บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ขั้นตอนที่ 1 การเพาะเลี้ยงแคลลัส

อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

ก. เครื่องแก้ว

1. ขวดแก้วขนาด 2 ออนซ์ พร้อมฝาปิด
2. ขวดแก้วขนาด 4 ออนซ์ พร้อมฝาปิด
3. ขวดแก้วขนาด 8 ออนซ์ พร้อมฝาปิด
4. บีกเกอร์ขนาด 30, 50, 100, 500 1000 และ 2000 มิลลิลิตร
5. ขวดปรับปริมาตรขนาด 100, 500 และ 1000 มิลลิลิตร
6. กระบอกตวงขนาด 100 และ 500 มิลลิลิตร
7. ปิเปตขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร
8. จานแก้วเพาะเลี้ยง (Petri dish)
9. แท่งแก้วคนสาร

ข. อุปกรณ์อื่นๆ ที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

1. กระดาษทิชชู
2. กระดาษหนังสือพิมพ์
3. ลูกยางพร้อมปลายทิป
4. ช้อนตักสาร
5. แผ่นให้ความร้อน (Hot plate)
6. เครื่องกวนสาร (Magnetic Stirrer)
7. เครื่องวัด pH (pH meter รุ่น CONSORT P800, Romania)
8. เครื่องชั่งความละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง (รุ่น Precisa 4000C, Switzerland)
9. เครื่องชั่งความละเอียดทศนิยม 5 ตำแหน่ง (Sartorius รุ่น RC 201D, Germany)
10. เตาไมโครเวฟ (Microwave รุ่น NATIONAL DIMENSION 4)
11. ตู้อบเครื่องแก้ว (Hot airoven รุ่น NATIONAL DIMENSION 4)
12. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave รุ่น TOMY SS-325. Tokyo Jepan)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ค. อุปกรณ์การถ่ายเนื้อเยื่อ

1. ปากคีบ
2. สำลี
3. กระดาษฟาง
4. กรรไกร
5. จานแก้วเพาะเลี้ยง (Petri dish)
6. ตะเกียงแอลกอฮอล์ พร้อมไม้ขีด
7. อลูมิเนียมฟอยล์ (Aluminium foil)
8. ตะแกรงสแตนเลสขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 เซนติเมตร
9. ด้ามมีดผ่าตัดเบอร์ 3 และ 4 พร้อมใบมีดผ่าตัดเบอร์ 11 และ 21
10. ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ Laminar airflow cabinet (Astec HLF 1200 E)

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

ก. สารเคมีที่ใช้เตรียมอาหาร

1. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตรดัดแปลง MS (Gamborg *et al*, 1981)
2. วุ้น (Agar บริษัท Hardy Diagnostics, USA)
3. น้ำกลั่น
4. น้ำตาลทราย

ข. สารควบคุมการเจริญเติบโต

1. 2,4-Dicholophenoxy acetic acid (2,4-D) สูตรเคมี $C_8H_6C_{12}O_3$ (Fluka, Switzerland)
2. 6-Benzyladenine (BA) สูตรเคมี $C_{12}H_{11}N_5$ (Fluka, Hungary)

ค. สารเคมีที่ใช้ฟอกฆ่าเชื้อและทำความสะอาดที่ผิว

1. คลอร็อกซ์
2. แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์
3. แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์
4. Tween-20 (Polyxyethylene sorbitan monolaurate)
5. น้ำยาล้างจาน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมอาหาร

1.1 อาหารเพาะเลี้ยงต้นกล้า

เตรียมอาหารดัดแปลงสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน โดยใช้ความดัน 15.0 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

1.2 อาหารชักนำแคลลัส

เตรียมอาหารสูตรดัดแปลง MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (ดังตารางที่ 3-1) แล้วนำอาหารที่เตรียมนึ่ง ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน โดยใช้ความดัน 15.0 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

ตารางที่ 3-1 ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงแคลลัสบนอาหารชักนำสูตร MS

