สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลทางไซโตเจนนิติกของสารหวานบางชนิดต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวของคนในอาหารเพาะเลี้ยง

นางสาว นิมมิตตา ชูชื่นมานะกิจ
นางสาว เสาวรจนีย์ เยาวเรศ
นางสาว อักษร สุ่นเจริญ

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2542

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 35859
วัน, เดือน, ปี 27 มิ.ย. 2543

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Cytogenetics Effects of Some Sweeteners on Human Lymphocytes in Culture

Miss Nimmitta Chuchernmanakit

Miss Saowarotjanee Yaowares

Miss Aksorn Choonjaroen

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement

for the Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

1999

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ผลทางไซโตเจนนิติกของสารให้ความหวานบางชนิดต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวของคนในอาหารเพาะเลี้ยง	
โดย	นางสาวนิมมิตตา	ชูชื่นมานะกิจ
	นางสาวเสาวรจนีย์	เยาวเรศ
	นางสาวอักษร	สุ่นเจริญ
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์	
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม	

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

(รศ.ดร.พรรณี ฐิตาภิชิต)

คณะกรรมการสอบโครงงานพิเศษ

..... ประธานกรรมการ

(ดร.อุ่นเรือน เพชราวัลย์)

..... กรรมการ

(อาจารย์อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม)

..... กรรมการ

(อาจารย์สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Specail Project Title : Cytogenetics Effects of Some Sweeteners on Human Lymphocytes in Culture

Name : Miss Nimmitta Chuchernmanakit
Miss Saowarotjanee Yaowarcs
Miss Aksorn Choonjaroen

Department : Applied Biology

Special Project Advisor : Supattar Poeaim

Academic Year : 1999

Abstract

The *in vitro* human lymphocyte test system was used to study the cytogenetics effect of stevioside and cyclamate. The lymphocyte cells in culture were treated with 4 concentrations (2.0 4.0 6.0 and 8.0 mg/ml) of stevioside and cyclamate for 5 hours. The effects of each sweeteners on mitotic activity (mitotic poison) and chromosome aberration (clastogen) of lymphocyte cells have been examined and discussed. Stevioside was found to be a mitotic poison , with an increment of the concentration of stevioside led to a reduction of the mitotic index. However, chromosome breakage in stevioside was no significant increase of frequency of chromosome breakage when compaired with the control. The results show that cyclamate is non-mitotic poison but it caused chromosome aberrations which were single chromatid gab , single chromatid break , isochromatid gab and isochromatid break. The chromesome aberration increased with the increasment of cyclamate concentrations.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้ได้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ซึ่งสามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีนั้น ทางคณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณ อาจารย์สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษที่ได้ให้ความรู้ ข้อเสนอแนะ รวมทั้งได้กรุณาตรวจทานแก้ไขทางด้านภาษา และให้คำแนะนำด้านต่างๆ ในการทำโครงงานพิเศษนี้ ดร.อุ่นเรือน เพชราวัลย์ ประธานกรรมการ และอาจารย์อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม กรรมการสอบโครงงานพิเศษ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ และตรวจแก้ไขโครงงานพิเศษ ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ คุณพยอม เกียรติกำจร และคุณประเสริฐวิทย์ แพงคำ เจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ที่ กรุณาให้ความสะดวกในการใช้อุปกรณ์ และสารเคมีต่างๆ สำหรับทำการทดลองโครงงานพิเศษครั้งนี้

สุดท้ายนี้คณะผู้จัดทำขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ธุรการทุกท่านที่ให้ยืมอุปกรณ์ต่างๆ ตลอดจนเพื่อน พี่ และน้องๆนักศึกษาที่มีส่วนช่วยในการสนับสนุนในการทำโครงงานพิเศษนี้จนกระทั่งสำเร็จไปด้วยดี

คณะผู้จัดทำ

มีนาคม 2543

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อปัญหาพิเศษภาษาไทย	ก
บทคัดย่อปัญหาพิเศษภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	
สารบัญรูป	
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	3
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีทดลอง	10
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	16
บทที่ 5 บทสรุปและข้อเสนอแนะ	32
ภาคผนวก	33
เอกสารอ้างอิง	47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	ผลของสารละลายสตีวิโอไซด์ที่มีต่ออัตราการแบ่งเซลล์ ค่าเฉลี่ยจำนวนหักของโครโมโซมค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้น และค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซม ยืดยาวต่อเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาวจำนวน 50 เซลล์	19
ตารางที่ 2	ผลของสารละลายไซคลาแมทที่มีต่ออัตราการแบ่งเซลล์ ค่าเฉลี่ยจำนวนหักของโครโมโซม ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้น และค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมยืดยาวต่อเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาวจำนวน 50 เซลล์	27
ตารางผนวกที่1	ผลของสารละลายสตีวิโอไซด์ ที่มีผลต่ออัตราการแบ่งเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาว	35
ตารางผนวกที่2	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสารละลายสตีวิโอไซด์ ที่มีผลต่ออัตราการแบ่งเซลล์ ของเซลล์เม็ดเลือดขาว	35
ตารางผนวกที่3	การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าอัตราการแบ่งเซลล์ เป็นรายคู่ของเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาวเนื่องจากผลของสารละลาย สตีวิโอไซด์ ในระดับความเข้มข้นต่างๆที่ $\alpha = 0.05$ LSD = 28.63 และที่$\alpha = 0.01$ LSD = 39.05	36
ตารางผนวกที่4	ผลของสารละลายสตีวิโอไซด์ และสารละลายบลีโอมัยซิน (50 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร) ต่อจำนวนหักของโครโมโซมในเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาวจำนวน 50 เซลล์	36
ตารางผนวกที่5	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสารละลายสตีวิโอไซด์ และสารละลายบลีโอมัยซิน (50 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร) ที่มีผลต่อจำนวนหักของโครโมโซมในเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาว 50 เซลล์	37
ตารางผนวกที่6	การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนหักของโครโมโซมในเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาวจำนวน 50 เซลล์ เนื่องจากผลของสารละลายสตีวิโอไซด์ในระดับความเข้มข้นต่างๆและสารละลายบลีโอมัยซิน ระดับความเข้มข้น 50 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร ที่ $\alpha = 0.05$ LSD =13.99 และที่$\alpha = 0.01$ LSD = 18.96	37
ตารางผนวกที่ 7	ผลของสารละลายสตีวิโอไซด์ ต่อจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้นในเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาวจำนวน 50 เซลล์	38
ตารางผนวกที่8	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสารละลายสตีวิโอไซด์ ที่มีผลต่อจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้นของเซลล์เม็ดเลือดขาว	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน้า

ตารางผนวกที่9 การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่มี โครโมโซมหดสั้นต่อเมทาเฟสเซลล์ของเม็ดเลือดขาว 50 เซลล์ เนื่องจากผลของสารละลายสตีวิโอไซด์ ในระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่ $\alpha = 0.05$ LSD = 0.99 และที่$\alpha = 0.01$ LSD = 1.35 39

ตารางผนวกที่10 ผลของสารละลายสตีวิโอไซด์ ต่อ จำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมยืดยาวในเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาวจำนวน 50 เซลล์ 39

ตารางผนวกที่11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสารละลายสตีวิโอไซด์ ที่มีผลต่อจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมยืดยาวของเซลล์เม็ดเลือดขาว 40

ตารางผนวกที่12 การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่มี โครโมโซมยืดยาวต่อเมทาเฟสเซลล์ของเม็ดเลือดขาว 50 เซลล์ เนื่องจากผลของสารละลายสตีวิโอไซด์ ในระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่ $\alpha = 0.05$ LSD = 4.05 และที่$\alpha = 0.01$ LSD = 5.53 40

ตารางผนวกที่13 ผลของสารละลายไซคลาเมท ที่มีผลต่ออัตราการแบ่งเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาว 41

ตารางผนวกที่14 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสารละลายไซคลาเมท ที่มีผลต่ออัตราการแบ่งเซลล์ ของเซลล์เม็ดเลือดขาว 41

ตารางผนวกที่15 การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของค่าอัตราการแบ่งเซลล์เป็นรายคู่ของเซลล์เม็ดเลือดขาว เนื่องจากผลของสารละลายไซคลาเมท ในระดับความเข้มข้นต่างๆที่ $\alpha = 0.05$ LSD = 48.32 และที่ $\alpha = 0.01$ LSD = 66.82 42

ตารางผนวกที่16 ผลของสารละลายไซคลาเมท และสารละลายบลีโอมัยซิน (50 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร) ต่อจำนวนหักของโครโมโซมในเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาว 42

ตารางผนวกที่17 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสารละลายไซคลาเมท และสารละลายบลีโอมัยซิน เข้มข้น 50 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร ที่มีผลต่อจำนวนหักของโครโมโซมในเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาว 50 เซลล์ 43

ตารางผนวกที่18 การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนหักของโครโมโซมในเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาว 50 เซลล์ เนื่องจากผลของสารละลายไซคลาเมทในระดับความเข้มข้นต่างๆ และสารละลาย บลีโอมัยซิน เข้มข้น 50 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร ที่ $\alpha = 0.05$ LSD = 14.33และที่ $\alpha = 0.01$ LSD = 19.63 43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน้า

ตารางผนวกที่19 ผลของสารละลายไซคลาเมท ต่อ จำนวนหดสั้นของโครโมโซม ในเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาว 50 เซลล์ 44

ตารางผนวกที่20 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน ของสารละลายไซคลาเมท ที่มีผลต่อจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้นของเซลล์เม็ดเลือดขาว 44

ตารางผนวกที่21 การเปรียบเทียบความแตกต่างของ ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่มี โครโมโซมหดสั้นต่อเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาว 50 เซลล์ เนื่องจากผลของสารละลายไซคลาเมทในระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่ $\alpha = 0.05$ LSD = 1.08 และที่ $\alpha = 0.01$ LSD = 1.50 45

ตารางผนวกที่22 ผลของสารละลายไซคลาเมท ต่อจำนวนยืดยาวของโครโมโซม ในเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาว 50 เซลล์ 45

ตารางผนวกที่23 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสารละลายไซคลาเมท ที่มีผล ต่อจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมยืดยาวของเซลล์เม็ดเลือดขาว 46

ตารางผนวกที่24 การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่มี โครโมโซมยืดยาวต่อเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาว 50 เซลล์ เนื่องจากผลของสารละลายไซคลาเมทในระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่ $\alpha = 0.05$ LSD = 2.51 และที่ $\alpha = 0.01$ LSD = 3.47 46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

		หน้า
รูปที่ 1	ลักษณะต้นของ *Stevia Rebaudiana* Bertoni (ถนอมศรี, 2533)	4
รูปที่ 2	ลักษณะโครงสร้างทางเคมีของสตีวิโอไซด์ (Dziezak,1986)	4
รูปที่ 3	โครงสร้างของโซเดียม และแคลเซียมไซคลาเมท กับ กรดไซคลามิค (กล้าณรงค์,2542)	7
รูปที่ 4	แสดงโครโมโซมในระยะเมทาเฟสของคนปกติ	15
รูปที่ 5	แสดงจำนวนเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาวในกลุ่มทดลองที่ได้รับสารละลายสตีวิโอไซด์ในระดับความเข้มข้น 8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	17
รูปที่ 6	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายสตีวิโอไซด์กับค่าอัตราการแบ่งเซลล์	18
รูปที่ 7	แสดงลักษณะของโครโมโซมที่ผิดปกติ แบบ single chromatid break ในระยะเมทาเฟสของกลุ่มทดลองที่ได้รับจากสารละลาย สตีวิโอไซด์ ที่ระดับความเข้มข้น 8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	21
รูปที่ 8	แสดงลักษณะของโครโมโซมที่ผิดปกติ แบบ single chromatid break ในระยะเมทาเฟสของกลุ่มทดลองที่ได้รับจากสารละลายบลีโอมัยซิน ที่ความเข้มข้น50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	22
รูปที่ 9	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายไซคลาเมทกับอัตราการแบ่งเซลล์	26
รูปที่ 10	แสดงลักษณะของโครโมโซมที่ผิดปกติ แบบ single chromatid break ในระยะเมทาเฟสของกลุ่มทดลองที่ได้รับสารละลายไซคลาเมทในระดับความเข้มข้น 8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่1
บทนำ

ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ

ปัจจุบันมนุษย์ได้หันมาให้ความสนใจและให้ความสำคัญกับเรื่องสุขภาพมากขึ้น แต่ความก้าวหน้าด้านเทคโนโลยีต่างๆมีผลทำให้แบบแผนการดำรงชีวิตเปลี่ยนไป เช่น ประชาชนออกกำลังกายน้อยลงจึงส่งผลเสียต่อสุขภาพ คือ ทำให้เกิดโรคต่างๆ ตามมาได้ง่ายขึ้น เช่น โรคความดันโลหิตสูง โรคอ้วน โรคเบาหวาน โรคหัวใจและอื่นๆ มนุษย์จึงได้ให้ความสำคัญกับการบริโภคอาหารเพราะการมีสุขภาพที่ดีส่วนหนึ่งมาจากการบริโภคอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการ และในปริมาณที่เหมาะสม จึงมีการศึกษาและค้นคว้าเพื่อพัฒนาเทคโนโลยีทางด้านอาหารให้ก้าวหน้ามากขึ้น ซึ่งทำให้ได้อาหารที่สะดวกในการเลือกซื้อ มีคุณภาพสูง และได้มีการศึกษาสารปรุงแต่งรสในอาหารเพื่อเพิ่มความอร่อย และน่ารับประทาน รสที่ใช้ปรุงแต่งอาหารจะมีรสหวาน เค็ม และ เปรี้ยว เป็นต้น โดยที่รสหวานจะมีบทบาทมากที่สุดเพราะเป็นรสที่คนส่วนใหญ่พึงพอใจ และถูกนำมาใช้ในทางอุตสาหกรรมอาหารต่างๆและทางเภสัชกรรม โดยรสหวานส่วนมากที่ใช้บริโภคจะเป็นรสหวานที่ได้จากน้ำตาลซูโครส ซึ่งซูโครสจะให้ปริมาณพลังงานมาก ร่างกายจึงได้รับปริมาณคาร์โบไฮเดรทมากเกินความต้องการของร่างกาย จึงมีการวิจัยและค้นคว้าเกี่ยวกับสารให้ความหวานให้พลังงานต่ำ เพื่อที่ร่างกายจะได้ไม่ต้องรับปริมาณพลังงานที่มากเกินความต้องการ

