

บทที่ 2

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดพรมมิ

1.1 ตัวอย่างพืช

ตัวอย่างพรมมิได้จากจังหวัดเพชรบุรีเก็บในช่วงเดือนมกราคม-เมษายน ปี 2548 จัดหาให้โดย คุณคุณุณี ผ่องแผ้ว บริษัท Health and Herbs ตัวอย่างเป็นส่วนเหนือดินซึ่งถูกทำให้แห้งโดยวิธีผึ่งลมเป็นเวลา 3 วัน แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเป็นเวลา 1 วัน ตัวอย่างพืชแห้งถูกนำไปบดเป็นผงหยาบ

ตัวอย่างพรมมิได้รับการพิสูจน์เอกลักษณ์โดย รศ. ดร. วงศ์สถิตย์ นั้วกุล คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล Voucher specimen (Phrompittayarat001, 002 และ 003) เก็บไว้ที่ PBM Herbarium มหาวิทยาลัยมหิดล

1.2 การควบคุมคุณภาพพรมมิ

ผู้วิจัยได้ควบคุมคุณภาพวัตถุดิบพรมมิและสารสกัดที่ใช้ในการศึกษาตามรายละเอียดที่ ดร. กรกนก อิงคินันท์ และ คณะได้รายงาน (Phrompittayarat, W., Wittaya-areekul, S., Jetiyanon, K., Putalun, W., Tanaka, H., and Ingkaninan, K. 2007)

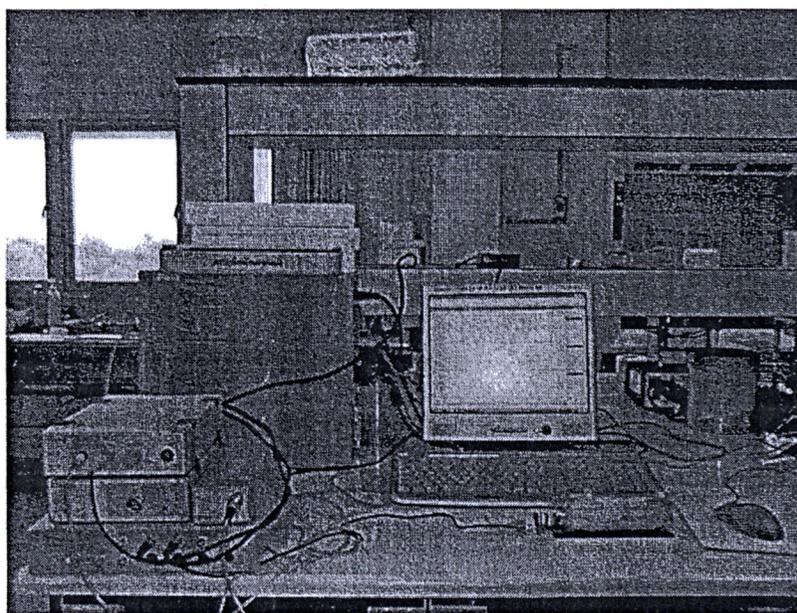
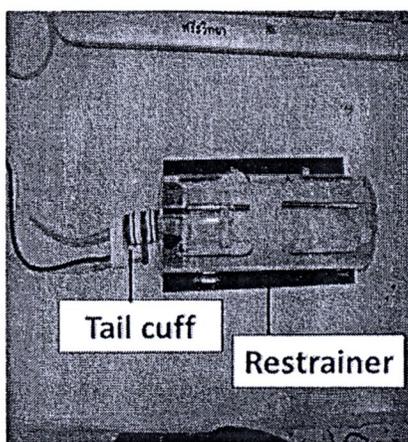
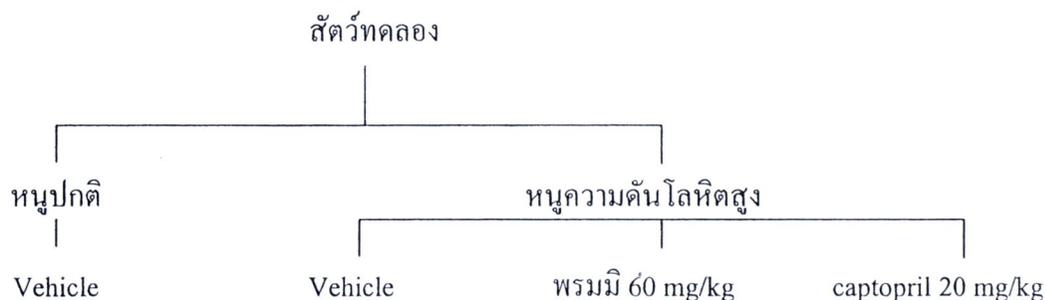
1.3 การสกัดพรมมิ