2,4-D (mg/l) / BA (mg/l)	0.0	0.1	0.2
0.5	T1	T2	T3
1.0	T4	T5	T6
2.0	T7	T8	T9

2. การฟอกฆ่าเชื้อผิว

2.1 นำเมล็ดมะระขี้นกและมะระจีน มาแกะเปลือก(seed coat) ออกโดยใช้ปากคีบที่ฆ่าเชื้อแล้วขบให้แตก เพื่อนำเมล็ดด้านในออกมาทำความสะอาด

2.2 นำเมล็ดที่ขบได้มาแช่ในน้ำที่ผสมน้ำยาล้างจานเจือจาง พร้อมเขย่านาน 2 นาที ล้างออกด้วยน้ำประปาจนหมดฟอง ครั้งสุดท้ายจะกรองเมล็ดด้วยตะแกรงล้างผ่านด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 3 วินาที

2.3 วางตะแกรงลงบนกระดาษฟางเพื่อซับน้ำออกจากเมล็ดให้หมด

2.4 เทเมล็ดลงในขวดที่มีน้ำยาคลอรอกซ์ 20 เปอร์เซ็นต์ที่ผสม Tween-20 (2 หยด) และเขย่านาน 20 นาที

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.5 นำเมล็ดใส่ในน้ำยาคลอร็อกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ที่ผสม Tween-20 (2 หยด) นาน 5 นาที แล้วนำไปทำต่อในตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ โดยเทเมล็ดลงในตะแกรง ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งหรือจนหมดฟอง จึงนำเมล็ดแช่ในน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วในจานเพาะเลี้ยง แล้วทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง

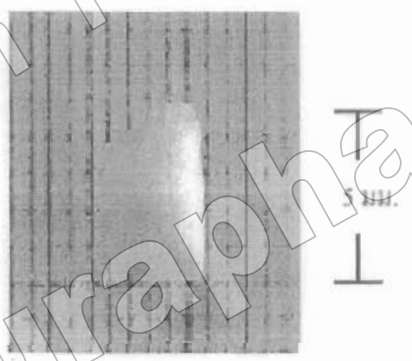
3. การเพาะเลี้ยง

3.1 การเพาะเลี้ยงต้นกล้า

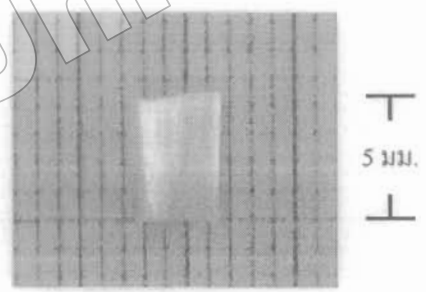
เมล็ดที่แช่น้ำจากขั้นตอน 2.5 มาคัดเมล็ดที่มีขนาดใหญ่ ลักษณะสมบูรณ์ แล้วซับด้วยกระดาษฟางที่ฆ่าเชื้อแล้วบนจานเพาะเลี้ยงขนาดใหญ่ จากนั้นนำไปวางลงในอาหารเพาะต้นกล้าที่เตรียมไว้ตามข้อ 1.1 เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 15 วัน เมล็ดจะงอกพอดีใช้

3.2 การเตรียมชิ้นส่วนมะระขี้นก

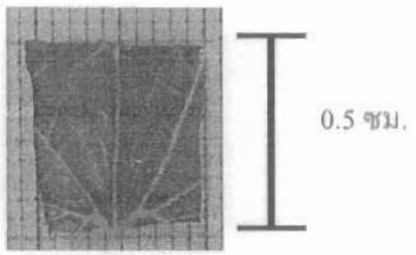
ตัดแยกชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยง (hypocotyls) ใบเลี้ยง (cotyledon) ใบ และปล้อง ดังในภาพ



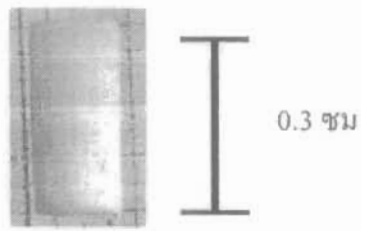
ชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยง



