	<b>4450,8</b>	<b>0,93</b>	<b>5,8</b>	<b>8889</b>
<b>RSD (%)</b>	<b>0,1</b>	<b>1,0</b>	<b>1,2</b>	<b>0,1</b>	<b>1,9</b>

#### Độ đặc hiệu

Tiến hành sắc ký mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu thử và mẫu thử thêm chuẩn vào hệ thống HPLC. Kết quả cho thấy sắc ký đồ mẫu trắng không xuất hiện pic ở trong khoảng thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của curcumin chuẩn. Sắc ký

đồ mẫu thử cho pic có thời gian lưu tương tự với pic của curcumin trong sắc ký đồ mẫu chuẩn. Sắc ký đồ mẫu thử thêm chuẩn cho pic có thời gian lưu tương tự với pic curcumin của mẫu chuẩn và mẫu thử nhưng có chiều cao pic lớn hơn. Như vậy, quy trình đạt độ đặc hiệu.



Hình 1. Sắc ký đồ của mẫu trắng, mẫu thử, mẫu chuẩn và mẫu thử thêm chuẩn.

Bảng 3. Thông số sắc ký của độ đặc hiệu

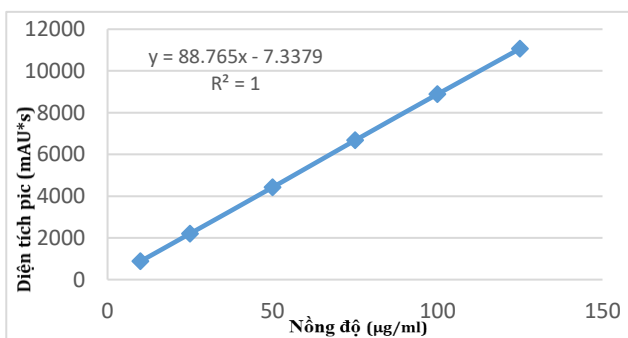
Mẫu	T <sub>R</sub> (phút)	Diện tích pic (mAU*s)	Purity	As
Chuẩn	16,8	4519	999,96	
Thử	16,8	4670	999,96	3,1
Thử thêm chuẩn	16,8	8911	999,95	3,1

### Khoảng tuyến tính

Tiến hành sắc ký dãy mẫu chuẩn curcumin có nồng độ 20%, 50%, 100%, 150%, 200%, 250% so với nồng độ định lượng. Kết quả  $R^2 = 1$  ( $> 0,999$ ) cho thấy có sự tương quan tuyến tính giữa nồng độ và diện tích pic curcumin trong khoảng nồng độ từ 10 µg/ml - 125 µg/ml theo phương trình hồi quy tuyến tính:  $y = 88,765x$ .

Bảng 4. Kết quả sự tương quan giữa diện tích pic và nồng độ curcumin

Nồng độ (%)	Nồng độ (µg/ml)	Diện tích pic (mAU*s)
20	10	879,1
50	25	2204,5
100	50	4420,9
150	75	6673,5
200	100	8887,3
250	125	11065,3



Hình 2. Đường biểu diễn tương quan tuyến tính giữa nồng độ và diện tích pic curcumin

### Độ lặp lại và độ chính xác trung gian

Hai kiểm nghiệm viên, mỗi người phân tích 6 mẫu thử độc lập vào hai ngày khác nhau. Giá trị RSD% kết quả định lượng của mỗi kiểm nghiệm viên đều nhỏ hơn 2,0% và kết quả phân tích ANOVA của cả 2 kiểm nghiệm viên cho thấy hàm lượng curcumin khác nhau không có ý nghĩa. Vậy quy trình định lượng curcumin trong nghệ đạt yêu cầu về độ chính xác trung gian.