สารให้ความหวานบางชนิดเป็นสารที่สกัดได้จากธรรมชาติ และบางชนิดถูกสังเคราะห์ขึ้น สารให้ความหวานจะแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ สารให้ความหวานที่มีคุณค่าทางโภชนาการ (nutritive sweetener) เช่น กลุ่มของน้ำตาลแอลกอฮอล์ น้ำผึ้ง เป็นต้น ส่วนอีกประเภทหนึ่งคือ สารให้ความหวานที่ไม่ให้คุณค่าทางโภชนาการ (non – nutritive sweetener) เช่น อะซิซัลเฟม – โพแทสเซียม (acesulfame - K) แอสปาร์แทม (aspartame) ไซคลาเมท (cyclamate) แซคคาริน (saccharin) และสตีวิโอไซด์ (stevioside) เป็นต้น (กล้าณรงค์,2542)

สารให้ความหวานพลังงานต่ำจะให้พลังงานต่ำเนื่องจากสารพวกนี้ส่วนใหญ่จะไม่ผ่านกระบวนการเมแทบอลิซึมต่างๆในร่างกาย และไม่ให้พลังงานออกมา สำหรับสารให้ความหวานพลังงานต่ำที่ร่างกายสามารถนำไปใช้ได้เช่น ไซลิทอล (xylitol) เป็นสารหวานที่สังเคราะห์จากแอลกอฮอล์ของไซโลส มีความหวานเท่าๆกับซูโครส แต่จะใช้แทนซูโครสในคนไข้เบาหวานเพราะมีการดูดซึมได้น้อยกว่าซูโครส หรือ แอสปาร์แทม ซึ่งมีความหวานกว่าน้ำตาลซูโครส 150 เท่า จึงใช้ในปริมาณเพียงเล็กน้อยเท่านั้นก็ให้ความหวานเท่ากับน้ำตาลซูโครส (จีรเดช,2533) และมีการนำสารให้ความหวานเหล่านี้มาใช้ประโยชน์ในรูปแบบต่างๆ เช่น นำมาใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่มพลังงานต่ำ ใช้ปรุงแต่งรสในผลิตภัณฑ์จำพวกลูกอมและขนม ปรุงแต่งของหมักดองเพื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้ออกรสหวาน และใช้ในรูปแบบน้ำตาลเทียมสำหรับผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนักหรือผู้ป่วยโรคเบาหวาน ซึ่งตั้งแต่มีการค้นพบสารให้ความหวานพลังงานต่ำชนิดแรกในปี ค.ศ.1878 ก็ได้มีการศึกษาข้อมูลของสารให้ความหวานชนิดต่างๆมากขึ้นทั้งข้อดีและข้อเสีย ซึ่งพบว่าสารให้ความหวานหลายชนิดมีผลทำให้เกิดมะเร็งส่วนต่างๆของร่างกาย เช่น สตีวิออลมีผลทำให้หนูแฮมสเตอร์เป็นมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ (มณฑภรณ์,2536) สำหรับสตีวิโอไซด์ทำให้ระดับของสารยูเรีย และกรดยูริคในเลือดสูงขึ้น มีผลต่อการขับปัสสาวะและรูปร่างของเซลล์ไตทำให้เกิดเป็นโพลงขนาดใหญ่ รวมทั้งมีผลต่อโครงสร้างของเซลล์ที่ทำหน้าที่ในการดูดซึมตรงส่วนลำไส้เล็กในหนูแฮมส-เตอร์ (ไชยยงค์,2537) ดังนั้นเพื่อที่จะให้การบริโภคสารให้ความหวานให้ปลอดภัยต่อสุขภาพจึงควรมีการศึกษาถึงความเป็นพิษ โดยเฉพาะพิษต่อสารพันธุกรรม ซึ่งจะมีประโยชน์ต่อวงการแพทย์และช่วยในการตัดสินใจของผู้บริโภคว่าควรจะเลือกบริโภคสารให้ความหวานชนิดใดให้ปลอดภัย

วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

เพื่อทดสอบสารให้ความหวานบางชนิด คือ สตีวิโอไซด์ และไซคลาเมท โดยทำการศึกษา

1. หาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารให้ความหวานแต่ละชนิด เพื่อใช้ในการทดสอบผลทางไซโตเจนนิติกต่อไปโดยทดสอบกับเซลล์เม็ดเลือดขาวของคนในอาหารเพาะเลี้ยง
2. ศึกษาสารให้ความหวานแต่ละชนิดในระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่ก่อให้เกิดผลการเปลี่ยนแปลงโครโมโซมของเซลล์เม็ดเลือดขาวของคนในอาหารเพาะเลี้ยงหรือไม่ อย่างไร

ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

ศึกษาถึงระดับความเข้มข้นของสารหวานบางชนิด คือ สตีวิโอไซด์ และไซคลาเมท และศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมของเซลล์เม็ดเลือดขาวของคนในอาหารเพาะเลี้ยง โดยสุ่มตัวอย่างจากคนที่มีสุขภาพดี อายุประมาณ 18 – 25 ปี

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบระดับความเข้มข้นของสารให้ความหวานแต่ละชนิด ที่เป็นอันตรายต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวของคนในอาหารเพาะเลี้ยงเพื่อใช้ประเมินอันตราย
2. ทราบผลทางการเปลี่ยนแปลงระดับโครโมโซมของเซลล์เม็ดเลือดขาวของคนในอาหารเพาะเลี้ยงว่า สารให้ความหวานแต่ละชนิดมีผลอย่างไร
3. นำข้อมูลมาใช้ประกอบการพิจารณาถึงความปลอดภัยของสารให้ความหวานแต่ละชนิดในการที่จะเลือกใช้สารให้ความหวานในระดับประชาชนทั่วไปที่ต้องการควบคุมพลังงาน และระดับอุตสาหกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ตรวจเอกสาร

สารให้ความหวาน หมายถึง สารที่ให้รสหวาน ซึ่งถ้าแบ่งตามการให้คุณค่าทางโภชนาการ อาจแบ่งได้เป็น สารให้ความหวานที่ให้คุณค่าทางโภชนาการและสารให้ความหวานที่ไม่ให้คุณค่าทางโภชนาการ โดยสารให้ความหวานที่ให้คุณค่าทางโภชนาการ จะให้พลังงานโดยผ่านกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกาย ได้แก่พวก น้ำตาล กากน้ำตาล น้ำผึ้ง น้ำตาลแอลกอฮอลล์ และแอสปาร์แทม เป็นต้น ส่วนสารให้ความหวานที่ไม่ให้คุณค่าทางโภชนาการ คือ สารให้ความหวานที่ไม่ผ่านกระบวนการเมแทบอลิซึมในร่างกาย ได้แก่ อะซิซัลเฟม – โพแทสเซียม ไซคลาเมท แซคคาริน และซูคาโลส เป็นต้น สารให้ความหวานเหล่านี้มีทั้งที่เป็นสารที่มีอยู่ในธรรมชาติ และสารที่สังเคราะห์ขึ้น ในการทำวิจัยครั้งนี้ เลือกศึกษาสารให้ความหวานที่ไม่ให้คุณค่าทางโภชนาการ ทั้งที่สกัดได้จากธรรมชาติ และที่ถูกสังเคราะห์ขึ้น คือ สตีวิโอไซด์ และไซคลาเมท ตามลำดับ เนื่องจากได้เล็งเห็นถึงความสำคัญในการนำมาประยุกต์ใช้ทั้งในระดับชีวิตประจำวัน และระดับอุตสาหกรรมต่อไป

สตีวิโอไซด์

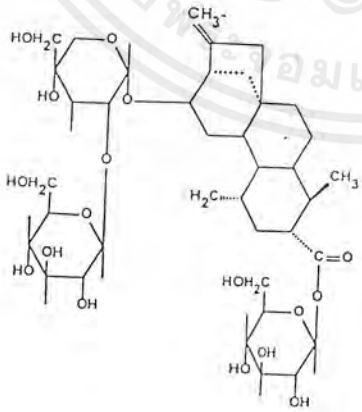
สตีวิโอไซด์เป็นสารหวานที่สกัดได้จากพืชยืนต้นที่ชื่อว่า หญ้าหวาน หรือ สตีเวีย (stevia) มีชื่อทางวิทยาศาตร์ว่า *Stevia rebaudiana* Bertoni วงศ์ Compositae ลักษณะของต้นดังรูปที่1 มีถิ่นกำเนิดในประเทศปารากวัย โดยชาวพื้นเมืองจะนำมาผสมเครื่องดื่มที่มีรสขมให้มีรสหวานขึ้น (ถนอมศรี,2533) ประมาณ 3 – 8 เปอร์เซ็นต์ของใบหญ้าหวานจะมีสารหวาน เป็นสารที่เรียกว่า สตีวิโอไซด์ ซึ่งเป็นผลึกของ glycoside diterpene มีรสหวานมาก และสกัดได้ง่ายโดยใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม (ประศาสตร์, 2530) ประเทศไทยได้ทดลองปลูกครั้งแรกที่จังหวัดสงขลา พ.ศ. 2511 โดยชาวญี่ปุ่นชื่อ นายเตอิอิชิ ยากิ และได้ตั้งศูนย์ทดลอง ค้นคว้า และวิจัย ที่นิคมสร้างตนเองเทพา ต่อมาได้นำไปปลูกขยายพันธุ์ทางภาคเหนือบริเวณจังหวัดเชียงใหม่ ก็ได้ผลดีเช่นกัน (พิชัย และคณะ,2525)

คุณสมบัติ

สตีวิโอไซด์มีคุณสมบัติทนความร้อน สภาวะกรด-ด่าง และมีความต้านทานต่อการเปลี่ยนสีได้ดีกว่าน้ำตาลซูโครส ให้ความหวานเป็น 250 – 300 เท่าของน้ำตาลซูโครส ทั้งยังไม่ให้พลังงานแก่ร่างกาย (กล้าณรงค์,2542) มีลักษณะโครงสร้างดังรูปที่2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 1. ลักษณะต้นของ *Stevia Rebaudiana* Bertoni (ถนอมศรี, 2533)



รูปที่ 2. ลักษณะโครงสร้างทางเคมีของสตีวิโอไซด์ (Dziezak,1986)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมแทบอลิซึม

สตีวิโอไซด์เป็นสารที่เมื่อดูดซึมเข้าสู่กระแสโลหิตแล้วจะกระจายไปยังอวัยวะต่างๆ ทั่วร่างกาย แต่ก็ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดว่า อวัยวะใดเป็นอวัยวะที่ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสตีวิโอไซด์ให้เป็นอนุพันธ์ชนิดต่างๆ แต่ก็เป็นที่คาดหมายว่า ตับ น่าจะเป็นอวัยวะที่ทำหน้าที่ดังกล่าวนี้ เพราะการขับเอาสตีวิโอไซด์ออกจากร่างกายนั้นเกิดขึ้นในส่วนของน้ำดีเป็นส่วนใหญ่ อนุพันธ์ตัวหนึ่งที่ทราบโครงสร้างแล้วคือ isosteviol และอีกตัวนั้นนักวิทยาศาสตร์ได้ทำการสังเคราะห์ขึ้นคือ 15 – oxosteviol ทั้งนี้เพื่อใช้ในการทดสอบการกลายพันธุ์โดยวิธีของเอมส์ (Ame's test) ผลการทดสอบพบว่า สาร 15 – oxosteviol สามารถออกฤทธิ์ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ และออกฤทธิ์ต่อการเกิดพิษได้ในสัตว์ทดลอง (ธีระยุทธ,2533)

สตีวิโอไซด์และอนุพันธ์จะถูกขับออกทางน้ำดี ปัสสาวะ และทางอากาศที่หายใจออก ซึ่งจะออกมาในรูปของสารอิสระ และที่จับตัวกับกลูคิวโรไนด์ (conjugate form) ภายหลังจากที่ได้รับสตีวิโอไซด์เข้าไป 120 ชั่วโมง จะมีการขับถ่ายออกทางน้ำดี (อุจจาระ) ประมาณ 68.4 เปอร์เซ็นต์ ทางอากาศที่หายใจออก 23.9 เปอร์เซ็นต์ และทางปัสสาวะในปริมาณที่น้อยที่สุดคือ ประมาณ 2.3 เปอร์เซ็นต์ (ธีระยุทธ,2533)

การนำสตีวิโอไซด์มาประยุกต์ใช้

สตีวิโอไซด์เป็นสารหวานที่มีแนวโน้มว่า จะนำมาใช้แทนน้ำตาลซูโครส แม้ว่าสารหวานชนิดอื่นๆหลายชนิดสามารถสังเคราะห์มาได้โดยวิธีทางเคมี แต่ส่วนใหญ่เป็นสารที่ไม่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค ทั้งยังก่อให้เกิดมลภาวะจากกระบวนการผลิต ผู้บริโภคจึงนิยมหันมาใช้สารสกัดจากธรรมชาติคือ สตีวิโอไซด์ ปัจจุบันในต่างประเทศ โดยเฉพาะญี่ปุ่น บราซิล ใช้สตีวิโอไซด์แทนสารหวานชนิดอื่นกันมาก โดยใช้ในอุตสาหกรรมทำซีอิ๊ว น้ำผลไม้ เครื่องดื่มน้ำอัดลม ไอศกรีม หมากฝรั่งแบบไม่มีน้ำตาล ผักที่ใช้โรยหน้า และใช้ในการรักษารสชาติของอาหารหมักดอง ส่วนทางด้านอเมริกาก็นิยมใช้ในอุตสาหกรรมบุหรี่ ยาสีฟัน และเป็นสารหวานสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวาน โรคอ้วน (กล้าณรงค์,2542)

การทดสอบความเป็นพิษของสตีวิโอไซด์

การศึกษาผลของการดูดซึมของสตีวิโอไซด์ มณฑภรณ์ (2536) ได้ทำการศึกษาผลของสตีวิโอไซด์ และสตีวิออลต่อการดูดซึมของน้ำตาลกลูโคสในลำไส้ส่วนเจจูนัม (jejunum) ของหนูแฮมสเตอร์โดยการใช้แว่นบางๆ (jajunal slices) ของเจจูนัม พบว่าสตีวิโอไซด์ 1.0 มิลลิโมล และ 5.0 มิลลิโมล ไม่มีผลยับยั้งการดูดซึมน้ำตาลกลูโคส แต่เมื่อใช้สารสตีวิออล 0.1 – 2.0 มิลลิโมล พบว่าจะยับยั้งการดูดซึมน้ำตาลกลูโคส ซึ่งการยับยั้งการดูดซึมน้ำตาลดังกล่าวอาจเป็นผลมาจากการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องและการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซลล์ดูดซึมใน

