

นำของเหลวขึ้นหนึบที่ได้ไปปั๊งโดยเครื่องชั่ง 4 ตัวແນน่ง 50 mg ปรับปริมาตรโดย volumetric flask

ขนาด 25 ml ด้วย ethanol

เจือจางสารสกัด 2,000 ppm ให้เป็น 5 ความเข้มข้น ได้แก่ 62.5 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1,000 ppm โดยใช้ปริมาตรสารสกัดดังนี้ 31.2 μ l, 62.5 μ l, 125 μ l, 250 μ l, 500 μ l ตามลำดับ

เตรียม standard โดยใช้ Ascorbic acid ชั่งมา 0.01 g ปรับปริมาตรด้วย ethanol ใน volumetric flask 100 ml จะได้ Ascorbic acid 100 ppm 5 ความเข้มข้น ได้แก่ 1.56 ppm, 3.12 ppm, 6.25 ppm, 25 ppm โดยใช้ปริมาตรดังนี้ 15.6 μ l, 31.2 μ l, 62.5 μ l, 125 μ l, 250 μ l ตามลำดับ

เตรียม DPPH solution (ใน ethanol) 60 ppm เติมในสารสกัดและใน Ascorbic acid ทุกหลอด(เตรียม DPPH solution ไว้ $50,000 \mu$ l = 50 ml) หลอดละ 1,000 μ l และเตรียมลงใน control 1,000 μ l

(+ethanol 1,000 μ l)

ปิดด้วยกระดาษ Foil เก็บในที่มีดี 30 นาที

จากนั้นนำสารในหลอดทดลองแต่ละหลอดไปวัดค่าการคุณลักษณะที่ $\lambda = 517 \text{ nm}$ ไปเปรียบเทียบ กับค่าการคุณลักษณะของ control และสารมาตรฐาน

Plot กราฟ ซึ่งแกน Y เป็น % radical scavenging แกน x เป็นความเข้มข้น(ppm) ด้วย exel ซึ่งจะได้ สมการกราฟเส้นตรงออกมา

ค่า R^2 ควรใกล้เคียงกับ 1 จากนั้น หาค่า EC_{50} โดยแทนค่า $Y=50$ ลงในสมการของกราฟ แล้วจะได้ค่า X ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นของสารที่สกัด

ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำดอกอัญชัน โดยด้วยสาร 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) (Erasto and Others. 2004 : 875-880) เปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน ascorbic acid โดยเตรียมสารต้านอนุมูลอิสระเสียร DPPH ให้มีความเข้มข้น 0.1 % ในโตรกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาคผนวก ก) โดยใช้อ Ethanol เป็นตัวทำละลาย นำมาผสมกับสารตัวอย่าง ในปริมาตรที่เท่ากัน ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปเก็บไว้ในที่มีดี เป็นเวลา 30 นาที แล้ววัดค่าการกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร (Naik and Others. 2003 : 97-104) ซึ่งมีหลักการทดสอบคือ สาร DPPH เป็นสารที่มีสีม่วง-เขียว สามารถคุณลักษณะได้เมื่อทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สาร

ตัวอย่างจะมีสีเขียวจางลงและจะมีค่าในการดูดกลืนแสงลดลง นำค่าที่ได้มาคำนวณร้อยละการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (scavenging(%)) (Zhishen and others. 1997 : 555-559)

$$\text{Scavenging (\%)} = ((A - A_1)/A) \times 100$$

เมื่อกำหนนค่าให้ A คือค่าการดูดกลืนแสงของ Control

A₁ คือค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างหลังทำปฏิกิริยาด้วย DPPH

ค่า scavenging (%) ที่ได้นำมาใช้ในการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากดอกอัญชันในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน

3.3.2 การผลิตน้ำดอกอัญชัน

มีขั้นตอนการผลิตดังนี้
1. มีขั้นตอนการผลิตดังนี้
2. นำส่วนผสม

- น้ำดอกอัญชัน 1 ถ้วย
- น้ำเชื่อม 4 ช้อน โต๊ะ
- น้ำผึ้ง 2 ช้อน โต๊ะ

วิธีทำ

2.1 วิธีทำน้ำดอกอัญชัน : นำดอกอัญชันสด 100 กรัม ล้างน้ำให้สะอาด ใส่หม้อ เติมน้ำเปล่า 2 ถ้วย ต้มจนเดือด ปิดฝาทิ้งไว้ ประมาณ 2-3 นาที แล้วกรองดอกอัญชันขึ้นจากหม้อต้ม

2.2 วิธีทำน้ำเชื่อม : น้ำเปล่า 500 กรัม, น้ำตาลทราย 500 กรัม

2.3 นำน้ำดอกอัญชัน น้ำเชื่อม และน้ำผึ้งผสมรวมกัน

3.3.3 ศึกษาการยอมรับ (Sensory Test)

ทำการทดสอบทางด้านรสชาติสัมผัส ผลิตภัณฑ์น้ำดอกอัญชัน มีรายละเอียดการดำเนินการวิจัยดังต่อไปนี้

นำน้ำดอกอัญชัน ใส่ในแก้วพลาสติกปริมาณ $\frac{1}{4}$ แก้ว พร้อมให้รหัสเป็นตัวเลข 3 หลัก โดยใช้ตามตัวเลขในตารางสุ่ม (ปราสาทอ่านเปรื่อง. 2547 : 70-71) อธิบายวิธีการและขั้นตอนการประเมินคุณภาพน้ำดอกอัญชัน แก่ผู้ทดลองก่อนทำการประเมิน เติร์ฟน้ำดื่มที่ใช้บวบปากระหว่างชิมตัวอย่างผลิตภัณฑ์น้ำดอกอัญชัน พร้อมทั้งใบลงทะเบียนขนาดกระดาษ A4 ที่แสดงเรื่องให้ทดลองในด้านสี กลิ่น รสชาติ การยอมรับรวม โดยให้ลงคะแนนระดับความพอใจจากไม่ชอบมากถึงชอบมาก 9 คะแนน (Hedonic 9 Scales-Test)(แสดงในภาคผนวก ๑) ให้แก่ผู้ทดสอบ