ชิ้นส่วนใบเลี้ยง



ชิ้นส่วนใบ

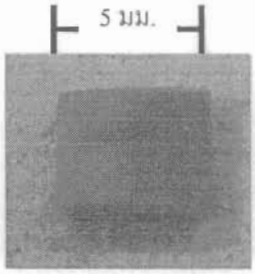


ชิ้นส่วนปล้อง

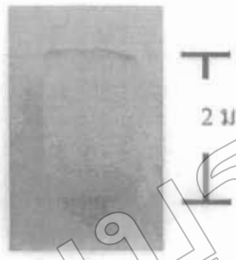
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3.3 การเตรียมชิ้นส่วนมะระจีน

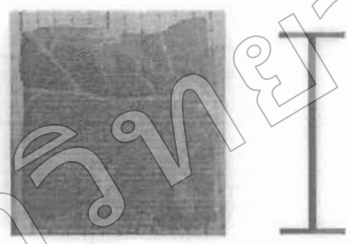
ตัดแยกชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยง (hypocotyls) ใบเลี้ยง (cotyledon) ใบ และใบเลี้ยงจากเมล็ด



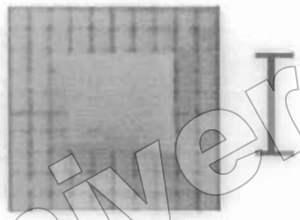
ชิ้นส่วนใบเลี้ยง



ชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยง



ชิ้นส่วนใบ



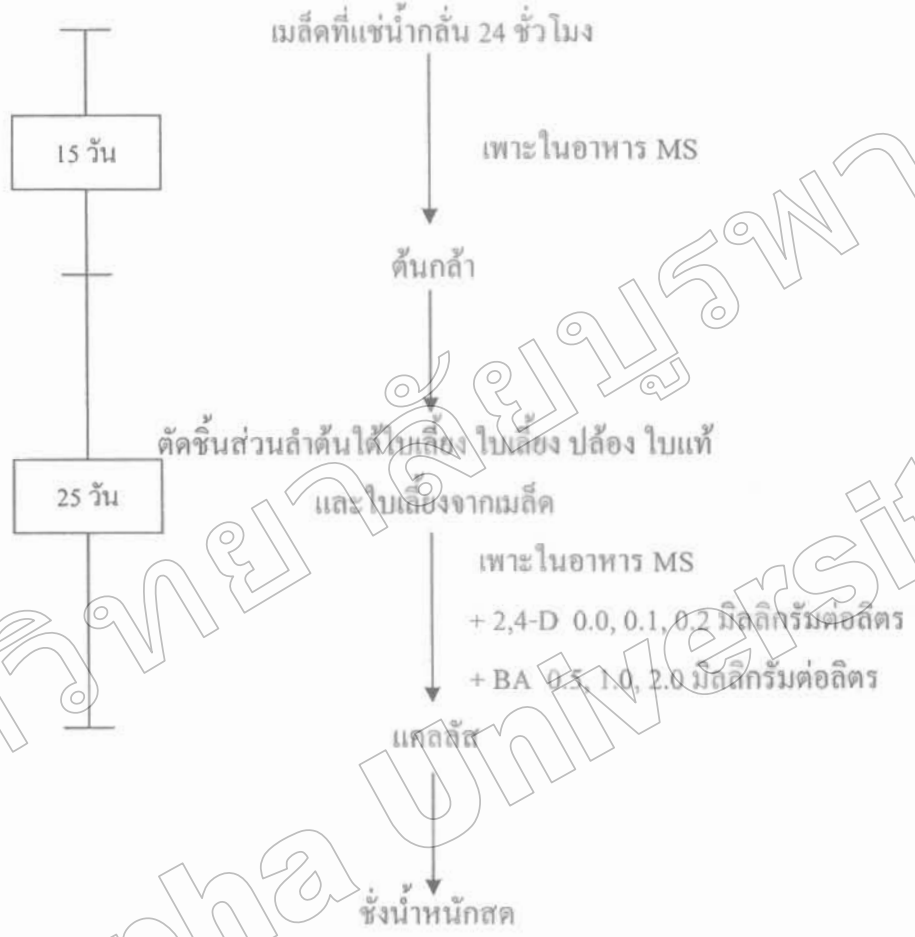
ชิ้นส่วนใบเลี้ยงจากเมล็ด

3.4 การชักนำให้เกิดแคลลัส

นำชิ้นส่วนต่าง ๆ มาเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตตามตารางที่ 3-1 เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25±3 องศาเซลเซียส ให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 25 วัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

แผนผังการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนต่างๆของมะระขี้นกและมะระจีน



ภาพที่ 3-1 แผนผังแสดงวิธีดำเนินการทดลอง

4. วิธีวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติน้ำหนักของแคลลัส

วิเคราะห์ข้อมูลการทดลองแบบ 3x3 Factorial Desing ตัวแปรที่ศึกษา คือ ปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Dancan's New Multiple Range Test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ขั้นตอนที่ 2 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH$^{\bullet}$ และ ABTS$^{\bullet+}$ ของแคลลัสมะระจีน และมะระขี้นก

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven) (1350 FX, Shel Lab, U.S.A)
2. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) (AT 110, Jouan S/N, Denmark)