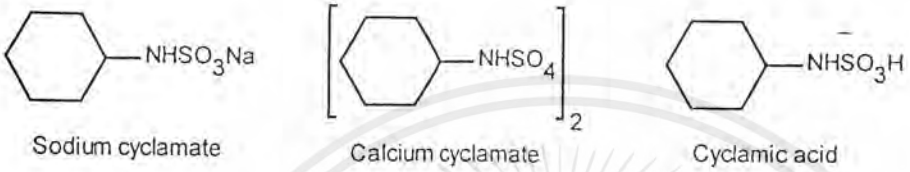
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำไส้เล็ก และการศึกษาถึงผลของสตีวิโอไซด์ต่อการทำงานของอวัยวะต่างๆในร่างกาย ไซยงค์ได้ศึกษาผลของสารสตีวิโอไซด์ที่มีต่อไตของหนูแฮมสเตอร์ทั้งในแง่การทำงานของไต และรูปร่างของไตโดยการป้อนสตีวิโอไซด์ให้ทางปากในขนาดความเข้มข้น 1.025 2.050 และ 4.100 กรัมต่อน้ำหนักตัวหนู 1 กิโลกรัม แล้วดูผลที่เกิดขึ้นหลังเวลาผ่านไป 3 6 และ 12 ชั่วโมง พบว่า สารสตีวิโอไซด์มีผลทำให้ระดับของยูเรีย ไนโตรเจน ครีเอตินิน และกรดยูริกในเลือดสูงขึ้น และมีผลต่อการขับถ่ายปัสสาวะโดยจะทำให้ความสามารถในการขับถ่ายปัสสาวะน้อยลง ซึ่งทั้งนี้จะขึ้นกับขนาดความเข้มข้นของสารด้วย นอกจากนี้ยังมีผลต่อรูปร่างของเซลล์ไต คือจะทำให้เกิดโพรงขนาดใหญ่ในเซลล์ไตและทำให้เซลล์เยื่อบุท่อไตสูญเสียประสิทธิภาพในการทำงาน และ เยาวลักษณ์ (2538) ได้ศึกษากลไกที่ น่าจะเป็นไปได้ของสตีวิโอไซด์ที่มีผลต่อท่อไตส่วนต้นของกระต่ายโดยตรงในหลอดทดลอง โดยการสะสมของสาร ^{14}C – PAH ในท่อไตส่วนต้น และประสิทธิภาพการทำงานของ Na^{+}- K^{+} ATPase เป็นตัวบ่งชี้การทำงานของไต พบว่าสตีวิโอไซด์มีผลต่อการทำงานของท่อไตส่วนต้น โดยขึ้นกับความเข้มข้นของสตีวิโอไซด์และเวลาที่ใช้ และ ชัยวัฒน์ (2542) ได้ทำการรวบรวมการศึกษาความปลอดภัยของสารสตีวิโอไซด์และสตีวิออล ในหนูแฮมสเตอร์ โดยสรุปผลการทดลองไว้ดังนี้คือ การทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน พบว่า สตีวิโอไซด์จะมีความเป็นพิษน้อยกว่าสตีวิออล ส่วนการทดสอบต่อการตั้งครรภ์และการเจริญเติบโตของเอมบริโอ ยามาดะ (Yamada,1985) ได้มีการทดลองให้สตีวิโอไซด์บริสุทธิ์ 95 เปอร์เซ็นต์ แก่หนูทดลองทางปากปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ ของอาหารหนูต่อมื้อ โดยให้อาหารหนูตัวผู้นาน 60 วัน และตัวเมียนาน 14 วัน ก่อนการผสมพันธุ์ พบว่าไม่มีผลต่อการตั้งครรภ์ และการเจริญของลูกหนูในครรภ์ ส่วนการทดสอบการกลายของยีนโดยวิธีเอมส์ และผลทางไซโตเจนนิติก Suttajit M. และคณะ (1993) ได้นำสตีวิโอไซด์และสตีวิออลมาทดสอบการกลายพันธุ์โดยวิธีเอมส์ ในเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 พบว่าไม่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ที่ความเข้มข้นสูงสุด 25.0 มิลลิกรัมต่อเพลท แต่ที่ 50.0 มิลลิกรัมต่อเพลท จะทำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยตรงต่อสายพันธุ์ TA98 และ Klongpanichpak S. และคณะ (1997) ได้ทดสอบสตีวิโอไซด์ โดยวิธีเอมส์ โดยใช้เชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และTA100 เช่นกันพบว่าที่ความเข้มข้น 50.0 มิลลิกรัมต่อเพลท และ 2.0 มิลลิกรัมต่อเพลท ไม่มีผลต่อการทำให้เกิดการกลายพันธุ์ทั้ง 2 สายพันธุ์ รวมทั้ง Mutsui M. และคณะ (1996) ทำการทดสอบความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรมของสตีวิโอไซด์และสตีวิออลทั้งวิธีใช้แบคทีเรีย โดยใช้ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TM677 ทดสอบไมโครนิวเคลียสในหนู (micronucleus test) และทดสอบการหักของโครโมโซม (chromosomal aberration test) โดยใช้ Chainese Hamster Lung fibroblast cell line (CHL) พบว่าไม่ก่อให้เกิดการกลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไซคลาเมท

ไซคลาเมทเป็นสารหวานที่ค้นพบเมื่อ ค.ศ. 1937 โดย Michael Sevda จากปฏิกิริยาระหว่างไซโคลเฮกซิลามิน (cyclohexylamine) กับเถ้าบุหรี่ที่บังเอิญตกลงไป ทำให้ได้สารใหม่ที่มีรสหวานอมเปรี้ยว และผลึกสีขาวของอนุพันธ์ของกรดไซโคลเฮกเซนซัลโฟนิก ก็คือไซคลาเมท ซึ่งมีลักษณะโครงสร้างดังรูปที่ 3



รูปที่ 3. โครงสร้างของโซเดียม และแคลเซียมไซคลาเมท กับ กรดไซคลามิค (กล้าณรงค์,2542)

แต่นิยมใช้ในรูปเกลือของโซเดียม และแคลเซียม (Na , sodium salt และ Ca , calcium salt) ในปี ค.ศ. 1940 Dupant ได้จดลิขสิทธิ์ไซคลาเมทไว้ และในปี ค.ศ.1950 Abbott Laboratory ได้ทำการผลิตไซคลาเมทในทางการค้าขึ้นในสหรัฐอเมริกา จนถึงปี ค.ศ.1970 ทาง FDA (Food and Drug Administration)ได้ประกาศห้ามการขายไซคลาเมท (กล้าณรงค์,2542)

คุณสมบัติ

ไซคลาเมทมีชื่อตามสารประกอบเช่นกรดไซคลามิค (cyclamic acid) โซเดียมไซคลาเมท (sodium cyclamate) และแคลเซียมไซคลาเมท (calcium cyclamate) ซึ่งจะไม่พบในธรรมชาติแต่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมีของไซโคลเฮกซิลามิน โดยปฏิกิริยาซัลโฟเนชั่น (sulfonation) ของกรดคลอโรซัลโฟนิก (chlorosulfonic acid) และกรดซัลฟามิก (sulfamic acid) แล้วปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้เป็นกลางโดยสารละลายไฮดรอกไซด์ (Larry และคณะ,1990) ไซคลาเมทจะคงตัวทั้งในอุณหภูมิต่ำและอุณหภูมิสูง มีความหนาแน่นมากกว่าซูโครส 50 – 60 เท่า และเป็นสารที่ไม่ให้พลังงาน เพราะจะย่อยสลายไปเป็นไซโคลเฮกซิลามิน (กล้าณรงค์,2542)

เมแทบอลิซึม

ไซคลาเมทบางส่วนจะถูกดูดซึมในลำไส้แล้วเปลี่ยนเป็น ไซโคลเฮกซิลามิน โดยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ในมนุษย์ การเปลี่ยนแปลงไซคลาเมทจะเกิดขึ้นแตกต่างกันตามทฤษฎี กระบวนการเมแทบอลิซึมจะเปลี่ยนไซคลาเมท ไปเป็นไซโคลเฮกซิลามิน ถึง 60 เปอร์เซ็นต์ แต่ 90 เปอร์เซ็นต์ของประชากรจะเปลี่ยนไซคลาเม้ท ไปเป็นไซโคลเฮกซิลามิน เพียง 1 เปอร์เซ็นต์

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การนำไซคลาเมทมาประยุกต์ใช้

ไซคลาเมทในอุตสาหกรรมจะใช้ในรูปกรดไซคลามิค แคลเซียมไซคลาเมท และโซเดียม-ไซคลาเมท ในอาหารเครื่องดื่มและยา ในประเทศสหรัฐอเมริกาไม่อนุญาติให้มีการใช้ไซคลาเมทในอาหารต่างๆ ส่วนในประเทศไทยมีประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 3 พ.ศ. 2522 ว่าตั้งแต่วันที่ 22 สิงหาคม 2522 ห้ามให้มีการผลิต นำเข้าหรือจำหน่าย และใช้ไซคลาเมทเป็นส่วนผสมในอาหาร

การทดสอบความเป็นพิษของไซคลาเมท

ได้มีการศึกษาและวิจัยเกี่ยวกับความเป็นพิษและความปลอดภัยของสารไซคลาเมทโดย Brusick D. และคณะ (1989) ได้ทำการศึกษาผลของ แคลเซียมไซคลาเมท และไซโคลเฮกซิลามิน ต่อสารพันธุกรรมโดยทดสอบลักษณะการกลายพันธุ์และการกลายของยีน ในเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมในหลอดทดลอง และศึกษา in vitro unscheduled DNA synthesis assay ในหนู ผลที่ได้ คือ ไม่เกิดความเป็นพิษทางไซโตเจนนิติก และ Herbold BA. (1981) ได้ทำการทดลองการก่อให้เกิดการกลายของสาร ไซคลาเมท และไซโคลเฮกซิลามีน โดยใช้ *Samonella typhimurium* สายพันธุ์TA1535 , TA100 , TA1537 และ TA98 โดยใช้ปริมาณสาร 2500.00 ไมโครกรัมต่อเพลท ผลปรากฏว่าไม่มีผลต่อการกลาย และDurmev AD. และคณะ (1995) ทดลองความเป็นพิษต่อโครโมโซมของสารไซคลาเมท โดยให้สารไซคลาเมทปริมาณ 11.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 110.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม กับหนูเป็นเวลา 5 วัน ผลที่ได้คือไม่เกิดความผิดปกติของโครโมโซมจากสารไซคลาเมทนี้

ระบบตรวจสอบสารก่อการกลายพันธุ์

ปัจจุบันมนุษย์ได้มีการนำสารเคมีสังเคราะห์มาใช้กันอย่างแพร่หลายแต่ยังไม่มีระบบการทดสอบความปลอดภัยใดที่สมบูรณ์แบบ จึงจำเป็นจะต้องมีการทดสอบในหลายระบบเพื่อยืนยันความปลอดภัยในการใช้สารนั้นว่ามีอันตรายหรือไม่ และถ้าจำเป็นจะต้องใช้ จะใช้อย่างไรให้ปลอดภัย โดยระบบการทดสอบที่นิยมใช้ในปัจจุบันได้แก่

1. การทดสอบโดยใช้แบคทีเรีย มีการทดสอบ อยู่ 2 ระบบคือ Ame's assay หรือ reversion test จากการศึกษาของ Bruce Ames และ Rec assay หรือ DNA repair test มักเป็นการทดสอบการกลายพันธุ์เฉพาะจุด โดยสามารถใช้แบคทีเรียได้หลายชนิดเช่น *Samonella* sp. *Bacillus* sp. *Escherichia* sp. แต่ที่นิยมคือ *Samonella typhimurium* สายพันธุ์ที่เกิดการกลายพันธุ์ซึ่งไม่สามารถสังเคราะห์ ฮีสทีดีน (histidine , his-) เป็นตัวทดสอบสารเคมีบางชนิด ถ้าสารเคมีใดสามารถเหนี่ยวนำให้ *Samonella typhimurium* ชนิดนี้เกิด reverse mutation (กลายเป็น his^+) ได้นั้น อาจเชื่อได้ว่าสารเคมีนั้นเป็นสารก่อมะเร็ง วิธีการทดสอบนี้ใช้เวลาเพียง 2 – 3 วัน ส่งผลให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าใช้จ่ายในการทดลองนี้ไม่สูงมากนัก รวมทั้งการทดสอบนี้ให้ผลแน่นอนได้มากที่สุดถึง 90 เปอร์เซ็นต์ (อมรา,2540)

2. การทดสอบโดยใช้เซลล์ยูคาริโอท (eukaryote) ชั้นต่ำ ทดสอบได้ทั้งการกลายเฉพาะจุดและการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซม นิยมทดสอบในยีสต์ (*Saccharomyces cereviseae*) และเชื้อรา (*Asperilli* และ *Ascomycetes*) โดยศึกษาความสามารถของสารที่จะเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายไปข้างหน้าและย้อนกลับ (forword & reverse) วิธีนี้สามารถทดสอบสารก่อมะเร็งได้ถึง 80 เปอร์เซ็นต์

3. การทดสอบโดยใช้แมลง แมลงที่ใช้อาจเป็นพวกแมลงหวี่ ไหม ตั๊กแตน จะทดสอบได้ทั้งการกลายเฉพาะจุดและความผิดปกติของโครโมโซมเอ็กซ์ ที่ทำให้แมลงตาย ระบบนี้มีข้อดีคือ มีความไว และมีระบบกระตุ้นโดยเมแทบอลิซึมในเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการกลายพันธุ์

4. การทดสอบโดยใช้พืช จะอาศัยคุณสมบัติของสารเคมีที่สามารถชักนำให้เกิดความผิดปกติบนโครโมโซมของรากพืชจำพวก ถั่วปากอ้า หัวหอม ถ้าสารเคมีใดทำให้เกิดความผิดปกติบนโครโมโซมได้มากกว่ากลุ่มควบคุมก็แสดงว่า สารนั้นมีคุณสมบัติเป็น สารก่อการกลายพันธุ์

5. การทดสอบในสิ่งมีชีวิตชั้นสูง เช่น ในหนู กระต่าย และมนุษย์ ส่วนใหญ่นำมาทดสอบเพื่อศึกษาผลของสารเคมีต่อความผิดปกติของโครโมโซม 4 แบบคือ

5.1 การศึกษาความผิดปกติในรูปของการหักและเปลี่ยนแปลงรูปร่างของโครโมโซม (chromosome aberration) โดยตรวจดูความผิดปกติของโครโมโซมในระยะเมทาเฟส (metaphase)

5.2 การศึกษาผลของการสลับชิ้นส่วนของซิสเตอร์โครมาทิด (sister chromatid exchange : SCE) จากเซลล์ในระยะเมทาเฟส