Bảng 5. Kết quả xác định độ lặp lại và độ chính xác trung gian

STT	Kiểm nghiệm viên 1		Kiểm nghiệm viên 2	
	T <sub>R</sub> (phút)	Hàm lượng (mg/g)	T <sub>R</sub> (phút)	Hàm lượng (mg/g)
1	17,3	20,4	16,8	19,6
2	17,3	19,8	16,8	20,1
3	17,3	19,7	16,8	19,9
4	17,3	19,6	16,8	20,2
5	17,3	20,1	16,8	20,7
6	17,3	19,8	16,8	20,1
Trung bình: 19,9 (mg/g) RSD: 1,4%			Trung bình: 20,1 (mg/g) RSD: 1,8%	

Kết quả phân tích ANOVA của cả 2 kiểm nghiệm viên cho thấy hàm lượng curcumin khác nhau không có ý nghĩa.

### Độ đúng

Mẫu thử thêm chuẩn: Cân 0,7 g bột nghệ cho vào bình định mức 50 ml, thêm chính xác 1 lượng dung dịch mẫu chuẩn gốc tương ứng 3 mức nồng độ curcumin định lượng là 80%, 100% và 120% rồi thêm ethanol đến vạch, siêu âm 15 phút. Để nguội, lọc qua giấy lọc, bỏ từ 10 ml đến 20 ml dịch lọc. Lấy chính xác 5 ml dịch lọc sau vào bình định mức 25 ml, thêm ethanol đến vạch. Lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm. Mỗi mức nồng độ làm 3 mẫu độc lập.

Tiến hành sắc ký 9 mẫu thử thêm chuẩn ở 3 nồng độ, kết quả cho thấy tỷ lệ thu hồi trong khoảng 98% - 102% và giá trị RSD < 2%. Vậy, quy trình định lượng curcumin đạt yêu cầu về độ đúng.

Bảng 6. Kết quả xác định độ đúng

Mẫu	Lượng chuẩn thêm vào (mg)	Lượng chuẩn tìm lại (mg)	Tỷ lệ thu hồi (%)	Trung bình	RSD (%)
80%	10,0	10,0	100,0	100,9	0,85
		10,1	100,6		
		10,3	102,0		
100%	12,6	12,6	100,5	100,8	0,80
		12,8	101,9		
		12,6	99,9		
120%	15,1	15,2	101,1	101,2	0,05
		15,3	101,2		
		15,3	101,3		

**Nhận xét chung:** Kết quả thẩm định cho thấy quy trình định lượng curcumin trong nghệ bằng phương pháp HPLC với đầu dò DAD đạt tất cả các yêu cầu về tính tương thích hệ thống, độ đặc hiệu, khoảng tuyến tính, độ chính xác, độ chính xác trung gian và độ đúng.

### 3.3. Ứng dụng khảo sát hàm lượng curcumin trong thân rễ nghệ thu hái ở các địa phương

Các mẫu khảo sát được xử lý chung theo qui trình xử lý mẫu thử. Chuẩn bị mỗi dịch chiết bột nghệ 3 mẫu độc lập (n = 3) rồi tiêm vào hệ thống HPLC, ghi nhận sắc ký đồ và tính toán hàm lượng curcumin trong mỗi mẫu khảo sát tương ứng.

**Bảng 7.** Kết quả khảo sát hàm lượng curcumin trong các mẫu khảo sát

Vùng thu hái	Tỉnh	Hàm lượng TB (mg/g)	RSD (%)
Bắc Trung Bộ	Thanh Hóa	19,0	1,11
Tây Nguyên	Gia Lai	6,0	1,43
	Tây Ninh	46,5	0,94
Đông Nam Bộ	Đồng Nai	47,6	1,07
	Bà Rịa Vũng Tàu	18,9	2,57
Tây Nam Bộ	Hậu Giang	3,1	0,90

**Nhận xét:** Hàm lượng curcumin trong thân rễ nghệ vàng có sự khác biệt rất lớn ở các địa phương. Trong đó, hàm lượng curcumin trong nghệ thu hoạch ở Tây Ninh, Đồng Nai cao nhất (khoảng 47 mg/g) đến Thanh Hóa và Bà Rịa – Vũng Tàu (khoảng 19 mg/g) và thấp nhất ở Gia Lai, Hậu Giang (< 6 mg/g). Nguyên nhân có thể do nguồn nguyên liệu nghệ ban đầu, điều kiện khí hậu, thổ nhưỡng và chăm sóc ở mỗi vùng là yếu tố ảnh hưởng đến hàm lượng curcumin.