3. เครื่องเขย่า (Platform Shaker) (Innova 2050, New Brunswick Scientific, U.S.A)
4. เครื่องบดลดขนาด (SS110 Pulverizer, Waring Commercial, U.S.A)
5. เครื่องทำแห้งแบบระเหิด (Freeze Dryer) (FTS Flexi-Dry MP, U.S.A)
6. เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Genesys , Spectronic, U.S.A)
7. เครื่องอัลตร้าโซนิค (Ultrasonic Cleaner) (TRU-Sweep, Singapore)
8. เครื่องเขย่าผสมสาร (Vortex Mixer) (REAX 2000, Heidolph, Germany)
9. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Sartorius, AC211S, Thailand)
10. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius, AC211S, Thailand)
11. กระดาษกรองวอทแมนเบอร์ 1 (Whatman No. 1) (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร บริษัท Schleicher & Schuell, Germany)
12. โถดูดความชื้น (Desiccator)
13. เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)
14. นาฬิกาจับเวลา
15. กระจกนาฬิกา
16. ออโต้ปิเปต
17. ปิเปต ชนิดมีสเกล (Graduate Pipette)
18. ปิเปต ชนิดมอห์ร (Mohr Pipette)
19. คิวเวตต์ ขนาดช่องแสงผ่าน 10 มิลลิเมตร ชนิดควอทซ์
20. คิวเวตต์คอรูปตัววาย ขนาดช่องแสงผ่าน 10 มิลลิเมตร ชนิดพลาสติก
21. ถุงพลาสติกโพลีเอทธีลีน ชนิดความหนาแน่นต่ำ ขนาด 18 × 20.5 เซนติเมตร
22. เครื่องแก้วต่างๆ เช่น หลอดทดลอง ขวดปรับปริมาตรสีชา บีกเกอร์ ขวดรูปกรวย ขวดปรับปริมาตร กระบอกตวง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารเคมี

1. เมทานอลบริสุทธิ์ (Absolute Methanol (CH_3OH), 99.8 %, AR Grade, Merck, Germany)

2. ฟอลิน ซิโอแคลตู รีเอเจนต์ (Folin-Ciocalteu Reagent) (Carlo Erba Reactifs SA, France)

3. โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium Carbonate Anhydrous (Na_2CO_3), Ajax Finechem, New Zealand)

4. กรดแกลลิก (Gallic Acid ($C_7H_6O_5$), HPLC Grade, 98% purity, Fluka, Germany)