5.3 การศึกษาผลจากการปรากฏของ acentric fragment และ chromatid bridge จากเซลล์ในระยะแอนาเฟส (anaphase)

5.4 การศึกษาความผิดปกติของโครโมโซมในรูปของ micronuclei (MN) ที่ปรากฏในเซลล์ระยะอินเตอร์เฟส (interphase)

โดยโครโมโซมในระยะเมทาเฟส เป็นระยะที่เหมาะสมในการศึกษามากที่สุด จึงนิยมทดสอบโดย chromosome aberration และ sister chromatid exchange เพราะเป็นเทคนิคที่สามารถเหนี่ยวนำให้เซลล์หยุดการแบ่งเซลล์ในระยะเมทาเฟสได้ จึงทำให้มีจำนวนเซลล์มากเพียงพอในการศึกษา อีกทั้งรูปร่างของโครโมโซมในระยะนี้ชัดเจนมาก รอยหักและแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนของโครโมโซมแบบต่างๆจึงสังเกตได้ง่าย เซลล์ที่นิยมนำมาเพาะเลี้ยงคือ เซลล์เม็ดเลือดขาวของคน และ เซลล์ไลน์ (cell line) ชนิดต่างๆเช่น chinese hamster ovary (CHO) (อมรา,2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

วัสดุและอุปกรณ์

1. เลือดจากบุคคล ที่มีสุขภาพสมบูรณ์ดี
2. อุปกรณ์อื่นๆ ได้แก่
    - 2.1 ขวดสำหรับเลี้ยงเซลล์
    - 2.2 เข็มฉีดยา
    - 2.3 ตู้บ่มเชื้อ
    - 2.4 ตู้ปลอดเชื้อชนิดลมเป่า (larminar air flow)
    - 2.5 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
    - 2.6 กล้องจุลทรรศน์
    - 2.7 อุปกรณ์ถ่าย
    - 2.8 อุปกรณ์เครื่องแก้วต่างๆ
    - 2.9 เครื่องผสม
    - 2.10 แผ่นสไลด์
    - 2.11 เครื่องนับเซลล์
    - 2.12 ชุดกรองสาร (millipore filter)

สารเคมี

1. สารให้ความหวาน คือ สารละลาย สตีวิโอไซด์ และสารละลายไซคลาเมท
2. สารละลายบลีโอมัยซิน (bleomycin)
3. RPMI medium 1640 with L- glutamin
4. fetal bovine serum
5. Phytohemagglutinin – M (PHA)
6. เฮปาริน (heparin)
7. โคชิมิด (colchimid)
8. hank's balance salt solution (HBSS)
9. สารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ (potassium chloride)
10. เมธานอล (methanol)
11. กรดอะซิติก (acetic acid)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12. สีกิมซ่า (giemsa)

13. แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ (alcohol 70%)

14. ไวส์บัฟเฟอร์ (Wiese's buffer)

แผนการทดลอง

การศึกษาแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ การทดลองที่1 ทดสอบเกี่ยวกับสารสตีวิโอไซด์ โดยใช้สารละลายสตีวิโอไซด์ และการทดลองที่2 เป็นการทดสอบเกี่ยวกับสารไซคลาเมท ใช้สารละลายไซคลาเมท ในแต่ละการทดลองจัดสิ่งทดลอง (treatment) ให้แก่หน่วยทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design , CRD) และถือว่าทุกหน่วยทดลองมีความสม่ำเสมอ (uniform) โดยใช้คนเป็นจำนวนซ้ำ ซึ่งในการทดลองที่ 1 มีจำนวน 5 ซ้ำ และในการทดลองที่ 2 มีจำนวน 4 ซ้ำ แต่ละซ้ำแบ่งหน่วยการทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1. เป็นกลุ่มควบคุมทางลบ (negative control) หรือ untreated control ใช้เป็นกลุ่มเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลอง โดยกลุ่มนี้จะใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาณ 50 ไมโครลิตรแทนสารที่จะทดสอบ

กลุ่มที่ 2. เป็นกลุ่มควบคุมทางบวก (positive control) ใช้เป็นกลุ่มมาตราฐานเปรียบเทียบกับกลุ่มทดสอบเพื่อแสดงว่ากลุ่มเซลล์ที่นำมาศึกษาครั้งนี้ ถ้าได้รับสารประเภทก่อให้เกิดการหักของโครโมโซม(clastogen) จะก่อให้เกิดความผิดปกติของโครโมโซมได้ โดยจะใส่สารบลีโอมัยซิน 50 ไมโครลิตร ซึ่งบลีโอมัยซินนี้เป็นสารที่ได้รับการทดสอบว่าแล้วเป็นสารก่อให้เกิดความผิดปกติประเภทที่ก่อให้เกิดการหักของโครโมโซม (สุพัตรา,2537)

กลุ่มที่ 3. เป็นกลุ่มทดลองโดยการทดลองที่1 ใส่สารละลายสตีวิโอไซด์ที่ละลายในน้ำกลั่นในระดับความเข้มข้น 2.0 4.0 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของอาหารเลี้ยง และการทดลองที่ 2 ใส่สารละลายไซคลาเมท ที่ละลายในน้ำกลั่นในระดับความเข้มข้น 2.0 4.0 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อใช้เป็นการศึกษาผลของสารให้ความหวานที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซม

วิธีการทดลอง

ขั้นตอนการทดลองแบ่งเป็นส่วนต่างๆดังนี้

1. การเตรียมเลือด

เจาะเลือดจากเส้นเลือดดำของบุคคลตัวอย่างแต่ละคนประมาณ 10 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลองที่มีสารเฮปาริน เขย่าเบาๆให้เลือดกับเฮปารินเข้ากันโดยใช้เฮปาริน 50 I.U.ต่อเลือด 1 มิลลิลิตร เพื่อป้องกันไม่ให้เลือดแข็งตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว

เตรียมขวดเลี้ยงเซลล์ขนาด 50 มิลลิลิตรที่ปลอดเชื้อ แล้วใส่อาหารเลี้ยงเซลล์จำนวน 5 มิลลิลิตร ซึ่งประกอบด้วย RPMI medium 80 เปอร์เซ็นต์ และ fetal bovine serum 20 เปอร์เซ็นต์ แล้วเติม phytohemagglutinin จากนั้นใส่เลือดชนิด whole blood ปริมาณ 10 หยดลงไป ปิดจุกขวดให้สนิท เก็บในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เมื่อครบชั่วโมงที่ 67 หยดสารให้ความหวานตามความเข้มข้นในระดับต่างๆที่ต้องการศึกษาลงในกลุ่มทดลอง ส่วนกลุ่มควบคุมทางลบและกลุ่มควบคุมทางบวก ใส่น้ำกลั่นปลอดเชื้อและบลีโอมัยซินตามลำดับ จำนวน 50 ไมโครลิตรในแต่ละขวดเช่นกัน ก่อนครบชั่วโมงที่ 72 ประมาณ 30 นาที หยดโคชิมิดความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรลงไปทุกขวดขวดละ 50 ไมโครลิตร แล้วนำไปเพาะเลี้ยงต่อจนครบ 72 ชั่วโมงจึงทำการเก็บเกี่ยวเซลล์ ในทุกขั้นตอนทำในตู้ปลอดเชื้อ

3. การเก็บเกี่ยวเซลล์

3.1 เมื่อเพาะเลี้ยงเซลล์ครบ 72 ชั่วโมงแล้วทำการเก็บเกี่ยวเซลล์โดยเทอาหาร และเซลล์ลงในหลอดทดลองนำไปปั่นด้วยความเร็ว 1,200 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกเซลล์เม็ดเลือดขาว

3.2 ดูดส่วนที่เป็นน้ำใสตอนบนทิ้ง ใสสารละลาย hank's balance salt solution ปริมาตร 5 มิลลิลิตรเพื่อทำการล้างเซลล์แล้วนำไปปั่นที่ความเร็วรอบ 1,200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จำนวน 2 ครั้ง ดูดส่วนที่เป็นน้ำใสตอนบนทิ้ง

3.3 ใส่สารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.075 โมลต่อลิตร ลงไปประมาณ 5 มิลลิลิตร ซึ่งสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์จัดเป็น hypotonic solution ช่วยทำให้เซลล์พองตัวและโครโมโซมภายในเซลล์จะกระจายออกง่ายต่อการศึกษา แยกสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ออกโดยการนำไปปั่นด้วยความเร็ว 1,200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 8 นาที แล้วดูดส่วนที่เป็นน้ำใสตอนบนทิ้ง ทำซ้ำเป็นจำนวน 2 ครั้ง

3.4 ทำให้เซลล์คงสภาพโดยใส่น้ำยาคงสภาพเซลล์ (fixative solution) ซึ่งประกอบด้วยเมธานอล 3 ส่วน และกรดอะซิติก 1 ส่วน ลงไป 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นด้วยความเร็ว 1,200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อให้เซลล์ตกตะกอน ดูดน้ำใสตอนบนทิ้ง ใส่น้ำยาคงสภาพลงไปอีก 5 มิลลิลิตร นำไปปั่น ทำเช่นนี้อีก 2 ครั้ง จนพบว่าตะกอนสีขาวขุ่นที่ก้นหลอดทดลองสะอาดดี ซึ่งก็คือกลุ่มของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ต้องการศึกษา แล้วเติมน้ำยาคงสภาพลงไปอีก 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 Isochromatid gap (ISCG) เป็นความผิดปกติที่เกิดจากการมีช่องว่างเกิดขึ้นในส่วนโครมาทิดทั้งสองแท่งของโครโมโซมเดียวกัน แต่ไม่ถึงกับขาดออกจากกัน และแนวปลายหักทั้งสองของโครมาทิดยังอยู่ในแนวเดียวกัน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะยังมีเส้นใยโครมาทินยึดให้เห็นบางๆ การนับจำนวนหักจะนับเป็น 2 หักต่อ 1 ISCG

2.3 Single chromatid break (SB) เป็นความผิดปกติที่จะมีโครมาทิดแท่งหนึ่งเกิดการหักหรือขาดออกจากกันโดยสิ้นเชิง และแนวของปลายที่หักไม่อยู่ในแนวเดียวกัน ในการนับจำนวนหักจะนับจำนวนที่หักจะนับเป็น 1 หักต่อ 1 SB

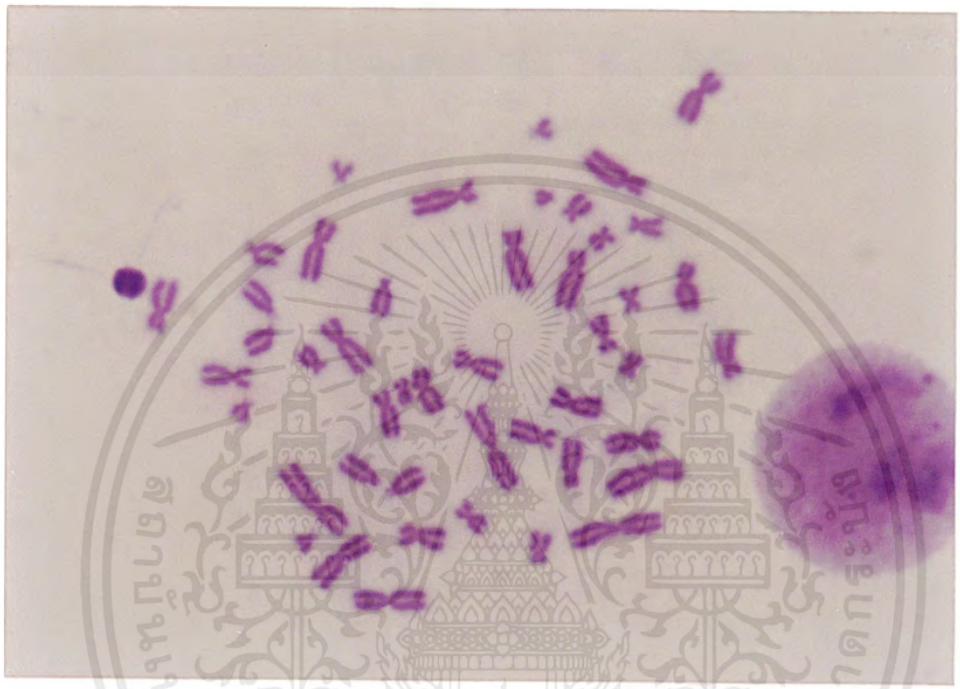
2.4 Isochromatid break (ISCB) เป็นความผิดปกติที่จะมีโครมาทิดทั้งสองแท่งหักออกจากกันโดยสิ้นเชิง ปลายของโครมาทิดที่หักไม่ได้อยู่ในแนวเดียวกัน และนับจำนวนที่หักเป็น 2 หักต่อ 1 ISCB

ในการคำนวณค่าเฉลี่ย จำนวนหักของโครโมโซม จะนับจำนวนหักทั้งหมด คำนวณหาค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มที่ศึกษา และนำเสนอโดยใช้ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการศึกษา ใน 5 ซ้ำในสารละลายสตีวิโอไซด์ และ 4 ซ้ำในสารละลายไซคลาเมท แล้วนำเสนอการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของกลุ่มทดลองแต่ละระดับความเข้มข้น กับกลุ่มควบคุมโดยใช้วิธี Least significant difference (LSD) และ Duncan's new multiple rang (DMRT)

3. การบันทึกภาพ

บันทึกภาพที่เป็นตัวแทนความผิดปกติแบบต่างๆ และรายงานผลในการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่4. แสดงโครโมโซมในระยะเมทาเฟสของคนปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวในหลอดทดลอง ให้ได้รับสารละลายสตีวิโอไซด์ในระดับความเข้มข้น 2.0 4.0 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายไซคลาเมท ในระดับความเข้มข้น 2.0 4.0 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ใน 5 ชั่วโมงก่อนการเก็บเกี่ยวเมื่อครบ 72 ชั่วโมง และก่อนครบชั่วโมงที่ 72 ประมาณ 30 นาที ใส่โคชิมิด ในระดับความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ผลการทดลองดังนี้