นำพรมมิส่วนเหนือดิน ซึ่งได้จากบริษัท Health and Herbs จำกัด จังหวัดเพชรบุรี อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส แล้วนำไปบดให้ได้ผงหยาบของพรมมิหนัก 18 กิโลกรัม หมักในน้ำให้ชุ่มแช่ไว้ 24 ชั่วโมง แล้วคั้นน้ำออกให้หมด นำพรมมิที่หมักน้ำแล้ว ผ่าน percolator (รุ่น TC 201 ผลิตโดยบริษัท GBF Co., Ltd. ขนาดความจุ 2000) โดยปล่อยให้ น้ำยาสกัดคือ เอทิลแอลกอฮอล์ผ่านพรมมิ และผ่านแผ่นกรองออกจากเครื่อง แล้วบีบวนสารสกัดเดิมใช้เวลา 8 ชั่วโมง แล้วเปลี่ยนเอทิลแอลกอฮอล์ใหม่ ทำวิธีการเดิมที่ใช้เครื่อง percolator ทำการสกัดอีก 2 ครั้ง นำสารละลายที่สกัดได้ทั้งหมดมารวมกัน และนำไประเหยแห้งโดยให้เครื่องระเหยแห้งแบบสูญญากาศ (รุ่น TCV201 ผลิตโดยบริษัท GBF Co., Ltd ขนาดความจุ 60 ลิตร) แล้วชั่งสารสกัดที่ได้ คำนวณ % yield

2. วิธีการดำเนินการวิจัยเพื่อศึกษาฤทธิ์ของพรมมิที่มีต่อความดันโลหิตและอัตราการเต้นของหัวใจ

สัตว์ทดลองที่ใช้ คือ หนู (Wistar Rat) เพศผู้ (200-250 กรัม) สั่งซื้อจากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตศาลายา จังหวัดนครปฐม หนูทุกตัวจะถูกนำมาเลี้ยงอย่างน้อย 1 สัปดาห์ ก่อนการทดลอง ณ ห้องสัตว์ทดลอง คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยถูกเลี้ยงอย่างอิสระ ภายใต้การควบคุมแสงสว่าง 12:12 hr light:dark cycle และ ปรับอุณหภูมิให้เหมาะสม โดยจะมีการฝึกให้สัตว์ทดลองได้คุ้นเคยกับ rest trainer ก่อนจะเริ่มวัดความดันเลือด การวัดความดันเลือดทางหางใน

ขณะที่สัตว์ทดลองมีสติ สัตว์ทดลองจะถูกเหนี่ยวนำให้มีภาวะความดันโลหิตสูงโดยการได้รับสาร L-NAME ผสมในน้ำดื่มในขนาด 50 mg/kg BW เป็นเวลาติดต่อกันนานประมาณ 3 สัปดาห์จนมีความดันเลือดขณะหัวใจบีบตัว (Systolic blood pressure) สูงไม่น้อยกว่า 160 mmHg สัตว์ทดลองจะถูกแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม



Tail cuff method for Systolic Blood Pressure Measurement (SBP)

Diagram แสดงการวัดความดันโลหิตจากหางหนู

3. วิเคราะห์ผลการทดลอง

ข้อมูลที่ได้จากการวิจัยจะเป็นข้อมูลเชิงปริมาณซึ่งจะถูกนำมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยการหาค่าเฉลี่ย (Mean) และ ความน่าเชื่อถือของค่าเฉลี่ยโดยใช้ค่า standard error of the mean (S.E.M) การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มควบคุม และ กลุ่มที่ได้รับสารสกัด หรือ ยามาตรฐาน จะทำโดยวิธี Student t-test และ ANOVA ตามความเหมาะสม ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับลักษณะและจำนวนกลุ่มของข้อมูลที่ต้องการเปรียบเทียบความแตกต่าง และ ค่า p value < 0.05 ถือว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