5. ดีพีพีเอช (DPPH; 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl ($C_{18}H_{12}N_5O_6$), Fluka, Germany)

6. เอบีทีเอส (ABTS; 2, 2-Azinobis-(3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic acid ($C_{18}H_{24}N_6O_6S_4$), HPLC Grade, Fluka, Germany)

7. โปแตสเซียมเปอร์ซัลเฟต (Potassium Persulphate ($K_2S_2O_8$), AR Grade, Mallinckrodt, New York)

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมตัวอย่าง

นำแคลลัสมะระขี้นก และมะระขี้นก ชั่งน้ำหนัก และเก็บในตู้ Deep Freeze ที่อุณหภูมิ -64±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำเข้าเครื่องทำแห้งแบบระเหิด ที่อุณหภูมิ -52±2 องศาเซลเซียส จนเหลือความดันของเครื่องทำแห้งแบบระเหิดที่ 230 มิลลิปรอท (ประมาณ 72 ชั่วโมง) จากนั้นบดส่วนของแคลลัสของมะระ ให้ละเอียดเป็นผงด้วยเครื่องบดลดขนาด Waring Commercial บรรจุผงส่วนของของแคลลัสของมะระที่ได้ใส่ถุงโพลีเอทธีลีนปิดสนิท เก็บที่อุณหภูมิ 0±2 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำมาวิเคราะห์ (Horax et al, 2005)

2 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในส่วนต่างๆของแคลลัส

2.1 การสกัดสารประกอบฟีนอลทั้งหมดจากส่วนต่างๆของแคลลัสเพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด

ชั่งผงแคลลัสจำนวน 50 มิลลิกรัม ด้วยเครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง ใส่ในหลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 10 มิลลิลิตร (ทำ 3 ซ้ำ) จากนั้นปิเปตสารละลายเมทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดตัวอย่างแต่ละหลอด วางหลอดตัวอย่างใส่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 60 ± 2 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที เมื่อครบเวลาทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แยก

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ส่วนใสจากของผสมโดยการกรองด้วยกระดาษกรองวอทแมนเบอร์ 1 ใส่ลงในหลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 10 มิลลิลิตร ปิดฝา เก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 8±1 องศาเซลเซียส รอการวิเคราะห์

2.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดจากส่วนต่างๆของแคลลัส

ปิเปตน้ำกลั่นปริมาตร 9.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองฝาเกลียว ขนาด 20 มิลลิลิตร (ทำ 3 ซ้ำ) ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้จากข้อ 2.1 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอดปิเปตต์ โฟลิน ซิโอแคลทู รีเอเจนต์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอด ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องเขย่าผสมสาร (อ์เทกซ์ วางหลอดตัวอย่างในตะแกรงวางหลอด จับเวลา 5 นาที (สังเกตสีของสารละลายมีสีเขียวใส) เมื่อครบเวลา ปิเปตสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอด ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องเขย่าผสมสารวอร์เทกซ์ วางหลอดตัวอย่างในตะแกรงวางหลอด จับเวลา 60 นาที ที่อุณหภูมิห้อง (สังเกตสีของสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน ความเข้มของสีน้ำเงินแสดงถึงปริมาณของสารโพลีฟีนอล) วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตรบันทึกค่าการดูดกลืนแสง โดยใช้สารละลายเมทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร แทนสารละลายตัวอย่าง เพื่อให้ทราบค่าการดูดกลืนแสงของแบลงค์ (ค่าปกติของแบลงค์ คือ ประมาณ 0.01) และคำนวณปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดในรูปของ GAE (Gallic acid equivalent) โดยใช้สารละลายแกลลิก (ที่ละลายในสารละลายเมทานอล 80 เปอร์เซ็นต์) ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน เช่น 0.025 0.05 0.1 0.2 และ 0.4 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน

3. วิเคราะห์สมบัติการกำจัดอนุมูลอิสระของสารสกัดจากส่วนต่างๆของแคลลัส

3.1 การเตรียมสารสกัดจากแคลลัส (Horax, Hettiarachchy & Islam, 2005)