ผลของสารละลายสตีวิโอไซด์

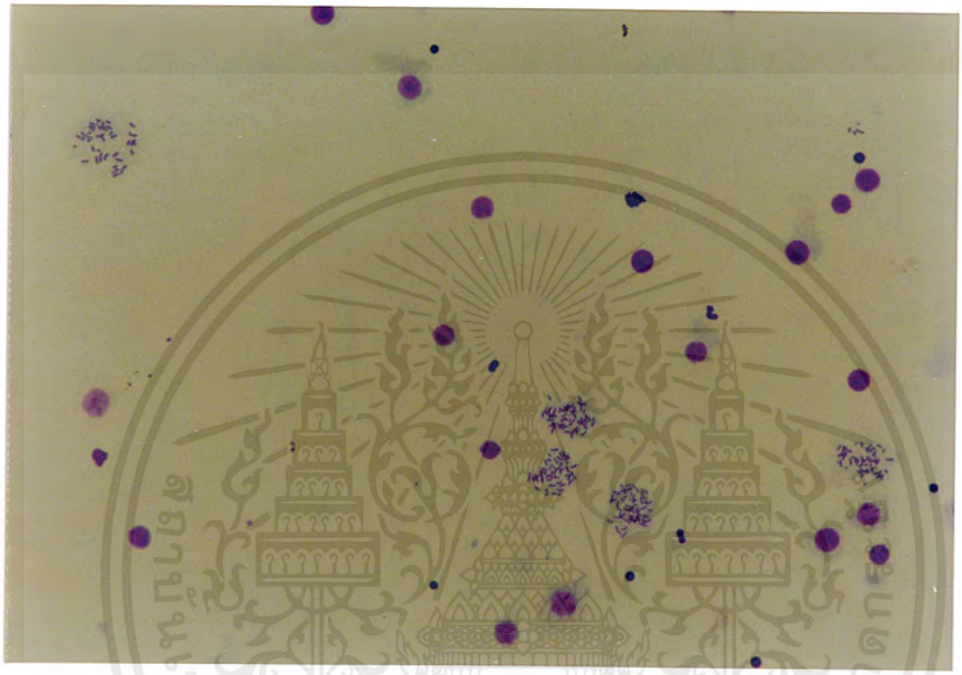
เมื่อให้เซลล์เม็ดเลือดขาวแช่ในสารละลายสตีวิโอไซด์ในระดับความเข้มข้น 2.0 4.0 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีผลทำให้อัตราการแบ่งเซลล์ลดลง ซึ่งแปรผันกับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ส่วนความผิดปกติของโครโมโซมก่อให้เกิดความผิดปกติบ้างแต่เป็นจำนวนไม่มากนัก อยู่ในรูปแบบของ single chromatid gab , single chromatid break , isochromatid gab และ isochromatid break โดยพบว่าความผิดปกติของโครโมโซมคิดเป็นค่าเฉลี่ยจำนวนหักของโครโมโซมต่อเมทาเฟสเซลล์ 50 เซลล์ ของทุกระดับความเข้มข้นในกลุ่มทดลอง ให้ค่าแตกต่างจากกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นอย่างไม่มีนัยสำคัญ รวมทั้งระดับที่เพิ่มขึ้นบางระดับมีผลทำให้จำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้นหรือยืดยาวเพิ่มขึ้น แต่มีปริมาณเพียงเล็กน้อยให้ค่าแตกต่างในทางสถิติไปจากกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นอย่างไม่มีนัยสำคัญ มีรายละเอียดดังนี้

1. ผลการทดลองกรณีสารละลายสตีวิโอไซด์มีผลต่อการก่อให้เกิดอัตราการเปลี่ยนแปลงของไมโทซิส โดยวิธีวัดจากค่าอัตราการแบ่งเซลล์

เซลล์เม็ดเลือดขาวที่แช่ในสารละลายสตีวิโอไซด์ในระดับความเข้มข้น 2.0 4.0 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลทำให้อัตราการแบ่งเซลล์ลดลง โดยค่าอัตราการแบ่งเซลล์ เป็น 96.45 76.80 76.39 และ 57.71 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นมีค่าเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1) แสดงจำนวนเซลล์เมทาเฟสที่พบในกลุ่มทดลองเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นตามรูปที่ 5 และแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายสตีวิโอไซด์กับค่าอัตราการแบ่งเซลล์ในรูปที่ 6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

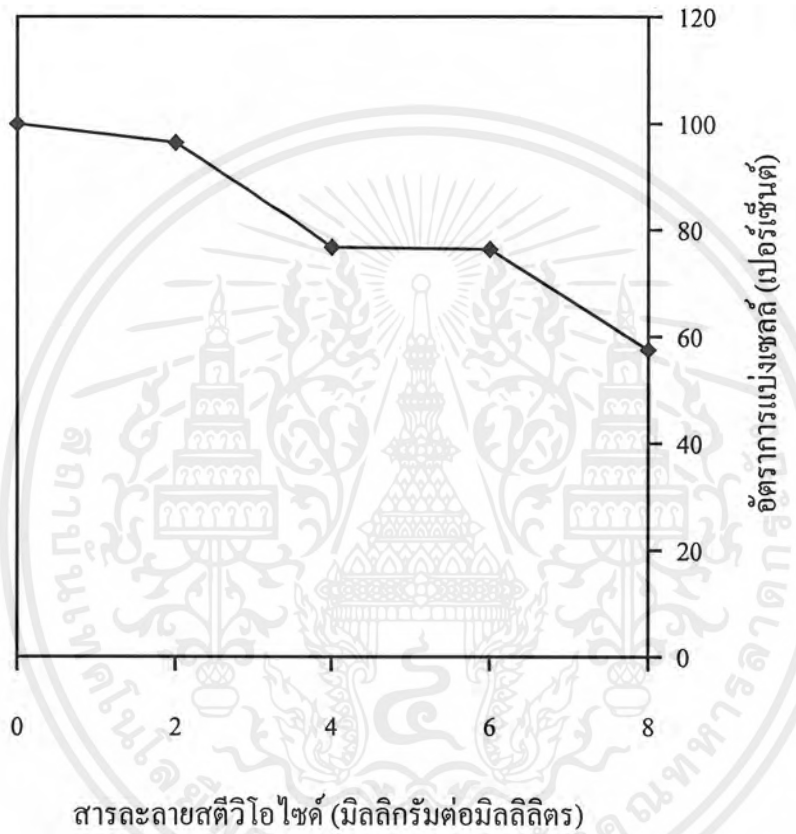
สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง



รูปที่ 5. แสดงจำนวนเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาวในกลุ่มทดลองที่ได้รับสารละลายสตีวิโอไซด์ในระดับความเข้มข้น 8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(→ แสดงเซลล์ในระยะเมทาเฟส)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

35859



รูปที่ 6. แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายสตีวิโอไซด์กับค่าอัตราการแบ่งเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 7. แสดงลักษณะของโครโมโซมที่ผิดปกติ แบบ single chromatid break ในระยะเมทาเฟสของกลุ่มทดลองที่ได้รับจากสารละลาย สตีวิโอไซด์ ที่ระดับความเข้มข้น 8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 8. แสดงลักษณะของโครโมโซมที่ผิดปกติ แบบ single chromatid break ในระยะเมทาเฟสของกลุ่มทดลองที่ได้รับจากสารละลายบลีโอมัยซิน ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ผลการทดสอบกรณีสารละลายสตีวิโอไซด์ที่มีผลต่อการยืดยาวของโครโมโซม โดยวิธีวัดจากจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมยืดยาว

เซลล์เม็ดเลือดขาวแช่ในสารละลายสตีวิโอไซด์ในระดับความเข้มข้น 2.0 4.0 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า ทำให้เซลล์มีโครโมโซมลักษณะยืดยาว โดยจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมยืดยาวเฉลี่ยต่อคนมีค่าเป็น 2.0 1.2 4.4 และ 4.8 เซลล์ ตามลำดับ โดยกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นไม่มีเซลล์ที่มีโครโมโซมยืดยาวเลย (ตารางผนวกที่ 10)

จากการนำค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมยืดยาวต่อเมทาเฟส 50 เซลล์ของกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่น และกลุ่มทดลองทุกระดับความเข้มข้น(ตารางผนวกที่10) มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ พบว่า ระดับความเข้มข้นของสารให้ค่าแตกต่างไปจากกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางผนวกที่ 12) และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างเป็นรายคู่ (ตารางผนวกที่ 12) โดยใช้ค่า LSD = 4.05 ที่ $\alpha = 0.05$ และ LSD = 5.53 ที่ $\alpha = 0.01$ พบว่า ในระดับความเข้มข้นของสารละลายสตีวิโอไซด์ที่ 2.0 4.0 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมยืดยาวแตกต่างไปจากกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการนำเซลล์เม็ดเลือดขาวซึ่งเลี้ยงในสารละลายสตีวิโอไซด์ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 4.0 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในช่วงเวลา 5 ชั่วโมงก่อนการเก็บเกี่ยว โดยใช้ตัวอย่างจากเลือดคน 5 คน พบว่า สารละลายสตีวิโอไซด์ที่ความเข้มข้นสูงเป็นสารประเภท mitotic poison แต่ไม่เหนี่ยวนำให้เกิดการหักของโครโมโซม (non - clastogenic) และไม่ทำให้โครโมโซมหดสั้นหรือยืดยาว ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

ผลของสารละลายสตีวิโอไซด์ที่มีผลต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวของคนในอาหารเพาะเลี้ยง

1. ผลความเป็นพิษต่อเซลล์

รายงานวิจัยครั้งนี้พบว่าสารละลายสตีวิโอไซด์มีผลกับอัตราการแบ่งเซลล์ โดยเป็นตัวยับยั้งการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (mitotic inhibitor) หรือเรียกว่าเป็นสารชนิด mitotic poison วัดจากค่าอัตราการแบ่งเซลล์ พบว่า การแบ่งเซลล์ลดลงแปรผันกับปริมาณความเข้มข้นของสารละลายที่เพิ่มมากขึ้น โดยที่ระดับความเข้มข้น 2.0 4.0 และ 6.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ผลแตกต่างจากกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ที่ระดับความเข้มข้น 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ผลแตกต่างจากกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นโดยมีค่าอัตราการแบ่งเซลล์ลดลงเป็น 57.71 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสารประเภท mitotic poison นี้มักจะเป็นสารที่มีผลกับ mitotic apparatus (Hsu และคณะ,1986) โดยไปยับยั้งการทำงานของ centrioles , spindle fiber , microtubules และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

kinetochore ผลของสารประเภท mitotic poison นี้จัดได้ว่ามีอันตรายมากในกรณีที่ทำให้โครโมโซมไม่สามารถเคลื่อนไปยังขั้วเซลล์ได้อย่างสมบูรณ์เมื่อจะมีการแบ่งเซลล์ ทำให้เซลล์ลูก (daughter cell) ที่ได้จากการแบ่งเซลล์ได้รับสารพันธุกรรมไม่เท่ากัน เซลล์ลูกจึงมีโครโมโซมที่ผิดปกติ สารประเภทนี้อาจเป็นอันตรายอย่างยิ่งเมื่อพิจารณาถึงการแบ่งเซลล์เพื่อให้ได้เซลล์สืบพันธุ์ สารที่ได้รับการตรวจแล้วว่าเป็น mitotic poison ได้แก่ ไดอะซีแพม (วรนิตย์,2528) เจนเซียนไวโอเลต (จันทร์เพ็ญ,2530) เป็นต้น

เมื่อพิจารณาถึงระดับความเข้มข้นต่างๆ ของสารละลายสตีวิโอไซด์ที่มีผลต่ออัตราการแบ่งเซลล์ เมื่อระดับความเข้มข้นของสารละลายเพิ่มขึ้นจะมีผลทำให้อัตราการแบ่งเซลล์ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ อรุณรัศมิ์ (2533) ที่ศึกษาผลของสารละลายสตีวิโอไซด์กับเซลล์เม็ดเลือดขาวของคนในอาหารเพาะเลี้ยง ในระดับความเข้มข้น 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าทำให้ค่าอัตราการแบ่งเซลล์ลดลงประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์

2. ผลที่มีต่อโครโมโซม

งานวิจัยครั้งนี้พบว่าจำนวนหักของโครโมโซมในทุกความเข้มข้นให้ความถี่ในการหักเป็นจำนวนไม่มากนัก โดยให้ค่าเฉลี่ยจำนวนหักของโครโมโซมไม่แตกต่างไปจากกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่น รูปแบบของการหักเป็นชนิด single chromatid gab , single chromatid break , isochromatid gab และ isochromatid break ส่วนกลุ่มที่ควบคุมด้วยบลีโอมัยซิน (กลุ่มควบคุมทางบวก) ทำให้เกิดการหัก 44.8 แห่งต่อเมทาเฟสเซลล์ 50 เซลล์ ในขณะที่กลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นไม่เหนี่ยวนำให้เกิดการหักของโครโมโซมเลย

จากผลการทดลองครั้งนี้น่าจะกล่าวได้ว่าสารละลายสตีวิโอไซด์เป็นสารประเภทไม่เหนี่ยวนำให้เกิดการหักของโครโมโซม ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ อรุณรัศมิ์(2533) ที่พบว่าสารสตีวิโอไซด์ไม่มีผลทำให้เกิดการกลายพันธุ์ภายในยีนของเซลล์สืบพันธุ์ (oocyte) ของ silkworm และการทดลองของ Salvatore และคณะ (1983) Yamada และคณะ (1985) Pezzuto และคณะ (1985) รวบรวมไว้ว่า การทดสอบโดยวิธีของเอมส์ และ Rec test ไม่พบการกลายแต่การทดสอบความผิดปกติของโครโมโซมและการแลกเปลี่ยนของซิสเตอร์โครมาทิดในเซลล์ต่างๆพบความผิดปกติเพียงเล็กน้อย

นอกจากนี้เมื่อตรวจสอบผลของสารละลายสตีวิโอไซด์กับการหดสั้นของโครโมโซมนั้น พบความผิดปกติเฉพาะที่ความเข้มข้น 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเท่านั้น ซึ่งพบในจำนวนน้อยมาก คือ 0.6 และ 1.0 เซลล์ต่อเซลล์เมทาเฟสเซลล์ 50 เซลล์เท่านั้น ส่วนการตรวจสอบผลของสารละลายสตีวิโอไซด์กับการยืดยาวของโครโมโซมนั้น พบว่าค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมยืดยาวแตกต่างไปจากกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นอย่างไม่มีนัยสำคัญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของสารละลายไซคลาเมท

