

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ตัวอย่างในการวิจัย

กระดุมทองเลื้อยที่เก็บจากบริเวณหน้าอาคารเฉลิมพระเกียรติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลรัตนโกสินทร์ ศาลายา

3.2 เครื่องมือการทดลองและสารเคมี

เครื่องมือการทดลอง

เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer รุ่น Genesys 10 Series)

เครื่องระเหยตัวทำละลายแบบหมุน (Rotatory evaporator)

สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการทดลองเป็นชนิดคุณภาพวิเคราะห์ (analytical grade)

1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH)

Ethanol

3.3 วิธีการทดลอง

การเตรียมตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย

นำตัวอย่างดอกและใบของกระดุมทองเลื้อยแห้งที่หั่นเป็นชิ้นเล็ก 10 กรัม สกัดตัวอย่างดอกและใบกระดุมทองเลื้อยด้วยเอทานอล (Ethanol) ปริมาตร 100 ml เป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นกรองและระเหยเอทานอลออกจากส่วนสกัด ด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลายแบบหมุน ที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส จะได้ส่วนสกัดหยาบเอทานอลของดอกและใบกระดุมทองเลื้อย

การทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่อ DPPH[•] (ธนาวัฒน์, 2555)

นำสารสกัดแต่ละชนิดมาเตรียมเป็นสารละลายตัวอย่างที่มีความเข้มข้นต่างๆ ในเอทานอล จากนั้น ปิเปตสารละลายตัวอย่างมา 1 ml แล้วเติมสารละลาย 0.2 mM DPPH ปริมาตร 2 ml ลงไปผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 518 nm ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง เปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งใส่เอทานอลแทนสารสกัด หลังจากนั้นคำนวณหาร้อยละของฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ ดังนี้

$$\% \text{ DPPH inhibition} = [(A_c - A_s) / A_c] \times 100$$

เมื่อ A_c คือ absorbance of control

A_s คือ absorbance of sample

และคำนวณหาค่า IC_{50} (ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถดักจับอนุมูล DPPH[•] ได้ 50%) จากกราฟ % DPPH inhibition กับความเข้มข้นของสารสกัด