Kết quả cho thấy hàm lượng curcumin trong thân rễ nghệ thu hoạch ở tỉnh Tây Ninh và Đồng Nai cao hơn các tỉnh khác có thể do hai tỉnh này có khí hậu nóng quanh năm và lượng mưa thấp. Các tỉnh như Thanh Hóa, Bà Rịa Vũng Tàu, Gia Lai cũng bị ảnh hưởng bởi khí hậu nóng ẩm nhưng do có lượng mưa nhiều nên dẫn đến hàm lượng curcumin trong nghệ thấp hơn. Cuối cùng, tỉnh Hậu Giang do thuộc khu vực có sông ngòi dày đặc và lượng mưa lớn trong năm nên có hàm lượng curcumin trong nghệ thấp nhất.

Kết quả ban đầu này sẽ là những gợi ý trong việc lựa chọn nguồn nguyên liệu, giúp cho nhà quản lý định hướng phát triển vùng trồng nghệ vàng, là cơ sở khoa học cho các nhà sản xuất sản phẩm curcumin từ Nghệ lựa chọn nguồn nguyên liệu.

#### 4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng quy trình định lượng curcumin trong nghệ bằng phương pháp HPLC, mẫu thử được siêu âm với ethanol trong 15 phút. Quy trình được thẩm định theo ICH đạt các chỉ tiêu tính tương thích hệ thống, độ đặc hiệu, tính tuyến tính, độ lặp lại và độ đúng. Ứng dụng quy trình định lượng để khảo sát hàm lượng curcumin trong nghệ ở 6 tỉnh thành và kết quả cho thấy hàm lượng curcumin khác biệt rất lớn ở các địa phương, hàm lượng curcumin trong nghệ thu hoạch ở Đồng Nai và Tây Ninh lớn hơn so với các vùng khác.

#### 5. LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin gửi lời cảm ơn đến Trường đại học Lạc Hồng đã tạo điều kiện và hỗ trợ kinh phí cho đề tài cấp cơ sở, mã số LHU-RF-TE-19-04-08.

#### 6. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] P. N. Ravindran, K. Nirmal Babu, et al., Turmeric: the genus *Curcuma*, Chapter: Curcumin - Biological and Medicinal Properties, **2006**, 299.
- [2] S. Shishodia, M. M. Chaturvedi, and B. B. Aggarwal, Role of curcumin in cancer therapy, *Curr Probl Cancer*, **2007**, 31, 243 - 305.
- [3] H. K. Sharma et al., Comparison of curcumin content of some turmeric samples collected from different places of Northeast India, *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, **2016**, 3 (5), 440-445.
- [4] Cheryl E. Green and Sylvia A. Mitchell, The effects of blanching, harvest time and location (with a minor look at postharvest blighting) on oleoresin yields, percent curcuminoids and levels of antioxidant activity of turmeric (*Curcuma longa*) rhizomes grown in Jamaica, *Modern Chemistry & Applications*, **2014**, 2 (4), 2-9.
- [5] Bộ Y tế, Dược điển Việt Nam, NXB Y học, **2018**, tập 2, 1264 – 1265, PL 203.
- [6] Nguyễn Tường Vân, Vĩnh Định, Xây dựng tiêu chuẩn cơ sở viên nang mềm chứa nanocurcumin, *Y học Thành phố Hồ Chí Minh*, **2018**, phụ bản tập 22 (1), 155 – 161.
- [7] Trịnh Hoàng Dương, Hà Diệu Ly, Chiết xuất curcumin từ củ nghệ vàng (*Rhizoma Curcumae longae*) và xây dựng bộ dữ liệu chuẩn của curcumin để thiết lập chất chuẩn chiết từ dược liệu, *Tạp chí Dược học*, **2011**, 424, 26 – 29.
- [8] ICH Harmonised Tripartite Guideline, Validation of analytical procedures: Text and methodology, **2005**, 1-13.