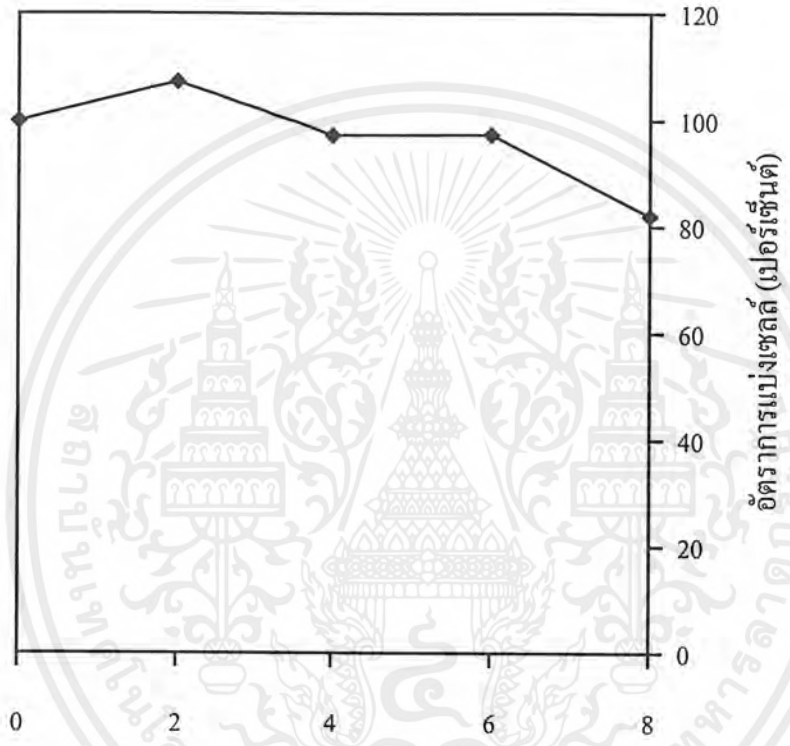
เมื่อให้เซลล์เม็ดเลือดขาวแช่ในสารละลายไซคลาเมท ในระดับความเข้มข้น 2.0 4.0 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีผลทำให้อัตราการแบ่งเซลล์ลดลง ส่วนความผิดปกติของโครโมโซมก่อให้เกิดการหักบ้างแต่จำนวนน้อย อยู่ในรูปแบบของ single chromatid gab , single chromatid break , isochromatid gab และ isochromatid break โดยพบว่าความผิดปกติของโครโมโซมคิดเป็นค่าเฉลี่ยจำนวนหักของโครโมโซมต่อเมทาเฟสเซลล์ 50 เซลล์ ของทุกระดับความเข้มข้นในกลุ่มทดลอง ให้ค่าแตกต่างจากกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ รวมทั้งระดับที่เพิ่มขึ้นบางระดับก็มีผลทำให้จำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้นหรือยืดยาวเพิ่มขึ้น แต่มีปริมาณเพียงเล็กน้อยไม่แตกต่างไปจากลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่น มีรายละเอียดดังนี้

1. ผลการทดลองกรณีสารละลายไซคลาเมทมีผลต่อการก่อให้เกิดอัตราการเปลี่ยนแปลงของไมโทซิส โดยวิธีวัดจากค่าอัตราการแบ่งเซลล์

เซลล์เม็ดเลือดขาวที่แช่ในสารละลายไซคลาเมทในระดับความเข้มข้น 2.0 4.0 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลทำให้อัตราการแบ่งเซลล์เปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย โดยค่าอัตราการแบ่งเซลล์ เป็น 107.25 97.21 97.33 และ 82.01 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นมีค่าเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2) และแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายไซคลาเมทกับอัตราการแบ่งเซลล์ดังรูปที่ 9

จากการนำค่าอัตราการแบ่งเซลล์ของกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่น และกลุ่มทดลองทุกระดับความเข้มข้น(ตารางผนวกที่13) มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ พบว่า ระดับความเข้มข้นของสารละลายไซคลาเมท มีผลทำให้ค่าอัตราการแบ่งเซลล์แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางผนวกที่14) และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างเป็นรายคู่ (ตารางผนวกที่ 15) โดยใช้ค่า LSD = 48.32 ที่ $\alpha = 0.05$ และ LSD = 66.82 ที่ $\alpha = 1.35$ พบว่า ในทุกระดับความเข้มข้นคือ 2.0 4.0 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ค่าอัตราการแบ่งเซลล์แตกต่างจากกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 9. แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายไซคลาเมทกับอัตราการแบ่งเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

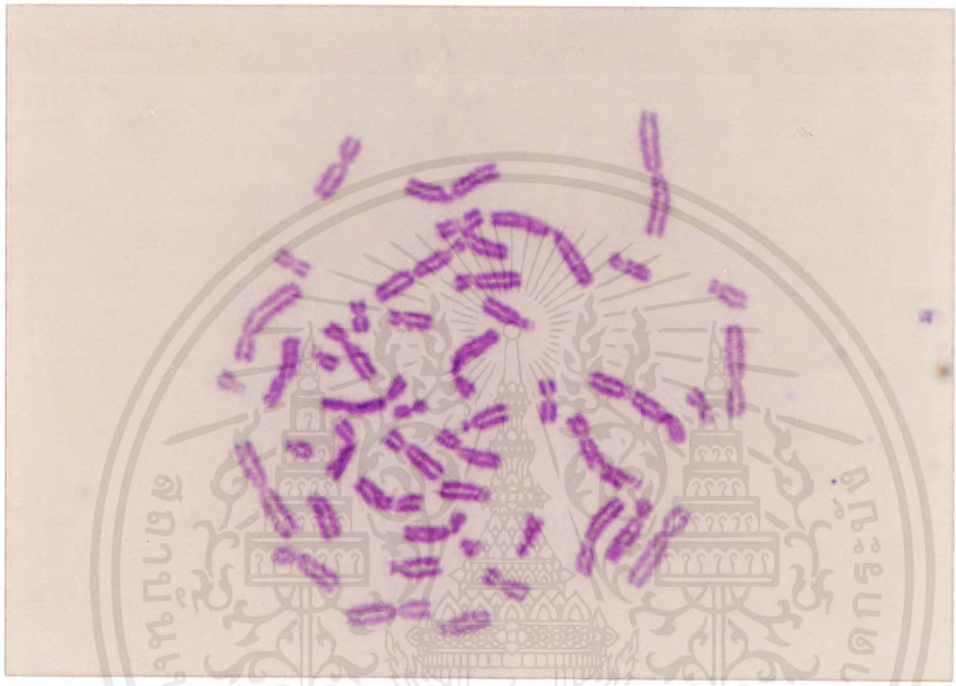
ตารางที่ 2. ผลของสารละลายไซคลาเมทที่มีต่ออัตราการแบ่งเซลล์ ค่าเฉลี่ยจำนวนหักของโครโมโซม ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้น และ ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมยืดยาวต่อเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาวจำนวน 50 เซลล์

ความเข้มข้นของสารละลายไซคลาเมท (mg/ml)	Mitotic index	ค่าเฉลี่ยจำนวนหักของโครโมโซม	ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้น	ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมยืดยาว
0.0	100.00	0.00	0.00	0.00
2.0	107.25	1.25	0.00	1.00
4.0	97.21	9.50	0.00	0.00
6.0	97.33	9.25	0.50	2.75
8.0	82.01	10.5	1.25	2.75

2. ผลการทดสอบกรณีสารละลายไซคลาเมทที่มีผลต่อการหักของโครโมโซมโดยวิธีวัดจากจำนวนหักของโครโมโซม

เซลล์เม็ดเลือดขาวเช่ในสารละลายไซคลาเมทในระดับความเข้มข้น 2.0 4.0 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า ทุกระดับความเข้มข้นก่อให้เกิดการหักของโครโมโซม แต่เป็นจำนวนน้อยในรูปแบบของsingle chromatid gab , single chromatid break , isochromatid gab และ isochromatid break (รูปที่ 10) โดยค่าเฉลี่ยจำนวนหักของโครโมโซมเป็น 1.25 9.50 9.25 และ 10.50 ตามลำดับ โดยกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นมีค่าเป็น 0.0 และกลุ่มควบคุมด้วยบลีโอมัยซิน มีค่า 38.00 (ตารางผนวกที่16)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 10. แสดงลักษณะของโครโมโซมที่ผิดปกติ แบบ single chromatid break ในระยะเมทาเฟสของกลุ่มทดลองที่ได้รับสารละลายไซคลาเมท ในระดับความเข้มข้น 8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการนำค่าเฉลี่ยหักของโครโมโซมต่อเมทาเฟสเซลล์ 50 เซลล์ของกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นกลุ่มควบคุมด้วยบลีโอมัยซิน และกลุ่มทดลองทุกระดับความเข้มข้น (ตารางผนวกที่16) มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติพบว่า ระดับความเข้มข้นของการได้รับสารละลายสตีวิโอไซด์มีผลทำให้ค่าเฉลี่ยจำนวนหักของโครโมโซมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางผนวกที่ 17) และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างเป็นรายคู่ (ตารางผนวกที่ 18) โดยใช้ค่า LSD = 14.33 ที่ $\alpha = 0.05$ และ LSD = 19.63 ที่ $\alpha = 0.01$ พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 4.0 และ 6.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่น แต่ที่ระดับความเข้มข้น 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และกลุ่มควบคุมด้วยบลีโอมัยซิน มีค่าแตกต่างจากกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งที่ระดับความเข้มข้น 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก็มีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมด้วยบลีโอมัยซินอย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกัน แต่ทั้งนี้ที่ทุกระดับความเข้มข้นคือ 2.0 4.0 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยจำนวนหักของโครโมโซมต่อเมทาเฟสเซลล์ 50 เซลล์แตกต่างในทางสถิติจากกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นอย่างไม่มีนัยสำคัญยิ่ง แต่กลุ่มทดลองทุกระดับความเข้มข้นและกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นแตกต่างจากกลุ่มควบคุมด้วยบลีโอมัยซินอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

3. ผลการทดสอบกรณีสารละลายไซคลาเมทที่มีผลต่อการหดสั้นของโครโมโซมโดยวิธีวัดจากจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้น

เซลล์เม็ดเลือดขาวที่แช่ในสารละลายไซคลาเมทในระดับความเข้มข้น 2.0 4.0 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า ทำให้เซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้น โดยจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้นเฉลี่ยมีค่าเป็น 0.00 0.00 0.50 และ 1.25 เซลล์ ตามลำดับ โดยกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นไม่มีเซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้นเลย (ตารางที่ 2)

จากการนำจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้นเฉลี่ยต่อ 50 เซลล์ของกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่น และกลุ่มทดลองทุกระดับความเข้มข้น (ตารางผนวกที่ 19) มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ พบว่า ระดับความเข้มข้นของสารให้ค่าแตกต่างไปจากกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางผนวกที่ 20) และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างเป็นรายคู่(ตารางผนวกที่ 21) โดยใช้ค่า LSD = 1.08 ที่ $\alpha = 0.05$ และ LSD = 1.50 ที่ $\alpha = 1.35$ พบว่า ในระดับความเข้มข้นของสารละลายไซคลาเมทที่ 2.0 4.0 และ 6.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้นแตกต่างไปจากกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ในระดับความเข้มข้นที่ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้นแตกต่างจากกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญ โดยในระดับความเข้มข้นที่ 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรให้ค่าเฉลี่ยที่มีโครโมโซมหดสั้นแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ แต่ทั้งนี้ทุกระดับความเข้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้นคือ 2.0 4.0 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้นแตกต่างไปจากกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นอย่างไม่มีนัยสำคัญยิ่ง

4. ผลการทดสอบกรณีสารละลายไซคลาเมทที่มีผลต่อการยืดยาวของโครโมโซม โดยวิธีวัดจากจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมยืดยาว

เซลล์เม็ดเลือดขาวแช่ในสารละลายไซคลาเมทในระดับความเข้มข้น 2.0 4.0 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า ทำให้เซลล์มีโครโมโซมยืดยาว โดยจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมยืดยาวเฉลี่ยต่อคนมีค่าเป็น 1.00 0.00 2.75 และ 2.75 เซลล์ ตามลำดับ โดยกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นไม่มีเซลล์มี่มีโครโมโซมยืดยาวเลย (ตารางผนวกที่ 22)

จากการนำเซลล์ที่มีโครโมโซมยืดยาวต่อเมทาเฟสเซลล์ 50 เซลล์ของกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่น และกลุ่มทดลองทุกระดับความเข้มข้น(ตารางผนวกที่ 22) มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ พบว่า ระดับความเข้มข้นของสารให้ค่าแตกต่างไปจากกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางผนวกที่ 23) และเมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างเป็นรายคู่ (ตารางผนวกที่ 24) โดยใช้ค่า LSD = 2.51 ที่ $\alpha = 0.05$ และ LSD = 3.47 ที่ $\alpha = 0.01$ พบว่า ในระดับความเข้มข้นของสารละลายไซคลาเมทที่ 2.0 4.0 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมยืดยาวแตกต่างไปจากกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

วิจารณ์ผลการทดลอง

ผลของสารละลายไซคลาเมทที่มีผลต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวของคนในอาหารเพาะเลี้ยง

1. ความเป็นพิษต่อเซลล์

งานวิจัยครั้งนี้พบว่าสารละลายไซคลาเมทไม่มีผลต่ออัตราการแบ่งเซลล์ เพราะให้ค่าอัตราการแบ่งเซลล์ที่ทุกระดับความเข้มข้นแตกต่างจากกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Durnev AD. และคณะ (1995) ได้ทดลองความเป็นพิษต่อโครโมโซมของสารไซคลาเมทของหนูเป็นเวลา 5 วัน พบว่า ไซคลาเมทปริมาณ 11 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวไม่ก่อให้เกิดความผิดปกติของโครโมโซม

2. ผลต่อโครโมโซม

พบว่าสารละลายไซคลาเมทมีผลต่อการก่อให้เกิดการหักของโครโมโซมบ้าง แต่ไม่ถึงกับเป็นสารที่ก่อให้เกิดการหักของโครโมโซม เพราะในระดับที่มีความเข้มข้นสูงคือ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก่อให้เกิดการหักเฉลี่ยต่อเมทาเฟสเซลล์ 50 เซลล์เป็น 10.5 ซึ่งแตกต่างทางสถิติจากกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แต่ก็แตกต่างทางสถิติจากกลุ่มควบคุมด้วยบลีโอมัยซินอย่างมีนัยสำคัญยิ่งเช่นกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ในตรวจสอบผลของสารละลายไซคลาเมทกับการหดสั้นของโครโมโซมนั้น เราพบความผิดปกติเฉพาะที่ความเข้มข้น 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเท่านั้น ซึ่งพบในจำนวนน้อยมาก คือ 0.5 และ 1.25 เซลล์ต่อเมทาเฟสเซลล์ 50 เซลล์เท่านั้น ส่วนการตรวจสอบผลของสารละลายสตีวิโอไซด์กับการยืดยาวของโครโมโซมนั้น เราพบว่าค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมยืดยาวไม่แตกต่างไปจากกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญและมีนัยสำคัญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
บทสรุปและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาผลของสารละลายสตีวิโอไซด์ และสารละลายไซคลาเมท ต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวของคนปกติ จำนวน 5 และ 4 คนตามลำดับ โดยใช้สารละลายสตีวิโอไซด์และสารละลายไซคลาเมทที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ก่อนการเก็บเกี่ยวเซลล์ สรุปได้ดังนี้