ชั่งผงแคลลัสจำนวน 40 มิลลิกรัม ด้วยเครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง ใส่ในหลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 10 มิลลิลิตร (ทำ 3 ซ้ำ) จากนั้นปิเปตสารละลายเมทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดตัวอย่างแต่ละหลอด วางหลอดตัวอย่างใส่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 60 ± 2 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที เมื่อครบเวลาทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แยกส่วนใสจากของผสมโดยการกรองด้วยกระดาษกรองวอทแมนเบอร์ 1 ใส่ลงในหลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 10 มิลลิลิตร ปิดฝา เก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 8±1 องศาเซลเซียส รอการวิเคราะห์

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3.2 การทดสอบโดยการจับกับอนุมูลอิสระ DPPH$^{\bullet}$ (Scavenging of the Stable Radical 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl-DPPH$^{\bullet}$ Assay)

ปิเปตสารละลายดีพีพีเอช (ดีพีพีเอช 0.025 กรัม ละลายในสารละลายเมทานอลความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 10 มิลลิลิตร เก็บในที่มืด จากนั้นใช้ ออโตปิเปต ปิเปตสารสกัดจากแคลลัสที่ได้จากข้อ 3.1 ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่มีสารละลายดีพีพีเอช (ทำ 3 ซ้ำ) ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าผสมสารเป็นเวลาประมาณ 3 วินาที เก็บในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ 517 นาโนเมตร โดยใช้สารละลายเมทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร แทนตัวอย่างสารสกัด สำหรับเตรียมแบลงค์ และคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การจับกับอนุมูลดีพีพีเอช จากสูตร (Kumaran & Karunakaran, 2006)

คำนวณเปอร์เซ็นต์การจับอนุมูล DPPH$^{\bullet}$ (เปอร์เซ็นต์) = $[(A_0-A_1)/A_0 \times 100]$

เมื่อ A_0 และ A_1 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของแบลงค์ และสารสกัด ตามลำดับ ที่เวลา 30 นาที

3.3 การทดสอบโดยการจับกับอนุมูลอิสระ ABTS$^{\bullet+}$ (Scavenging of radical cation 2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate)

วิเคราะห์โดยวิธีที่ดัดแปลงจาก Saura-Calixto & Goñi (2006); Dorman & Hiltunen (2004) and Re, Pellegrini, Proteggente, Pannala, Yung & Rice-Evans (1999) ปิเปตสารละลายเอบีทีเอส ที่ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ ใส่ในหลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 20 มิลลิลิตร ที่มีโปแตสเซียมเปอร์ซัลเฟตความเข้มข้น 2.45 มิลลิโมลาร์ เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อให้ ABTS เปลี่ยนเป็น ABTS$^{\bullet+}$ จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ 734 นาโนเมตร เพื่อปรับให้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.700 (±0.030) ด้วยเมทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นเติมสารสกัดแคลลัสจากข้อ 3.1 ปริมาตร 30 ไมโครลิตร ผสมลงในสารละลาย ABTS$^{\bullet+}$ ปริมาตร 1.485 มิลลิลิตร ให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าผสมสารในที่มืดเป็นเวลาประมาณ 3 วินาที ที่อุณหภูมิห้อง วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ 734 นาโนเมตร เป็นเวลา 30 นาที และคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การจับกับอนุมูลเอบีทีเอส

คำนวณเปอร์เซ็นต์การจับอนุมูล ABTS$^{\bullet+}$ (เปอร์เซ็นต์) = $100 \times [A_0-A_1]/A_0$

เมื่อ A_0 และ A_1 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของแบลงค์ และสารสกัด ตามลำดับ ที่เวลา 15 นาที

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

4. วิธีวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด

วิเคราะห์ข้อมูลการทดลองแบบ Completely Randomized Design ตัวแปรที่ศึกษา คือ ระดับของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ร่วมกับ BA เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี Dancan's New Multiple Range Test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University