1. สารละลายสตีวิโอไซด์ ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 4.0 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำให้ค่าอัตราการแบ่งเซลล์ เป็น 96.45 76.80 76.39 และ 57.71 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ คือทำให้อัตราการแบ่งเซลล์ลดลงแปรผกผันกับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดการหักของโครโมโซมในรูปแบบต่างๆ คือ single chromatid gab , single chromatid break , isochromatid gab และ isochromatid break ความผิดปกติดังกล่าวมีจำนวนเล็กน้อยไม่แตกต่างทางสถิติไปจากกลุ่มควบคุม และสัมพันธ์กับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ส่วนผลในการทำให้โครโมโซมหดสั้นและยืดยาวนั้น พบว่า สารละลายสตีวิโอไซด์ไม่ก่อให้เกิดการหดสั้นหรือยืดยาวของโครโมโซม

2. สารละลายไซคลาเมท ที่ระดับความเข้มข้น 2.0 4.0 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า ไม่ก่อให้เกิดความผิดปกติของอัตราการแบ่งเซลล์ แต่ก่อให้เกิดการหักของโครโมโซมอย่างอ่อนไม่ถึงกับเป็นสารก่อให้เกิดการหัก คือที่ระดับความเข้มข้น 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรทำให้เกิดการหัก 10.5 แห่งต่อเมทาเฟสเซลล์ 50 เซลล์ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับกลุ่มควบคุมด้วยน้ำกลั่น และแตกต่างทางสถิติกับกลุ่มควบคุมด้วยบลีโอมัยซินอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยรูปแบบการหักที่พบคือ single chromatid gab , single chromatid break , isochromatid gab และ isochromatid break ส่วนผลในการทำให้โครโมโซมหดสั้นและยืดยาวนั้น พบว่า สารละลายไซคลาเมทไม่ก่อให้เกิดการหดสั้นหรือยืดยาวของโครโมโซม

ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาความผิดปกติของโครโมโซม ควรทำการเพิ่มจำนวนซ้ำ เพื่อให้ผลการทดลองมีความถูกต้องแม่นยำทางสถิติมากยิ่งขึ้น

2. ควรมีการศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเม็ดเลือดขาว เพื่อให้ได้เซลล์ในระยะเมทาเฟสที่มากเพียงพอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

การเตรียมสารละลาย

1. สารละลายสตีวิโอไซด์ความเข้มข้นต่างๆ ใช้สตีวิโอไซด์ผงผสมกับน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 2.0 4.0 6.0 และ 8.0 กรัมต่อ 10.0 มิลลิลิตร แล้วนำไปกรอง โดยใช้ปริมาตร 100.0 ไมโครลิตร ใส่ในตัวอย่างที่เลี้ยงเลือดไว้ในขวดอาหาร 5.0 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้น 2.0 4.0 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2. สารละลายไซคลาเมทความเข้มข้นต่างๆ ใช้กรดไซคลามิกผสมกับน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 2.0 4.0 6.0 และ 8.0 กรัมต่อ 10.0 มิลลิลิตร แล้วนำไปกรอง โดยใช้ปริมาตร 100.0 ไมโครลิตร ใส่ในตัวอย่างที่เลี้ยงเลือดไว้ในขวดอาหาร 5.0 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้น 2.0 4.0 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3. สารละลายโคลชิมิด เตรียมสารละลายโคลชิมิดให้ได้ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้ 50.0 ไมโครลิตร ในตัวอย่างที่เลี้ยงในอาหาร 5.0 มิลลิลิตร

4. สารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.075 โมลาร์ โดยใช้โปแตสเซียม - คลอไรด์ 2.796 กรัม เติมน้ำจนได้ปริมาตรเป็น 500.0 มิลลิลิตร

5. น้ำยาคงสภาพ ประกอบด้วยเมทธานอล 3 ส่วน กับอะซิตริก 1 ส่วน จะต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้

6. สารละลายไวส์บัฟเฟอร์ ประกอบด้วย

สารละลาย A = โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 1.49 กรัม

สารละลาย B = ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 2 – ไฮเดรท ($NaHPO_4.2H_2O$) 1.14 กรัม

นำสารละลาย A และสารละลาย B มาละลายในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

1.1 การหาค่า X ใช้สูตร

$$\overline{X} = \sum x_i / N$$

$\overline{X}$ = ค่าเฉลี่ย

$\sum$ = ผลรวมทั้งหมด

x_i = ค่าสังเกตแต่ละค่า

N = จำนวนค่าสังเกต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 การทดสอบนัยสำคัญทางสถิติใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design , CRD)

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	t – 1	$SST = \sum_i Yi^2/t - C$	$MST = SST/(t-1)$	MST / MSE
Error	t (r – 1)	SSE = SS total – SST	$MSE = SSE / [(r-1)(t-1)]$	
Total	tr-1	SS total		

df = ชั้นแห่งความอิสระ (degree of freedom)

SS = ผลบวกของกำลังสอง (sum square)

MS = ค่าเฉลี่ยของกำลังสอง (mean square)

F = ค่าสถิติที่ใช้ในการทดสอบ

r = จำนวนซ้ำ ในที่นี้คือ จำนวนคน

Treatment = สิ่งทดลอง

t = จำนวนสิงทดลอง ในที่นี้คือ จำนวนความเข้มข้นของสาร

C = ตัวปรับ (correction term)

$\sum_i Yi^2/t - C$ = (ผลรวมของทุกค่าสังเกต)^2 / จำนวนสิ่งทดลอง

SS total = $X_{ij}^2 - C$

Error = ความคลาดเคลื่อน

Total = รวมผลทั้งหมด

1.3 การตรวจสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยเป็นรายคู่ภายหลังการทดลองความแตกต่างระหว่างกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแล้ว โดยใช้ค่าสถิติ Least significant difference (LSD) และ Duneans's new multiple rang (DMRT) เป็นค่าทดสอบเฉลี่ยของการทดลองโดยใช้สูตร

$LSD = t_{\alpha/2} . sd$

$t_{\alpha/2}$ คือ ค่า t ที่ระดับนัยสำคัญ $\alpha/2$, degree of freedom ของ error

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่1 ผลของสารละลายสตีวิโอไซด์ ที่มีผลต่ออัตราการแบ่งเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาว

ความเข้มข้นของสาร	Mitotic index (%) [2/]					Total	$\bar{X}$
ละลาย STV(mg/ml)[1/]	1	2	3	4	5		
0.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	500.00	100.00
2.0	63.64	136.84	103.85	114.04	63.89	482.25	96.45
4.0	67.27	47.37	61.54	101.75	105.56	383.49	76.80
6.0	63.64	82.46	88.46	80.70	66.67	381.92	76.39
8.0	23.64	84.21	61.54	71.93	47.22	288.54	57.70

[1/] ความเข้มข้นของสารละลายเป็นมิลลิกรัม / มิลลิลิตรของอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์

[2/] mitotic index (%) = $\frac{\text{จำนวนเมทาเฟสเซลล์จากลิมโฟไซท์ 2,000 เซลล์ ในหน่วยทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนเมทาเฟสเซลล์จากลิมโฟไซท์ 2,000 เซลล์ ในกลุ่มควบคุม}}$

ตารางผนวกที่2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสารละลาย สตีวิโอไซด์ ที่มีผลต่ออัตราการแบ่งเซลล์ ของเซลล์เม็ดเลือดขาว

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	4	5905.2636	1476.3159	3.1343*
Error	20	9420.4333	471.0217	
Total	24	15325.6969		

F 0.05 (4,20) = 2.87 F 0.01 (4,20) = 4.43

ns มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่3 การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าอัตราการแบ่งเซลล์ เป็นรายคู่ของเซลล์เม็ดเลือดขาวเนื่องจากผลของสารละลายสตีวิโอไซด์ ในระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่ $\alpha = 0.05$ LSD = 28.63 และที่ $\alpha = 0.01$ LSD = 39.05

ระดับความเข้มข้นของ STV (mg/ml)	ค่า mitotic index (%)	การเปรียบเทียบความแตกต่างที่	
		$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$
0.0	100.00	ก	A
2.0	96.45	ก	A B
4.0	76.80	ก ข	A B
6.0	76.39	ก ข	A B
8.0	57.70	ข	B

ก และ ข มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

A และ B มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ตารางผนวกที่4 ผลของสารละลายสตีวิโอไซด์ และสารละลายบลีโอมัยซิน (50 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร) ต่อจำนวนหักของโครโมโซมในเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขา จำนวน 50 เซลล์

ความเข้มข้นของสารละลาย STV(mg/ml)[1/]	จำนวนหักใน 50 เซลล์					Total	$\bar{X}$
	1	2	3	4	5		
0.0	0	0	0	0	0	0	0.0
2.0	2	0	0	7	3	12	2.4
4.0	2	0	4	6	3	15	3.0
6.0	1	1	10	6	4	22	4.0
8.0	9	24	23	4	17	77	15.4
Bleomycin 50 µl/ml	28	22	70	32	72	152	44.8

[1/] ความเข้มข้นของสารละลายเป็นมิลลิกรัม / มิลลิลิตรของอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสารละลายสตีวิโอไซด์ และสารละลายบลีโอมัยซิน (50 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร) ที่มีผลต่อจำนวนหักของโครโมโซมในเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาว 50 เซลล์

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	5	7308.27	1461.65	12.73**
Error	24	2756.40	114.85	
Total	29	10064.67		

F 0.05 (5,24) = 2.62 F 0.01 (5,24) = 3.90

ns มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ตารางผนวกที่6 การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนหักของโครโมโซมในเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาวจำนวน 50 เซลล์ เนื่องจากผลของสารละลายสตีวิโอไซด์ในระดับความเข้มข้นต่างๆ และสารละลายบลีโอมัยซิน ระดับความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ $\alpha = 0.05$ LSD =13.99 และที่$\alpha = 0.01$ LSD = 18.96

ระดับความเข้มข้นของ STV (mg/ml)	ค่าเฉลี่ยจำนวนหักของโครโมโซมต่อเซลล์	การเปรียบเทียบความแตกต่างที่	
		$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$
0.0	0.0	ข	B
2.0	2.4	ข	B
4.0	3.0	ข	B
6.0	4.0	ข	B
8.0	15.4	ข	B
Bleomycin 50 µl/ml	44.8	ก	A

ก และ ข มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

A และ B มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 7 ผลของสารละลายสตีวิโอไซด์ ต่อจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้นในเมทาเฟส เซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาวจำนวน 50 เซลล์

ความเข้มข้นของสาร	จำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้น					total	$\bar{X}$
ละลาย STV(mg/ml)[1/]	1	2	3	4	5		
0.0	0	0	0	0	0	0	0.0
2.0	0	0	0	0	0	0	0.0
4.0	0	0	0	0	0	0	0.0
6.0	2	0	1	0	0	3	0.6
8.0	3	0	0	2	0	5	1.0

[1/] ความเข้มข้นของสารละลายเป็นมิลลิกรัม / มิลลิลิตรของอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์

ตารางผนวกที่8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสารละลายสตีวิโอไซด์ ที่มีผลต่อจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้นของเซลล์เม็ดเลือดขาว

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	4	4.2400	1.0600	1.8929^{ns}
Error	20	11.2000	0.5600	
Total	24	15.4400		

F 0.05 (4,20) = 2.87 F 0.01 (4,20) = 4.43

^{ns} มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่9 การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้นต่อเมทาเฟสเซลล์ของเม็ดเลือดขาว 50 เซลล์ เนื่องจากผลของสารละลายสตีวิโอไซด์ในระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่ $\alpha = 0.05$ LSD = 0.99 และที่$\alpha = 0.01$ LSD = 1.35

ระดับความเข้มข้นของ STV (mg/ml)	ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้นต่อเมทาเฟสเซลล์ 50 เซลล์	การเปรียบเทียบความแตกต่างที่	
		$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$
0.0	0.0	ข	A
2.0	0.0	ข	A
4.0	0.0	ข	A
6.0	0.6	กข	A
8.0	1.0	ก	A

ก และ ข มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

A และ B มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ตารางผนวกที่ 10 ผลของสารละลายสตีวิโอไซด์ ต่อจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมยืดยาวในเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาวจำนวน 50 เซลล์

ความเข้มข้นของสารละลาย STV(mg/ml)[1/]	จำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมยืดยาว					Total	$\bar{X}$
	1	2	3	4	5		
0.0	0	0	0	0	0	0	0.0
2.0	6	0	0	0	4	10	2.0
4.0	0	0	0	0	6	6	1.2
6.0	8	0	3	11	0	22	4.4
8.0	0	0	6	3	5	14	2.8

[1/] ความเข้มข้นของสารละลายเป็นมิลลิกรัม / มิลลิลิตรของอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสารละลายสตีวิโอไซด์ ที่มีผลต่อจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมยืดยาวของเซลล์เม็ดเลือดขาว

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	4	55.0400	13.7600	1.4576^{ns}
Error	20	188.8000	9.4400	
Total	24	243.8400		

F 0.05 (4,20) = 2.87 F 0.01 (4,20) = 4.43

ns มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ตารางผนวกที่12 การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมยืดยาวต่อเมทาเฟสเซลล์ของเม็ดเลือดขาว 50 เซลล์ เนื่องจากผลของสารละลายสตีวิโอไซด์ในระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่ $\alpha = 0.05$ LSD = 4.05 และที่ $\alpha = 0.01$ LSD = 5.53

ระดับความเข้มข้นของ STV (mg/ml)	ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมยืดยาวต่อเมทาเฟสเซลล์ 50 เซลล์	การเปรียบเทียบความแตกต่างที่	
		$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$
0.0	0.0	ก	A
2.0	2.0	ก	A
4.0	1.2	ก	A
6.0	4.4	ก	A
8.0	2.8	ก	A

ก มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ

A มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่13 ผลของสารละลายไซคลาเมทที่มีผลต่ออัตราการแบ่งเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาว

ความเข้มข้นของสาละลาย	Mitotic index (%)[2/]				Total	$\bar{X}$
Cyclamate (mg/ml)[1/]	1	2	3	4		
0.0	100.00	100.00	100.00	100.00	400.00	100.00
2.0	94.55	126.32	32.69	175.44	428.99	107.25
4.0	72.73	89.48	103.85	122.81	388.85	97.21
6.0	92.73	89.48	121.15	85.97	389.32	97.33
8.0	83.64	80.70	46.15	117.54	328.04	82.01

[1/] ความเข้มข้นของสารละลายเป็นมิลลิกรัม / มิลลิลิตรของอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์

[2/] mitotic index (%) = $\frac{\text{จำนวนเมทาเฟสเซลล์จากลิมโฟไซท์ 2,000 เซลล์ ในหน่วยทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนเมทาเฟสเซลล์จากลิมโฟไซท์ 2,000 เซลล์ ในกลุ่มควบคุม}}$

ตารางผนวกที่14 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสารละลายไซคลาเมท ที่มีผลต่ออัตราการแบ่งเซลล์ ของเซลล์เม็ดเลือดขาว

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	4	1354.4732	338.6183	0.3293[ns]
Error	15	15424.3935	1028.2929	
Total	19	16778.8667		

F 0.05 (4,15) = 2.90 F 0.01 (4,15) = 4.56

[ns] มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่15 การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของค่าอัตราการแบ่งเซลล์ เป็นรายคู่ของเซลล์เม็ดเลือดขาวเนื่องจากผลของสารละลายไซคลาเมท ในระดับความเข้มข้นต่างๆที่ $\alpha = 0.05$ LSD = 48.32 และที่ $\alpha = 0.01$ LSD = 66.82

ความเข้มข้นของสารละลาย Cyclamate (mg/ml)	ค่า mitotic index (%)	การเปรียบเทียบความแตกต่างที่	
		$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$
0.0	100.00	ก	A
2.0	107.25	ก	A
4.0	97.21	ก	A
6.0	97.33	ก	A
8.0	82.01	ก	A

ก มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ

A มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญยิ่ง

ตารางผนวกที่16 ผลของสารละลายไซคลาเมท และสารละลายบลีโอมัยซิน (50 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร) ต่อจำนวนหักของโครโมโซมในเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาว

ความเข้มข้นของสาละลาย	จำนวนหัก				total	$\bar{X}$
Cyclamate (mg/ml)[1/]	1	2	3	4		
0.0	0	0	0	0	0	0.00
2.0	3	0	0	2	5	1.25
4.0	9	9	7	13	38	9.50
6.0	8	5	17	7	37	9.25
8.0	8	7	6	21	42	10.50
Bleomycin 50 µl/ml	28	22	70	32	152	38.00

[1/] ความเข้มข้นของสารละลายเป็นมิลลิกรัม / มิลลิลิตรของอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่17 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสารละลายไซคลาเมทและสารละลายบลีโอมัยซิน เข้มข้น 50 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร ที่มีผลต่อจำนวนหักของโครโมโซมในเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาว 50 เซลล์

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	5	3798.3333	759.6667	8.161**
Error	18	1675.5000	93.0830	
Total	23	547.4333		

F 0.05 (5,18) = 2.77 F 0.01 (5,18) = 4.25

ns มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ตารางผนวกที่18 การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนหักของโครโมโซมในเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาว 50 เซลล์ เนื่องจากผลของสารละลายไซคลาเมทในระดับความเข้มข้นต่างๆ และสารละลายบลีโอมัยซิน เข้มข้น 50 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร ที่ $\alpha = 0.05$ LSD = 14.33และที่ $\alpha = 0.01$ LSD = 19.63

ความเข้มข้นของสารละลาย Cyclamate(mg/ml)	ค่าเฉลี่ยจำนวนหักของโครโมโซมต่อเซลล์	การเปรียบเทียบความแตกต่างที่	
		$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$
0.0	0.00	ค	B
2.0	1.25	ค	B
4.0	9.50	ค	B
6.0	9.25	ค	B
8.0	10.50	ข	B
Bleomycin เข้มข้น 50 µl/ml	38.00	ก	A

ก , ข และ ค มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

A , B มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่19 ผลของสารละลายไซคลาเมท ต่อจำนวนหดสั้นของโครโมโซมในเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาว 50 เซลล์

ความเข้มข้นของสาละลาย	จำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้นใน 50 เซลล์				total	$\bar{X}$
Cyclamate (mg/ml)[1/]	1	2	3	4		
0.0	0	0	0	0	0	0.00
2.0	0	0	0	0	0	0.00
4.0	0	0	0	0	0	0.00
6.0	1	1	0	0	2	0.50
8.0	2	3	0	0	5	1.25

[1/] ความเข้มข้นของสารละลายเป็นมิลลิกรัม / มิลลิลิตรของอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์

ตารางผนวกที่20 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสารละลายไซคลาเมท ที่มีผลต่อจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้นของเซลล์เม็ดเลือดขาว

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	4	4.80	1.2	2.321^{ns}
Error	15	7.75	0.52	
Total	19	12.55		

F 0.05 (4,15) = 2.90 F 0.01 (4,15) = 4.56

ns มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่21 การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้นต่อเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาว 50 เซลล์ เนื่องจากผลของสารละลายไซคลาเมทในระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่ $\alpha = 0.05$ LSD = 1.08 และที่ $\alpha = 0.01$ LSD = 1.50

ระดับความเข้มข้นของ Cyclamate (mg/ml)	ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมหดสั้นต่อเมทาเฟสเซลล์ 50 เซลล์	การเปรียบเทียบความแตกต่างที่	
		$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$
0.0	0.00	ข	A
2.0	0.00	ข	A
4.0	0.00	ข	A
6.0	0.50	กข	A
8.0	1.25	ก	A

ก และ ข มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

A มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญยิ่ง

ตารางผนวกที่22 ผลของสารละลายไซคลาเมท ต่อจำนวนยืดยาวของโครโมโซมในเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาว 50 เซลล์

ความเข้มข้นของสาละลาย Cyclamate (mg/ml)[1/]	จำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมยืดยาวใน50เซลล์				total	$\bar{X}$
	1	2	3	4		
0.0	0	0	0	0	0	0.00
2.0	3	0	1	0	4	1.00
4.0	0	0	0	0	0	0.00
6.0	2	2	0	7	11	2.75
8.0	3	4	0	2	9	2.25

[1/] ความเข้มข้นของสารละลายเป็นมิลลิกรัม / มิลลิลิตรของอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่23 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสารละลายไซคลาเมท ที่มีผลต่อจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมยืดยาวของเซลล์เม็ดเลือดขาว

Source of Variation	df	SS	MS	F
Treatment	4	25.70	6.43	2.322^{ns}
Error	15	41.50	2.77	
Total	19	67.20		

F 0.05 (4,15) = 2.90 F 0.01 (4,15) = 4.56

ns มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ตารางผนวกที่24 การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมยืดยาวต่อเมทาเฟสเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาว 50 เซลล์ เนื่องจากผลของสารละลายไซคลาเมทในระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่ $\alpha = 0.05$ LSD = 2.51 และที่ $\alpha = 0.01$ LSD = 3.47

ความเข้มข้นของสารละลาย Cyclamate (mg/ml)	ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่มีโครโมโซมยืดยาวต่อเมทาเฟสเซลล์ 50 เซลล์	การเปรียบเทียบความแตกต่างที่	
		$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$
0.0	0.00	ก	A
2.0	1.00	ก	A
4.0	0.00	ก	A
6.0	2.75	ก	A
8.0	2.25	ก	A

ก มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ

A มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กล้าณรงค์ ศรีรอต. 2542. สารให้ความหวาน. พิมพ์ครั้งที่ 1, จาร์พา เท็คเซ็นเตอร์ จำกัด, กรุงเทพฯ. 118 น.

จันทร์เพ็ญ เมฆาอภิรักษ์ . 2530. ผลทางไซโตเจนนิติคของบลีโอมัยซิน เจนเซียนไวโอเลต และไมโตมัยซิน-ซี ต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวในหลอดทดลอง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. ภาควิชาพันธุศาสตร์. บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จีรเดช มโนสร้อย. 2533. ความปลอดภัยในการใช้สารหวานสังเคราะห์. ในเอกสารประกอบการสัมมนาเรื่องการวิจัยหญ้าหวาน ครั้งที่ 1. 9-10 พฤษภาคม. 150 น.

ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว. 2542. การศึกษาถึงความปลอดภัยของสารหวานสตีวิออล และสตีวิโอไซด์ในหนูแฮมสเตอร์และหนูพุกขาว. ในเอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการของศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ. 29 เมษายน . กรุงเทพฯ. 5 น.

ไชยยงค์ อรุณสุริยศักดิ์ . 2537. การศึกษาผลของหญ้าหวาน (Stevia rebaudiana Bertoin) ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงการทำงานและรูปร่างของไตของหนูแฮมสเตอร์. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. ภาควิชาพยาธิวิทยา. บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยมหิดล.

ถนอมศรี วงศ์รัตนาสถิตย์. 2533. การศึกษาทางเภสัชเวทของหญ้าหวาน. ในเอกสารประกอบการสัมมนาเรื่องการวิจัยหญ้าหวาน ครั้งที่1. 9-10 พฤษภาคม. 3 น.

ธีระยุทธ กลิ่นสุคนธ์. 2533. เภสัชจลนพลศาสตร์ของสตีวิโอไซด์. ในเอกสารประกอบการสัมมนาเรื่องการวิจัยหญ้าหวาน ครั้งที่ 1. 9-10 พฤษภาคม. 57 น.

ประศาสตร์ ฟูตระกูล. 2530. ความปลอดภัยและการใช้ประโยชน์จากพืชให้ความหวานสตีเวีย (stervia). วารสารวิทยาศาสตร์การอาหาร. กรกฎาคม – ตุลาคม. 6 น.

พิชัย สราญรมย์ และคณะ. 2525. หญ้าหวาน. ข่าวสารเกษตรศาสตร์ 27(5): 38-53 .

มณฑภรณ์ สุธีรวัฒนานนท์ . 2536. การศึกษาถึงผลของสตีวิโอไซด์ และสตีวิออลต่อการดูดซึมสารอาหารในลำไส้ของหนูแฮมสเตอร์ . วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. ภาควิชาสรีรวิทยา. บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยมหิดล.

เยาวลักษณ์ ลิมป์พานิชกุล . 2538. ผลของหญ้าหวานต่อการทำงานของ Na+ - K + ATPase ในท่อไตส่วนต้นของกระต่าย. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. ภาควิชาสรีรวิทยา. บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยมหิดล.

วรนิตย์ ตาปนานนท์ . 2528. ผลทางไซโตเจนนิติคของยาไดอะซีแพม(แวเลียม) และคลอไดอะซีแพม(ลิเนียม) ที่มีผลต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวของคน. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. ภาควิชาพันธุศาสตร์.บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุพัตรา กุลชะ. 2537. ผลทางไซโตเจนนิติกของโลหะหนักบางชนิดต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวของคนในอาหารเพาะเลี้ยง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. ภาควิชาพันธุศาสตร์ . บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อมรา คัมภิรานนท์. 2540. พันธุศาสตร์ของเซลล์. พิมพ์ครั้งที่ 1, สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 253 น.

อรุณรัศมิ์ ก่อสกุล . 2533. ผลทางไวโตจินิติคของสตีวิโอไซด์ ซัคคาริน และน้ำตาลซูโครสต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวในหลอดทดลอง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. ภาควิชาพันธุศาสตร์. บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อำนาจ มีเวทีและคณะ. 2533. ผลของสตีวิโอไซด์และสตีวิออลต่อโครโมโซมของคน. ในเอกสารประกอบการสัมมนาเรื่องการวิจัยหญ้าหวาน. 9-10 พฤษภาคม. 112 น.

Ahmed FE. and Thomas DB. 1992. Assessment of the carcinogenicty of the nonnutritive sweetener cyclamate. Crit Rev Tooxicol. 22:2 81-118

Bruce WR and Hessle JA. 1979. The mutagenic activity of 61 agents as determined by the micronucleus, *Salmonella*, and sperm abnormality assays. Can J Genet Cytol. Sep. 21:3 319 – 334.

Brusick D, Cifone M, Young R and Benson S. 1989. Assessment of the genotoxicity of calcium cyclamate and cyclohexylamine. Environ Mol Mutagen. 14:3 188 – 199.

Donald E.Pszczola. 1999. Sweet beginning to a New Year. Journal of Product and Technology Ingredients. 53 (1):70-75.

Durnev AD, Oreshchenko AV, Kulakova AV, Beresten ' NF and Seredenin SB. 1995. Clastogenic activity of dietary sugar substitutes. Vopr Med Khun Jul – Aug. 41:4 31 – 3.

Dziezak,J.D. 1986. Sweeteners and product development. Journal of Food Technology. 39 (1): 119 –120.

Herbold BA. 1981. Studies to evaluate artificail sweetener, especially Remsen - - Fahlberg saccharin, and their possible impurities, for potential mutagenicity by the *Salmonella* / mammalian liver microsome test. Mutat Res Dec . 90:4 365.

Hsu et al. 1986. Differential suspectibility to mutagen among human individuals : synergistic effect on Chromosome damage between bleomycin and aphidicolin.Anticancer Res. 6: 1171-1176.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Klongpanichpak S, Tencharoen P, Toskulkao C, Apibal S and Glinsukon T. 1997. Lack of mutagenicity of stevioside and steviol in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100. J Med Assoc Thai Sep. 80 Suppl 1 S. 121 – 8.

Kramers.P.G.N. 1977. Mutaginicity of saccharin in drosophilla : The possible role of contaminants. Mutat. Res 56: 163-137.

Larry A. Michael P.,Seppo S. 1990. Food additive. Marcel Dekker, New York.

Matsui M. et al. 1996. Evaluation of genotoxicity of stevioside and steviol using six in vitro and one in vivo mutagenicity assays. Mutagenesis Nov. 11: 6 573 – 9.

Matsui M, Sofuni T and Nohmi T. 1996. Regionally – targeted mutagenesis by metabolically – activated steviol : DNA sequence analysis of steviol – induced mutants of guanine phosphoribosyltranferase(gpt)gene of *Salmonella typhimurium* TM 677. Mutagenesis Nov 11: 6 565 – 572.

Pezzuto et al. 1985. Metabolically activate steviol, the aglycone of stevioside, is mutaginic. Proc. Natl. Sci. 82: 2478-2482.

Salvatore et al. 1983. Stevioside occurrence, uses, chemical and biological properties. Chemicaoggi . 126: 31-37.

Suttajit M. et al. 1993. Mutagenicity and human chromosomal effect of stevioside, a sweetener from Stevia rebaudiana Bertoni. Environ Health Perspect Oct 101 Suppl 353 – 356.

Yamada,A.S. Ohgaki,T. Noda and M. Shimiza. 1985. Chronic toxicity study of dietary stevia extracts in F344 rats. J.Fd.Hyg.Soc. Japan 26 : 169 -183.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้